

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 месяца по сравнению с 15,4 месяца)¹



СОЗДАН
ДЛЯ ПРЕВОСХОДСТВА

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

ГАЗИВА®
обинутузумаб

ЗАО «Рош-Москва»
Официальный дистрибьютор
«Ф.Хорффманн-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



О Н К О Л О Г И Я • ТОМ 11 • № 1

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN 2413-4023 (Online)
ISSN 1818-8346 (Print)

Брентуксимаб ведотин у детей и подростков
с лимфомой Ходжкина и анапластической
крупноклеточной лимфомой

Мониторинг минимальной остаточной болезни
при острых лейкозах у детей первого года жизни

Дазатиниб: 10 лет применения в мировой
клинической практике

Мутации в генах *BRAF* и *MAP2K1*
при волосатоклеточном лейкозе
и селезеночной В-клеточной лимфоме

Торговое наименование: Газива® (Gaziva®). Регистрационный номер: ЛП-002867. Международное непатентованное название: Обинутузумаб (Obinutuzumab). Лекарственная форма: Концентрат для приготовления раствора для инфузий. Показания к применению: Хронический лимфолейкоз. В комбинации с хлорамбуцилом у пациентов с ранее не леченным хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ). Противопоказания: Повышенная чувствительность (определяемая IgE) к обинутузумбу 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. Особые указания: 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 анафилактики, 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 антибиотиков 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 поливинилпирролидона, полипропиленовыми или полиолефиновыми, с инфузионными системами из поливинилхлорида, полиуретана или полиолефина, со встраиваемыми фильтрами из поликарбоната, 3-х ходовым запорным краном из поликарбоната, с катетерами из полиэфируретана. Раствор препарата Газива® нельзя замораживать и встраивать. Режим дозирования: Рекомендуемая доза препарата Газива® составляет 1000 мг в/в в день 1–2, день 6 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 потребуются 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. Побочное действие: Тяжкие приведены нежелательные реакции, наблюдавшиеся в клинических исследованиях с большей частотой (чаще 25%) 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 структурированы в соответствии с классами систем органов медицинского словаря для нормативно-правовой деятельности MedDRA. Для описания частоты нежелательных реакций используется следующая классификация: очень частые (≥1/10), частые (≥1/100 и <1/10), нечастые (≥1/1000 и <1/100) и очень редкие (<1/1000), включая единичные случаи. Травмы, отравления и осложнения интубаций: 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, перитонит, пневмония, сепсис, грипп, фарингит, фарингомидия. 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 неопухолевые 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 – сыпь. Частота сообщений о данных нежелательных реакций отличалась менее чем на 2% у пациентов, получающих лечение препаратом Газива® и хлорамбуцилом, по сравнению с пациентами, получающими только хлорамбуцил или хлорамбуцил в комбинации с ритуксимабом. Не выявлено фатальных нежелательных реакций, частота развития которых была бы выше на ≥2% у пациентов, получающих лечение препаратом Газива® и хлорамбуцилом, по сравнению с пациентами, получающими только хлорамбуцил или хлорамбуцил в комбинации с ритуксимабом.

Реклама 2015-2019, 12.2015



КАЛЕНДАРЬ ОНКОЛОГА
— мобильное приложение —



НОВЫЙ
УРОВЕНЬ
ПЛАНИРОВАНИЯ

- ✓ все события в области онкологии в одном календаре
- ✓ быстрый поиск, индивидуальные настройки и фильтры
- ✓ возможность получения уведомлений

Приложение доступно для бесплатного скачивания



ТОМ 11
2016



АЦЕЛЛБИЯ®

ритуксимаб



**КЛЮЧЕВОЙ
КОМПОНЕНТ ТЕРАПИИ
CD20+ НХЛ И ХЛЛ**

BIOCAD
Biotechnology Company

198515, Санкт-Петербург, п. Стрельна, ул. Связи, д. 34, А
Телефон: +7 (812) 380 49 33

biocad@biocad.ru
www.biocad.ru

ТЕПЕРЬ ВЫ МОЖЕТЕ СДЕЛАТЬ БОЛЬШЕ ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С ХМЛ!

СПРАЙСЕЛ® в дозе 100 мг *:

- достижение более быстрого и глубокого ответа, чем на иматинибе¹
- 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;

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

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, статьи индексируются 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

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 Научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, заведующий кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Пушкин 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)

ПОМОЩНИК ОТВЕТСТВЕННОГО СЕКРЕТАРЯ

Петрова Галина Дмитриевна, младший научный сотрудник отделения интенсивной химиотерапии и трансплантации костного мозга ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

О С Н О В А Н В 2 0 0 5 Г .

1
ТОМ 11
'16

Адрес редакции:
115478, Москва, Каширское шоссе, 24,
стр. 15, НИИ канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел./факс: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru

Редактор В.Е. Ефремова
Корректор Л.С. Зимилова
Дизайн Е.В. Степанова
Верстка О.В. Гончарук

Служба подписки и распространения
И.В. Шургаева, +7 (499) 929-96-19,
base@abvpress.ru
Руководитель проекта
А.Г. Барычева, +7 (965) 319-10-53,
alla@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 2413-4023 (Online)
ISSN 1818-8346 (Print)
Онкогематология. 2016. Том 11.
№ 1. 1–82
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2016
Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» – 42167
Отпечатано в типографии
ООО «Тверская Фабрика Печати»
Тираж 3000 экз.

www.oncohematology.abvpress.ru

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)

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 палаты 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 (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 ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Россиев 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)

Румянцев Сергей Александрович, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора — директор Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; заведующий кафедрой онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; заведующий кафедрой трансляционной и регенеративной медицины ГБОУ ВПО «Московский физико-технический институт (государственный университет)» Минобрнауки России (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)

The journal is put on the Higher Attestation Commission (HAC) list of periodicals (the list of leading peer-reviewed scientific journals recommended to publish the basic research results of doctor's and candidate's theses).

In 2006, journal "Oncohematology" was included in the Research Electronic Library and the Russian Science Citation Index (RSCI) and has an impact factor.

In 2015, the journal has been registered with CrossRef; its papers are indexed with the digital object identifier (DOI). Since 2015, the journal's electronic version has been available in the leading Russian and international electronic libraries, including EBSCO

ONCO HEMATOLOGY

QUARTERLY PEER-REVIEWED SCIENTIFIC-AND-PRACTICAL JOURNAL

www.oncohematology.abvpress.ru

EDITOR-IN-CHIEF

Samochatova Elena V., Honored Doctor of the Russian Federation, 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 EDITOR-IN-CHIEF

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 Acad. I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University of Ministry of Health of Russia (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 N.I. Pirogov Russian National Research Medical University 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 N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

ASSISTANT TO EXECUTIVE SECRETARY

Petrova Galina D., Junior Research Fellow in Department of Intensive Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

FOUNDED IN 2005

1
Vol. 11
'16

Editorial Office:

Research Institute of Carcinogenesis,
Floor 3, 24 Kashirskoye Shosse, Build. 15,
Moscow, 115478.
Tel./Fax: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru

Editor V.E. Efremova
Proofreader L.S. Zimilova
Designer E.V. Stepanova
Maker-up O.V. Goncharuk

Subscription & Distribution Service

I.V. Shurgaeva, +7 (499) 929-96-19,
base@abvpress.ru
Project Manager
A.G. Barycheva, 8-965-319-10-53,
alla@abvpress.ru

The journal was registered at the Federal Service for Surveillance of Communications, Information Technologies, and Mass Media (ПН No. ФС77-36928 dated 21 July 2009).

If materials are reprinted in whole or in part, reference must necessarily be made to the "Onkogematologiya".

The editorial board is not responsible for advertising content.

The authors' point of view given in the articles may not coincide with the opinion of the editorial board.

ISSN 2413-4023 (Online)
ISSN 1818-8346 (Print)
Onkogematologiya. 2016.
Volume 11. No 1. 1–82
© PH "ABV-Press", 2016
Pressa Rossii catalogue index: 42167
Printed at the Tver Printing Factory

3,000 copies

www.oncohematology.abvpress.ru

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 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 Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Krivolapov Yuri 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 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 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 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)

Parovichenikova Elena N., MD, PhD, Head of Department of Chemotherapy of Hematological Malignancy, Hematopoiesis Depression and Bone Marrow Transplantation in Hematology Research Center of 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 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 Regional 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 Department of Rare Diseases, Leading Researcher of the Department of Leukemia Chemotherapy and Erythron Pathology in Hematology Research Center of 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 Ministry of Health of Russia on the basis of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of Ministry of Health of Russia (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 Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Health of Russia; Chief Pediatric Hematologist of Ministry of Health of Russia; Board Member of the Union of Pediatricians of Russia (Moscow, Russia)

Roumiantsev Sergey A., MD, PhD, professor, Deputy General Director — Director of School of Molecular and Experimental Medicine of Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitry Rogachev of Ministry of Health of Russia; Head of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in Pirogov Russian National Research Medical University; Head of Translational and Regenerative Medicine Department of Moscow Institute of Physics and Technology (State University) of Ministry of Education and Science of Russia (Moscow, Russia)

Talalaev Alexander G., MD, PhD, Professor, Head of Pathology Department in Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Health of Russia based in Morozov Children's Municipal Clinical Hospital, Chief Children's Pathologist of Moscow (Moscow, Russia)

Эральфон®

эпоэтин альфа

Эра новой жизни!



Препарат рекомбинантного эритропоэтина человека
Средство для профилактики и лечения анемии:

- Онкология
- Гематология

ГЕМОБЛАСТОЗЫ: ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ, СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

<i>Н.В. Мякова, Д.А. Евстратов, Д.С. Абрамов, Д.М. Коновалов, А.В. Пшонкин, Д.В. Литвинов</i> Применение брентуксимаба ведотина у детей и подростков с лимфомой Ходжкина и анапластической крупноклеточной лимфомой — обзор литературы и собственные наблюдения	8
<i>Г.А. Цаур, Е.В. Флейшман, А.М. Попов, Л.Г. Фечина, С.А. Румянцев</i> Генетическая гетерогенность острых лейкозов у детей первого года жизни	14
<i>К.М. Абдулкадыров, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич</i> Дазатиниб: 10 лет применения в мировой клинической практике.	24
<i>И.А. Якутик, Л.С. Аль-Ради, У.Л. Джулакян, Б.В. Бидерман, А.Б. Судариков</i> Мутации в генах <i>BRAF</i> и <i>MAP2K1</i> при волосатоклеточном лейкозе и селезеночной В-клеточной лимфоме из клеток маргинальной зоны	34
<i>О.А. Рукавицын</i> Анемия хронических заболеваний: отдельные аспекты патогенеза и пути коррекции	37

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

<i>И.В. Гуз, П.Е. Трахтман</i> Экстракорпоральный фотоферез в лечении реакции «трансплантат против хозяина»	47
<i>Г.Д. Петрова, К.Н. Мелкова, Н.В. Горбунова, Т.З. Чернявская, В.А. Доронин, В.Н. Кострыкина, О.П. Трофимова, Л.Ю. Гривцова, Н.Н. Тупицын</i> Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток для консолидации ремиссии острого миелобластного лейкоза с факторами неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания.	52

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

<i>Г.А. Цаур, А.М. Попов, Л.Г. Фечина, С.А. Румянцев</i> Методические основы диагностики и мониторинга минимальной остаточной болезни при острых лейкозах у детей первого года жизни.	62
<i>С.А. Кузнецов, И.Ж. Шубина, Л.Т. Мамедова, А.Н. Грицай, М.В. Киселевский</i> Методы идентификации микрометастазов при злокачественных новообразованиях	75

ЮБИЛЕЙ	80
-------------------------	----

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ	82
---	----

HEMATOLOGIC MALIGNANCIES: DIAGNOSIS, TREATMENT, SUPPORTIVE CARE

<i>N.V. Myakova, D.A. Evstratov, D.S. Abramov, D.M. Kononov, A.V. Pshonkin, D.V. Litvinov</i>	
Brentuximab vedotin in children and adolescents with Hodgkin's lymphoma and anaplastic large cell lymphoma – literature review and own experience.	8
<i>G.A. Tsauro, E.W. Fleischman, A.M. Popov, L.G. Fechina, S.A. Rumyantsev</i>	
Genetic heterogeneity of infant acute leukemias	14
<i>K.M. Abdulkadyrov, V.A. Shuvaev, I.S. Martynkevich</i>	
Dasatinib: ten years of clinical practice worldwide	24
<i>I.A. Yakutik, L.S. Al'-Radi, H.L. Julhakyan, B.V. Biderman, A.B. Sudarikov</i>	
<i>BRAF</i> and <i>MAP2K1</i> mutations in hairy cell leukemia and splenic marginal zone B-cell lymphoma.	34
<i>O.A. Rukavitsyn</i>	
Anemia of chronic diseases: the important aspects of pathogenesis and treatment	37

HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

<i>I.V. Guz, P.E. Trachtman</i>	
Extracorporeal photopheresis in the treatment of graft-versus-host disease	47
<i>G.D. Petrova, K.N. Melkova, N.V. Gorbunova, T.Z. Chernyavskaya, V.A. Doronin, V.N. Kostyukina, O.P. Trofimova, L. Yu. Grivtsova, N.N. Tupitsyn</i>	
Autologous hematopoietic stem cell transplantation in remission consolidation of acute myeloid leukemia with initially unfavorable prognostic factors	52

BASIC RESEARCH

<i>G.A. Tsauro, A.M. Popov, L.G. Fechina, S.A. Rumyantsev</i>	
Methodological aspects of diagnostics and minimal residual disease monitoring in infant acute leukemias	62
<i>S.A. Kuznetsov, I.Zh. Shubina, L.T. Mamedova, A.N. Gritsay, M.V. Kiselevskiy</i>	
Micrometastases identification in malignant tumors	75

JUBILEE 80**INFORMATION FOR AUTHORS** 82

Применение брентуксимаба ведотина у детей и подростков с лимфомой Ходжкина и анапластической крупноклеточной лимфомой – обзор литературы и собственные наблюдения

Н.В. Мякова, Д.А. Евстратов, Д.С. Абрамов, Д.М. Коновалов, А.В. Пшонкин, Д.В. Литвинов

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

Контакты: Наталья Валерьевна Мякова ntiakova@mail.ru

Несмотря на значительные успехи в лечении лимфом у детей, у небольшой части пациентов заболевание остается рефрактерным или рецидивирует. Эффективный подход к лечению таких больных — это не только 2-я линия химиотерапии, но и применение новых таргетных препаратов. Примером такой тактики является использование брентуксимаба ведотина — химиоиммуноконъюгата CD30 — при рецидивах лимфомы Ходжкина и анапластической крупноклеточной лимфомы. В статье приводится описание опыта применения этого препарата у детей и обзор литературы.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, иммуногистохимия, рефрактерность, CD30, брентуксимаб ведотин, анапластическая крупноклеточная лимфома

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-08-13

Brentuximab vedotin in children and adolescents with Hodgkin's lymphoma and anaplastic large cell lymphoma — literature review and own experience

N. V. Myakova, D. A. Evstratov, D. S. Abramov, D. M. Kononov, A. V. Pshonkin, D. V. Litvinov

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

Despite significant advances in the treatment of lymphomas in children remain a small proportion of patients with refractory or recurrent disease. An effective approach to the treatment of such patients — not only is the second line chemotherapy, but the use of the new targeted therapies. An example of this approach is the use of brentuximab vedotin (antibody-drug conjugate directed to the CD30) in relapsed Hodgkin's lymphoma and anaplastic large cell lymphoma.

Literature review and own experience of using this drug in children are describes in this article.

Key words: Hodgkin's lymphoma, immunohistochemistry, refractory, CD30, brentuximab vedotin, anaplastic large cell lymphoma

Введение

Применение моноклональных антител (МКА) в лечении злокачественных опухолей значительно изменило результаты терапии многих заболеваний. МКА осуществляют свой цитолитический эффект путем индукции комплемент-опосредованной и антитело-зависимой цитотоксичности, селективного блокирования сигнальных путей в опухолевой клетке, причем это воздействие практически не распространяется на нормальные ткани. Однако оказалось, что не всегда разработка высокоаффинного МКА к таргетному белку, выделенному на злокачественной клетке, является гарантией остановки опухолевого роста. Для усиления эффективности МКА предпринимались различные методики — введение МКА в большей концентрации [1], комбинирование их с цитокинами для усиления цитотоксичности [2, 3]. Но наиболее эффективными оказались соединение МКА с токсинами,

конъюгация с радиоизотопами или цитостатиками, что позволило доставлять эти агенты непосредственно в ткань опухоли [4].

Радиоиммунотерапия (введение конъюгатов антитела (АТ) с изотопом) уже давно внедрена в протоколы лечения неходжкинских лимфом [5, 6], а вот соединение АТ с цитостатиком (antibody-drug conjugate, ADC) оказалось не такой простой задачей. Эффективность этих препаратов повышалась при использовании в конъюгатах более мощных цитостатиков, а селективность достигалась точным соответствием мишени и АТ [4]. Достижения в технологии связующего компонента позволили минимизировать попадание токсического агента в циркуляцию и улучшить его доставку к ткани опухоли [4]. Все эти события привели к созданию нового поколения препаратов, представителем которого является брентуксимаб ведотин — ADC с мишенью в виде CD30.

Антиген CD30

CD30 — это трансмембранный рецептор 1-го типа, который относится к суперсемейству рецепторов к фактору некроза опухоли (tumor necrosis factor, TNF) [7, 8]. Лиганд CD30 (CD30L, или CD153) — это регуляторный протеин 2-го типа, который может быть связан с мембраной, а может находиться в свободной растворимой форме [7]. CD30 стимулирует TNF-рецептор-ассоциированные факторы, что приводит к активации сигнального пути NF-κB. NF-κB — это транскрипционный нуклеарный фактор, регулирующий экспрессию различных генов, ответственных за апоптоз, воспаление и туморогенез. Активация NF-κB может блокировать апоптоз и приводить к пролиферации [9].

Как и другие члены суперсемейства рецепторов TNF, CD30 может лишиться эктодомена и превратиться в растворимую форму белка (sCD30) массой 85 кДа, который выявляется в сыворотке пациентов с CD30⁺-опухолями [10]. Действительно, высокие уровни sCD30 в сыворотке коррелируют с B-симптомами и продвинутыми стадиями болезни при лимфоме Ходжкина (ЛХ), а также с неблагоприятным прогнозом [11].

CD30 — крайне привлекательная мишень для фармакологического воздействия, так как он ограниченно присутствует на нормальных клетках, в то время как на клетках ЛХ или анапластической крупноклеточной лимфомы (АККЛ) его экспрессия крайне высока [12]. В норме экспрессия CD30 ограничена активированными В- и Т-лимфоцитами, например лимфоцитами при вирусной инфекции. CD30⁺-лимфоциты можно встретить в парафолликулярной зоне, на краю фолликулярных центров, в пролиферирующих герминальных центрах и медуллярном тимусе [13]. Кроме ЛХ и АККЛ (включая первично-кожную форму) экспрессия CD30 отмечена при лимфоматоидном папулезе, первичной медиастинальной лимфоме, множественной миеломе, Т-клеточной лейкемии/лимфоме взрослых [13], мастоцитозе и грибковидном микозе [14] (рис. 1).

В клетках Рид—Штернберга ЛХ активация CD30 обеспечивается за счет лиганд-независимой активации факторов, ассоциированных с рецепторами TNF (TRAF2, TRAF5), и запуска канонических путей транскрипционного фактора NF-κB. В опухолевых клетках АККЛ, напротив, активация CD30 происходит путем взаимодействия с лигандами CD30L или антиCD30-АТ, запуская альтернативные каскады для NF-κB. Этим обусловлены пролиферация, ингибирование клеточного цикла, клеточная дифференцировка и апоптоз. Химерная киназа NP-ALK фосфорилирует «нормальный» белок нуклеофозмина, что приводит к конкурентному связыванию нуклеофозмина и TRAF2 с CD30 с последующим угнетением путей NF-κB.

Классическая лимфома Ходжкина

Известно, что это относительно редкое злокачественное заболевание, субстратом которого являются

патогномоничные большие одноядерные клетки Ходжкина и мультиядерные клетки Рид—Штернберга, происходящие из В-клеток герминальной или постгерминальной стадии дифференцировки. Эти клетки имеют мутации генов варибельных регионов иммуноглобулинов и не подвержены апоптозу. Кроме этого, гистологической особенностью данной опухоли является то, что неопластические клетки дискретно разбросаны среди гетерогенного воспалительного микроокружения [15].

Терапия 1-й линии при ЛХ в настоящее время приводит к очень хорошим результатам. Однако 10 % пациентов являются первично-рефрактерными, еще у 10 % детей и 20 % взрослых заболевание рецидивирует. Терапией выбора для таких пациентов является высокодозная химиотерапия с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) [16, 17]. Оптимальный режим терапии 2-й линии должен быть достаточно эффективным, но с минимальной гематологической токсичностью для последующей удачной мобилизации стволовых клеток. Отсутствие ремиссии перед аутоТГСК является неблагоприятным прогностическим фактором [16]. Аллогенная ТГСК (аллоТГСК) в миелоаблативном режиме слишком токсична, а снижение интенсивности кондиционирования приводит к увеличению количества рецидивов [18]. Таким образом, можно сказать, что лечение рецидивных и рефрактерных форм ЛХ по-прежнему остается проблемой.

Анапластическая крупноклеточная лимфома

АККЛ — это редкая CD30⁺ Т-клеточная лимфома, которая составляет 10–15 % всех неходжкинских лимфом у детей и 2–8 % у взрослых [19]. Опухолевые клетки плеоморфные, крупные, с подковообразным или почкообразным ядром, обычно являются патогномоничной находкой при всех видах АККЛ. По наличию или отсутствию экспрессии киназы анапластической лимфомы (ALK) эти опухоли подразделяются на ALK-позитивные и ALK-негативные. Экспрессия ALK является результатом слияния гена *ALK* на хромосоме 2 с различными партнерами, чаще всего с геном нуклеофозмина на хромосоме 5, в результате чего активируется ALK и происходит онкогенная трансформация [20].

В отличие от изолированной кожной формы системная АККЛ является агрессивной опухолью, часто вовлекающей экстранодальные органы. Основным методом индукции ремиссии в 1-й линии является полихимиотерапия. Однако рецидивы и рефрактерные формы имеют достаточно неблагоприятный прогноз (общая выживаемость не превышает 35 % при химиотерапии 2-й линии и 55 % при проведении аллоТГСК). Проблемой является достижение 2-й ремиссии перед аллоТГСК [21].

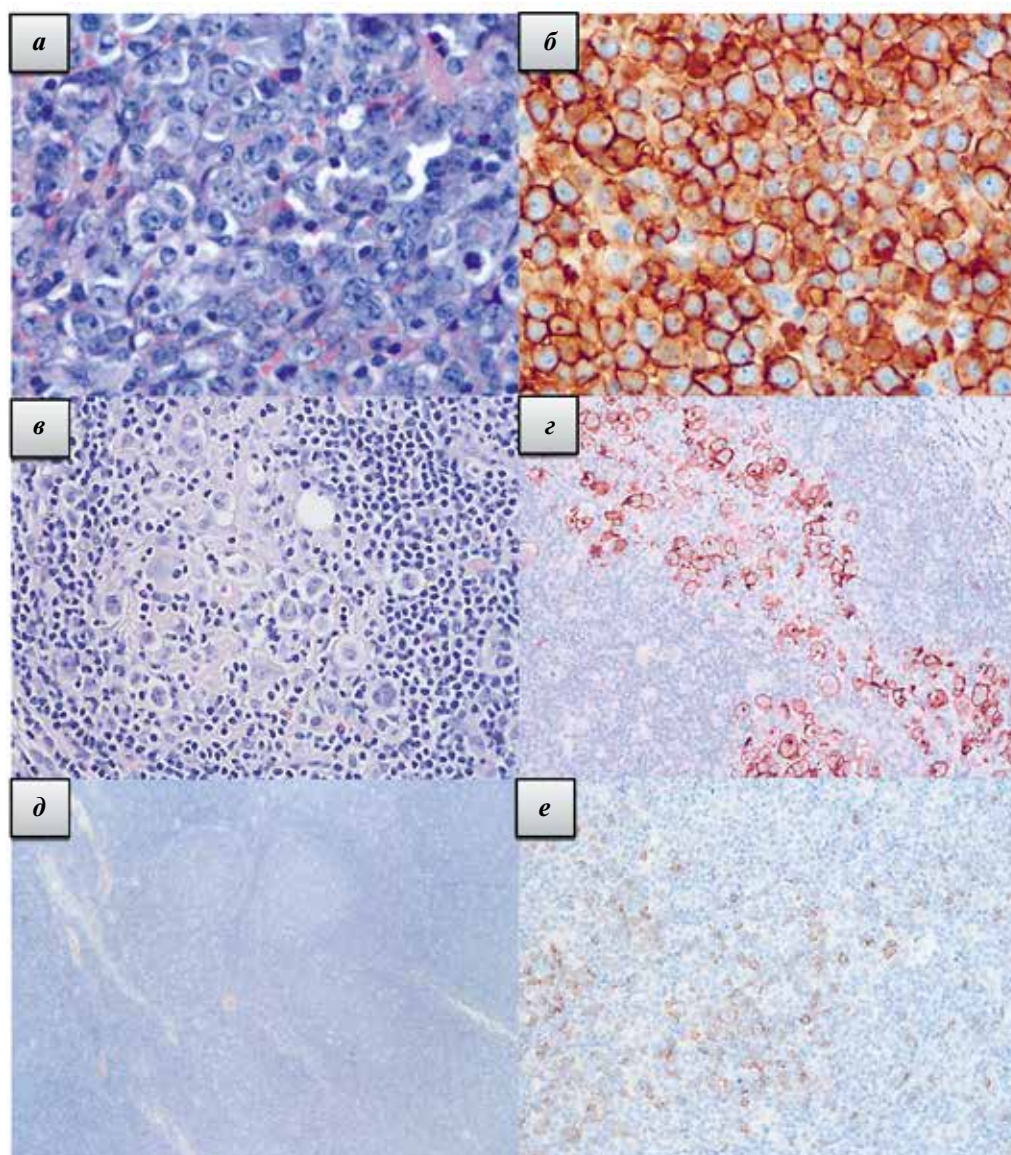


Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание на CD30 при разных заболеваниях: а — классическая ЛХ с клетками Рид—Штернберга и Ходжкина, окраска гематоксилином и эозином; б — ЛХ; в — ALK-негативная АККЛ с множественными плеоморфными крупными клетками, окраска гематоксилином и эозином; г — ALK-негативная АККЛ; д — реактивная лимфаденопатия, окраска гематоксилином и эозином; е — реактивная лимфаденопатия — неспецифическое окрашивание, в отличие от ЛХ и АККЛ

Брентуксимаб ведотин: состав и механизм действия

Брентуксимаб ведотин — это ADC, состоящий из МКА сAC10 и цитостатического препарата монометилауристатина Е (ММАЕ) (рис. 2).

Само по себе химерное АТ SGN-30 оказалось эффективно на клеточных линиях в отношении АККЛ и ЛХ как отдельно, так и в комбинации с химиопрепаратами. Это происходит, вероятнее всего, за счет связывания с CD30 и последующего запуска сигнального пути NF-κB, что ведет к нарушению роста и апоптозу [21, 22].

Для усиления воздействия на клетку химерное АТ было конъюгировано с ММАЕ — синтетическим производным доластатина 10, натурального цитостатического псевдопептида морских моллюсков. ММАЕ

является антитубулиновым агентом и показал эффективность на клетках различных опухолей *in vitro*. Эффективность конъюгата исследовалась на мышинных моделях АККЛ и ЛХ, в результате чего была выявлена высокая селективность препарата, с индукцией длительной и устойчивой регрессии даже в субоптимальных дозах. Конъюгат оказался гораздо более активным, чем просто АТ, а кроме того, синергично взаимодействовал со стандартными химиопрепаратами (доксорубин, блеомицин, дакарбазин, винкристин) [23].

Брентуксимаб ведотин связывается с CD30 и проникает в клетку путем клатрин-опосредованного эндоцитоза, после чего в лизосомах катепсин В и другие протеазы высвобождают ММАЕ. ММАЕ нарушает микротубулярные взаимодействия и полимериза-

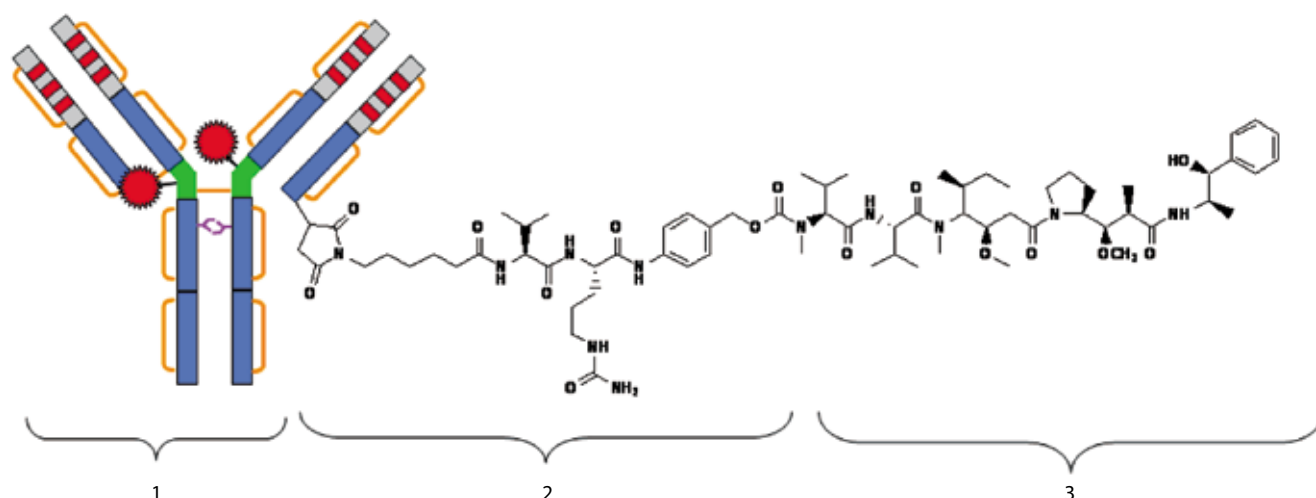


Рис. 2. Брентуксимаб ведотин (SGN-35): 1 — AC10, химерное АТ (SGN-30 — мышиное антиCD30-АТ AC10 + человеческий иммуноглобулин G1); 2 — пептидная связь; 3 — MMAE (4 молекулы на 1 АТ) [21]

цию, что ведет к угнетению клеточного цикла в G2/M-фазе и апоптозу [24]. Небольшие остатки свободного MMAE распространяются в микроокружении и оказывают цитотоксический эффект также на окружающие клетки.

I и II фазы клинических исследований

С того момента, как CD30 стал считаться привлекательной мишенью для таргетной терапии, начали проводиться исследования эффективности неконъюгированных АТ, потом радиоиммуноконъюгатов, иммунотоксинов, биспецифических АТ и пр. Но уровень ответа оставался низким [12, 13]. Было проведено 2 исследования I фазы по определению оптимальной дозы брентуксимаба ведотина. В эти исследования были включены пациенты с рецидивными и рефрактерными формами ЛХ и АККЛ, которые не ответили на неоднократные смены режимов химиотерапии (медиана количества линий терапии — 3) [25]. В результате наиболее приемлемым по эффективности (достижению устойчивой ремиссии) и токсичности (выраженности периферической нейропатии) был признан режим введения брентуксимаба ведотина 1,8 мг/кг с интервалом 21 день.

Исследования II фазы были проведены у пациентов с рефрактерной/рецидивной ЛХ (102 взрослых больных с рецидивом после аутоТГСК) [26] и АККЛ (58 взрослых пациентов с неудачей 1 и более линий терапии) [27]. После назначения брентуксимаба ведотина в дозе 1,8 мг/кг каждые 3 нед (до 16 курсов) в обоих исследованиях был отмечен выраженный и устойчивый ответ на терапию (75 % пациентов с ЛХ и 86 % с АККЛ) и достижение полной ремиссии в 34 и 53 % случаев соответственно. Основными проявлениями токсичности стали периферическая нейропатия и цитопения.

В настоящее время проводятся исследования по применению препарата в педиатрии у пациентов с рефрактерными формами ЛХ и АККЛ [28]; кроме этого,

все чаще озвучиваются отдельные случаи использования его у детей и подростков.

В 2011 г. Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA) США официально разрешило к применению брентуксимаб ведотин для лечения пациентов с рефрактерными и рецидивными ЛХ и АККЛ.

Собственные наблюдения

В ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с 2012 по 2015 г. были пролечены с использованием брентуксимаба ведотина 26 больных, в том числе 19 (64 %) мальчиков и 7 (36 %) девочек. Возраст пациентов — 8–19 лет (медиана — 15 лет). Из всех больных 17 были с ЛХ (68 %), 7 (28 %) — с ALK-позитивными АККЛ, у 1 (4 %) пациента была первичная медиастинальная В-клеточная лимфома и у 1 (4 %) — лимфоматозный гранулематоз. Всего проведен 101 курс брентуксимаба ведотина и 30 курсов ВВ (брентуксимаб ведотин, бендамустин, преднизолон). Пациенты получили от 1 до 8 курсов (медиана — 3 курса). До 2014 г. все больные получали брентуксимаб ведотин в монорежиме при наличии рефрактерности к предшествующей терапии. С 2014 г. пациенты с ЛХ включены в противорецидивный протокол и получают комбинированную терапию.

Из 17 больных ЛХ 12 были с рецидивами (в том числе 3 — с повторными, из них 2 после аутоТГСК), 5 — с первично-рефрактерным течением заболевания (3 получали терапию по протоколу DAL-GPON 2002, 2 — BEACOPP). После терапии брентуксимабом ведотином или ВВ 15 пациентам удалось провести ТГСК (4 — от гаплоидентичных доноров, 1 — от родственного донора и 10 — аутоТГСК). Из всех больных на терапию ответили 14 (87,5 %), 1 не ответил на брентуксимаб, но ответил на облучение, затем получил ТГСК от гаплоидентичного донора, сейчас в ремиссии. Все

эти пациенты живы в ремиссии, медиана наблюдения 6 мес. Один больной умер в результате прогрессии.

Брентуксимаб ведотин получали 7 пациентов с АККЛ, из которых 4 были с рецидивами, резистентными к терапии 2-й линии, 1 — с первично-рефрактерным течением (опухоль прогрессировала на терапии), 1 имел остаточную опухоль по данным позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) после терапии 1-й линии, у 1 была лимфома IV стадии с поражением центральной нервной системы, кожи, лимфатических узлов таза, средостения. Из всех этих больных на терапию ответили 6 (85,7 %). Из 4 пациентов, получивших брентуксимаб ведотин по поводу рецидива, все ответили на терапию полной регрессией опухоли; 1 больной находится в ремиссии после проведенной ТГСК, 2 рецидивировали после ТГСК и получали дальнейшую терапию ALK-ингибиторами, 1 умер в ремиссии после ТГСК от вирусной инфекции. Пациент с остаточной ПЭТ-позитивной опухолью после терапии 1-й линии достиг ремиссии после 3 курсов брентуксимаба ведотина с винбластином; ремиссия сохраняется 9 мес.

Кроме того, мы использовали брентуксимаб ведотин у пациентки с рефрактерной первичной медиастинальной крупноклеточной лимфомой с коэкспрессией CD30. Пациентка получила 2 курса препарата, после 1-го отмечался частичный ответ, но потом вновь возникло прогрессирование болезни.

У 1 пациента с синдромом Ниймеген после ТГСК данный препарат применялся по поводу лимфоматозного папулеза легких. Всего было проведено 6 курсов, после которых отмечалось значительное улучшение.

Выводы

Лечение брентуксимабом ведотином в настоящее время является стандартом для пациентов с рецидивирующими или рефрактерными системной АККЛ и ЛХ после аутоТГСК или по крайней мере 2 линий комбинированной химиотерапии.

Наш опыт использования брентуксимаба ведотина показал его достаточно высокую эффективность в отношении рефрактерных форм ЛХ и АККЛ. Ответ на терапию у пациентов с ЛХ составил 87,5 %, а у пациентов с АККЛ — 85,7 %. Нами не было зарегистрировано развития серьезной острой токсичности при применении брентуксимаба ведотина в режиме монотерапии. Для достижения ответа у большинства наших больных потребовалось 3–6 курсов брентуксимаба ведотина, после чего всем, кроме 1 пациента, проводилась ТГСК. Выживаемость не может быть оценена в связи с крайне малым сроком наблюдения за больными, медиана наблюдения составила 8 мес.

Авторы выражают благодарность фонду «Подари жизнь».

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Khouri I.F., Saliba R.M., Hosing C. et al. Concurrent administration of high-dose rituximab before and after autologous stem-cell transplantation for relapsed aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 2005;23(10):2240–7.
2. Ansell S.M., Geyer S.M., Maurer M.J. et al. Randomized phase II study of interleukin-12 in combination with rituximab in previously treated non-Hodgkin's lymphoma patients. *Clin Cancer Res* 2006;12(20 Pt 1):6056–63.
3. Khan K.D., Emmanouilides C., Benson D.M. Jr et al. A phase 2 study of rituximab in combination with recombinant interleukin-2 for rituximab-refractory indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res* 2006;12(23):7046–53.
4. Teicher B.A., Chari R.V. Antibody conjugate therapeutics: challenges and potential. *Clin Cancer Res* 2011;17(20):6389–97.
5. Fisher R.I., Kaminski M.S., Wahl R.L. et al. Tositumomab and iodine-131 tositumomab produces durable complete remissions in a subset of heavily pretreated patients with low-grade and transformed non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 2005;23(30):7565–73.
6. Morschhauser F., Radford J., Van Hoof A. et al. Phase III trial of consolidation therapy with yttrium-90-ibritumomab tiuxetan compared with no additional therapy after first remission in advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2008;26(32):5156–64.
7. Locksley R.M., Killeen N., Lenardo M.J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001;104(4):487–501.
8. Younes A., Kadin M.E. Emerging applications of the tumor necrosis factor family of ligands and receptors in cancer therapy. *J Clin Oncol* 2003;21(18):3526–34.
9. Wang C.Y., Mayo M.W., Korneluk R.G. et al. NF-kappaB antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science* 1998;281(5383):1680–3.
10. Younes A., Aggarwall B.B. Clinical implications of the tumor necrosis factor family in benign and malignant hematologic disorders. *Cancer* 2003;98(3):458–67.
11. Nadali G., Tavecchia L., Zanolini E. et al. Serum level of the soluble form of the CD30 molecule identifies patients with Hodgkin's disease at high risk of unfavorable outcome. *Blood* 1998;91(8):3011–6.
12. Katz J., Janik J.E., Younes A. Brentuximab vedotin (SGN-35). *Clin Cancer Res* 2011;17(20):6428–36.
13. Younes A. CD30-targeted antibody therapy. *Curr Opin Oncol* 2011;23(6):587–93.
14. Etinger J.T., Clark B.Z., Pucevich B.E. et al. CD30 expression and proliferative fraction in nontransformed mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol* 2009;33(12):1860–8.
15. Küppers R. The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nat Rev Cancer* 2009;9(1):15–27.
16. Schmitz N., Pfistner B., Sextro M. et al. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet* 2002;359(9323):2065–71.
17. Kuruvilla J., Keating A., Crump M. How I treat relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2011;117(16):4208–17.
18. Burroughs L.M., O'Donnell P.V., Sandmaier B.M. et al. Comparison of outcomes of HLA-matched related, unrelated, or HLA-haploidentical related hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning for relapsed

- or refractory Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14(11):1279–87.
19. Merkel O., Hamacher F., Sift E. et al. Novel therapeutic options in anaplastic large cell lymphoma: molecular targets and immunological tools. *Mol Cancer Ther* 2011;10(7):1127–36.
20. Amin H.M., Lai R. Pathobiology of ALK+ anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2007;110(7):2259–67.
21. Vaklavas C., Forero-Torres A. Safety and efficacy of brentuximab vedotin in patients with Hodgkin lymphoma or systemic anaplastic large cell lymphoma. *Ther Adv Hematol* 2012;3(4):209–25.
22. Wahl A.F., Klussman K., Thompson J.D. et al. The anti-CD30 monoclonal antibody SGN-30 promotes growth arrest and DNA fragmentation *in vitro* and affects antitumor activity in models of Hodgkin's disease. *Cancer Res* 2002;62(13):3736–42.
23. Oflazoglu E., Kissler K.M., Sievers E.L. et al. Combination of the anti-CD30-auristatin-E antibody-drug conjugate (SGN-35) with chemotherapy improves antitumor activity in Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2008;142(1):69–73.
24. Sutherland M.S., Sanderson R.J., Gordon K.A. et al. Lysosomal trafficking and cysteine protease metabolism confer target-specific cytotoxicity by peptide-linked anti-CD30-auristatin conjugates. *J Biol Chem* 2006;281(15):10540–7.
25. Younes A., Bartlett N.L., Leonard J.P. et al. Brentuximab vedotin (SGN-35) for relapsed CD30-positive lymphomas. *N Engl J Med* 2010;363(19):1812–21.
26. Chen R.W., Gopal A.K., Smith S.E. et al. Results of a pivotal phase II study of brentuximab vedotin (SGN-35) in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma (HL). *J Clin Oncol* 2011;29:8031.
27. Pro B., Advani R., Brice P. et al. Brentuximab vedotin (SGN-35) in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large-cell lymphoma: results of a phase II study. *J Clin Oncol* 2012;30(18):2190–6.
28. Kelly K.M., Hodgson D., Appel B. et al. Children's Oncology Group's 2013 blueprint for research: Hodgkin lymphoma. *Pediatr Blood Cancer* 2013;60(6):972–8.

Генетическая гетерогенность острых лейкозов у детей первого года жизни

Г.А. Цаур¹⁻³, Е.В. Флейшман⁴, А.М. Попов⁵, Л.Г. Фечина¹, С.А. Румянцев^{5, 6}

¹ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149, Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 32;

²ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

³ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»; Россия, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19;

⁴ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23;

⁵ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117998, Москва, ул. Саморы Машела, 1;

⁶ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Контакты: Григорий Анатольевич Цаур tsaur@mail.ru

В работе представлены литературные данные и собственные наблюдения за пациентами первого года жизни с острыми лейкозами. Комплексная характеристика острых лейкозов в этой возрастной группе с использованием данных цитогенетики, флуоресцентной гибридизации *in situ*, различных вариантов полимеразной цепной реакции как при наличии перестроек 11q23/MLL, так и при их отсутствии встречается крайне редко. Проанализированы как частые, так и редкие цитогенетические и молекулярно-генетические характеристики пациентов с острыми лимфобластными и острыми миелоидными лейкозами в данной возрастной группе.

Ключевые слова: острые лейкозы, дети первого года жизни, цитогенетика, молекулярная генетика

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-14-23

Genetic heterogeneity of infant acute leukemias

G.A. Tsaur¹⁻³, E.W. Fleischman⁴, A.M. Popov⁵, L.G. Fechina¹, S.A. Rumyantsev^{5, 6}

¹Regional Children Clinical Hospital No 1; 32 S. Deryabinoy St., Ekaterinburg, 620149, Russia;

²Institute of Medical Cell Technologies; 22a Karla Marksa St., Ekaterinburg, 620026, Russia;

³Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yel'tsin; 19 Mira St., Ekaterinburg, 620002, Russia;

⁴N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia;

⁵Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitriy Rogachev, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117998, Russia;

⁶N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russia

In this review we present current state of cytogenetic and molecular genetic diagnostics of various aberrations in infant acute leukemias together with our own experience in this field. A complex characteristic of acute leukemias was performed for both MLL-positive and MLL-negative patients. Genetic heterogeneity was shown. Common and rare cytogenetic and molecular genetic aberrations were presented.

Key words: infant acute leukemia, cytogenetics, molecular genetics

Введение

Острые лейкозы (ОЛ) у детей первого года жизни наблюдаются относительно редко. Чаще всего при их изучении акцент делается на анализе случаев с наличием перестроек 11q23/MLL. В то же время комплексная характеристика ОЛ в этой возрастной группе с использованием данных цитогенетики, флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization, FISH), различных вариантов полимеразной цепной реакции (ПЦР) как при наличии перестроек гена MLL, так и при их отсутствии встречается крайне редко [1–3].

Острый лимфобластный лейкоз

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) у детей первого года жизни составляет, по разным данным, от 2,5 до 5 % всех случаев ОЛЛ у детей [4–7]. Наиболее распространенными симптомами ОЛЛ в данной возрастной группе являются гепатоспленомегалия и нейрорлейкоз, которые выявляются у детей первого года жизни достоверно более часто по сравнению с детьми других возрастных групп [4, 6–10]. Среди лабораторных показателей следует выделить высокий инициальный лейкоцитоз, CD10-негативный иммунофенотип бластных клеток с коэкспрессией миелоидных (CD15,

CD65) и нейральных (NG2) антигенов, а также наличие перестроек гена *MLL* [1, 8].

Наиболее типичными цитогенетическими аномалиями, выявляемыми при ОЛЛ у детей первого года жизни, являются перестройки хромосомного района 11q23 с вовлечением гена *MLL*, которые, по разным данным, обнаруживаются в 60–80 % случаев у пациентов исследуемой возрастной группы [1–3, 11, 12]. Различия в частоте выявления перестроек 11q23/*MLL*, в первую очередь, связаны с тем, какие методы использовались для диагностики — более низкие цифры получены при применении метода стандартной цитогенетики, более высокие — при использовании FISH и/или гибридизации по Саузерну, которые способны выявлять любые перестройки *MLL*, включая криптические. В проведенном нами исследовании при использовании метода стандартной цитогенетики перестройки 11q23 были обнаружены у 64 (59,8 %) из 107 детей первого года жизни с ОЛЛ и информативным цитогенетическим исследованием [13]. Совместное применение методов цитогенетики и ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в этой же группе позволило выявить перестройки 11q23/*MLL* у 112 (65,1 %) из 172 обследованных пациентов [14]. При использовании метода FISH процент выявления перестроек *MLL* достиг 73,1 % [15].

Известно, что каждый из 3 описанных выше методов выявления перестроек 11q23/*MLL* имеет свои преимущества и недостатки. Отсутствие митотически делящихся клеток, преимущественное вступление в митоз неопухолевых клеток, находящихся в костном мозге, с одновременным «замиранием» деления опухолевых бластов, «плохая» морфология хромосом опухолевого клона ведут к тому, что в 15–20 % случаев стандартное цитогенетическое исследование не позволяет дать какое-либо заключение. Дополнительной сложностью является существование криптических (скрытых) вариантов хромосомных аберраций, наиболее известными примерами которых служат транслокация t(12;21), многие инсерции, например ins(10;11)(p21;q23). В этом случае на помощь приходят молекулярно-биологические методы, такие как FISH и ОТ-ПЦР. Каждый из них также не является идеальным, так как, например, диагностические возможности ОТ-ПЦР ограничены только спектром известных химерных транскриптов, а FISH в ряде случаев способен «пропускать» хромосомные аберрации, особенно если они образуются в результате небольших по величине вставок одной хромосомы в другую. У нас имеются 2 наблюдения за пациентами первого года жизни, у которых метод FISH с использованием 2 флуоресцентных зондов разных производителей для выявления перестроек 11q23/*MLL* не обнаружил их, а метод ОТ-ПЦР показал наличие химерного транскрипта *MLL-MLLT10*, что было подтверждено секвенированием и длинной инвертированной ПЦР. Последний метод, несмотря на свою трудоемкость, позволяет выявлять любую перестройку гена *MLL*.

Поэтому, с нашей точки зрения, для диагностики ОЛЛ у детей первого года жизни оптимальным является сочетанное использование всех 3 диагностических методов: стандартного цитогенетического исследования, FISH для выявления перестроек 11q23/*MLL* и ploидности опухолевого клона и ОТ-ПЦР с обязательным анализом не только химерных транскриптов с вовлечением *MLL* (*MLL-AF4*, *MLL-MLLT1*, *MLL-MLLT3*, *MLL-MLLT10*, *MLL-EPS15*), но и *BCR-ABL1*, *ETV6-RUNX1*, *TCF3-PBX1*, а при Т-клеточных ОЛЛ — *STIL-TAL1*. Это даст возможность обнаруживать практически любую перестройку 11q23/*MLL*, а также другие структурные и количественные хромосомные аномалии, включая криптические. Более подробно диагностический алгоритм комбинированного использования различных методов клинической лабораторной диагностики представлен в другой нашей статье, опубликованной в этом номере журнала, — «Методические основы диагностики и мониторинга минимальной остаточной болезни при острых лейкозах у детей первого года жизни» (стр. 71).

При разделении пациентов на 2 группы по возрасту отмечено, что у детей младше 6 месяцев перестройки 11q23/*MLL* обнаруживались достоверно чаще (68 (86,1 %) из 79 случаев) по сравнению с больными в возрасте от 6 до 12 месяцев (45 (48,4 %) из 93 случаев) ($p < 0,001$). Статистически значимые различия сохранялись для t(4;11)(q21;q23)/*MLL-AF4* (51,9 и 26,9 % соответственно; $p = 0,001$) и t(11;19)(q23;p13)/*MLL-MLLT1* (24,1 и 3,2 % соответственно; $p < 0,001$) [14].

Другие генетические нарушения, характерные для ОЛЛ у детей старше 1 года, такие как транслокация t(9;22)(q34;q11) с образованием химерного гена *BCR-ABL1*, высокая гипердиплоидия, криптическая транслокация t(12;21)(p13;q22), ведущая к образованию химерного гена *ETV6-RUNX1*, а также транслокация t(1;19)(q23;p13.3)/*TCF3-PBX1*, выявляются у детей первого года жизни крайне редко. Косвенно это подтверждается тем, что крупнейшее кооперированное исследование Ph-позитивного ОЛЛ у детей, в котором представлены данные 326 пациентов в возрасте младше 18 лет, приводит данные только об 1 пациенте младше 1 года с наличием t(9;22)(q34;q11)/*BCR-ABL1* [16]. Транслокация t(1;19)(q23;p13) с образованием химерного гена *TCF3-PBX1* выявляется несколько чаще. Показано, что в среднем это 1 случай на 100 пациентов с ОЛЛ в возрасте младше 1 года [2, 17]. Дополнительным подтверждением низкой частоты встречаемости данной транслокации у детей первого года жизни является тот факт, что в работе, проведенной группой исследователей из Аргентины, собравших данные о 48 случаях транслокации t(1;19)(q23;p13) при ОЛЛ у детей, было выявлено всего 3 пациента первого года жизни [18], в то время как австрийские исследователи не обнаружили ни одного случая данной транслокации у детей младше 1 года среди 31 пациента с транслокацией t(1;19) [19].

Однозначно частоту выявления транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* у детей первого года жизни оце-

нить сложно в силу противоречивости имеющихся данных. С одной стороны, известно, что эта транслокация чрезвычайно редка в данной возрастной группе: так, в работах D. Bhojwani и соавт. и A. Borkhardt и соавт. не выявлено ни одного пациента младше 1 года среди 445 *ETV6-RUNX1*-позитивных больных [20, 21]. С другой стороны, M. Emerenciano и соавт. обнаружили 4 позитивных случая среди 103 пациентов первого года жизни [2].

Высокая гипердиплоидия отмечается у 5–7 % пациентов с ОЛЛ первого года жизни [2, 3], что значительно ниже, чем среди детей старше 1 года, у которых она составляет около 25 % [22, 23], а в ряде исследований достигает 38 % [24].

Гиподиплоидия (≤ 44 хромосом) — относительно редкое генетическое явление при ОЛЛ у детей, связанное с неблагоприятным прогнозом. Специальных исследований, посвященных частоте встречаемости гиподиплоидии у детей первого года жизни, не проводилось. В рамках публикации группы Ponte di Legno, объединившей данные 11 крупнейших исследовательских групп, среди 132 пациентов с гиподиплоидным кариотипом лейкозных клеток всего 3 были младше 1 года [25]. Ни один из них не имел крайне прогностически неблагоприятных вариантов гиподиплоидии — низкой гиподиплоидии (30–39 хромосом) или окологаплоидного кариотипа (< 30 хромосом) [24].

Наши собственные результаты подтверждают упомянутые выше наблюдения (табл. 1). Среди исследованных нами 172 детей с ОЛЛ из В-линейных предшественников в возрасте младше 1 года выявлено лишь 3 случая с высокой гипердиплоидией, 2 случая *t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1* и по 1 случаю с *t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1* и гиподиплоидией. Транслокации с участием хромосомного региона 12p13, вовлекающие ген *ETV6*, не были обнаружены ни цитогенетически, ни при использовании ОТ-ПЦР [13, 14]. Таким образом, хромосомные aberrации, типичные для ОЛЛ у детей старше 1 года, редко выявляются у детей первого года жизни; в исследуемой группе преобладают перестройки 11q23/*MLL*.

Другие молекулярно-генетические характеристики, которые являются независимыми прогностически неблагоприятными факторами у детей старше 1 года, в частности внутрихромосомная амплификация 21 (iAMP21), делеции в гене *IKAROS (IKZF1)*, «*BCR-ABL1*-подобный» профиль экспрессии генов, при ОЛЛ у детей первого года жизни ранее описаны не были [26–29].

Относительно недавно была продемонстрирована возможность совместного использования данных цитогенетики, FISH и множественной лигазной амплификации зондов, выявляющей нарушения числа копий генов *IKZF1 (IKAROS)* (располагается в хромосомном регионе 7p12.2), *CDKN2A* и *CDKN2B* (оба в 9p21), региона *PARI*, включающего 3 гена, *CSF2RA/IL3RA/CRLF2*, *BTG1*, расположенных в хромосомном регионе Xp22.3, *EBF1* (5q34), *PAX5* (9p13), *ETV6* (12p13), *RBI* (13q14.2),

Таблица 1. Относительная частота (%) выявления различных генетических aberrаций при ОЛЛ у детей

Аномалия	Дети первого года жизни		Дети старше 1 года (данные литературы)
	наши данные (n = 172)	данные литературы [1–3, 11, 12, 16–21, 25]	
Нормальный кариотип	15,1	9,3–14,8	30–35
Высокая гипердиплоидия (51–65 хромосом)	1,7	1,0–1,2	25–30
Гиподиплоидия (≤ 44 хромосом)	0,6	?	1,5–2,0
<i>t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1</i>	1,2	1,0–1,2	3–5
<i>t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1</i>	0,6	1,0–1,8	3–4
<i>t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1</i>	—	0–3,9	20–25
Транслокации с вовлечением 11q23/ <i>MLL</i> *	73,1	66–78	2–3
<i>t(4;11)(q21;q23)/MLL-AF4</i>	38,4	34–41	1–2
<i>t(11;19)(q23;p13)/MLL-MLLT1</i>	12,8	6,9–13,3	Не определено
<i>t(9;11)(p22;q23)/MLL-MLLT3</i>	7,0	5,9–7,3	
<i>t(10;11)(p12;q23)/MLL-MLLT10</i>	2,9	2,2	
<i>t(1;11)(p32;q23)/MLL-EPS15</i>	3,5	1,5	
<i>t(2;11)(q12;q23)/MLL-AFF3</i>	0,6	0,8	
Неизвестный ген-партнер <i>MLL</i>	0,6	5,0–6,9	5
Другие гены-партнеры <i>MLL</i>	—	5,0	
<i>del(1)(p)/STIL-TAL1</i>	0,6	?	3–6
Другие	6,9	4,0–6,5	

Примечание. *Частота выявления перестроек 11q23/*MLL* дана с учетом данных цитогенетики, ОТ-ПЦР и FISH.

для создания нового варианта классификации ОЛЛ у детей старше 1 года. К группе низкого генетического риска (genetic good-risk) авторами были отнесены наличие химерного гена *ETV6-RUNX1*, высокая гипердиплоидия, нормальный статус всех вышеупомянутых генов и региона *PARI*, изолированные делеции генов *ETV6/PAX5/BTG1* и делеция *ETV6* в сочетании с дополнительной делецией одного из генов *BTG1/PAX5/CDKN2A/CDKN2B*. Все остальные генетические наход-

ки, выявленные любым из 3 вышеупомянутых методов, относили к группе высокого генетического риска (genetic poor-risk) [30].

Основываясь на этих данных, мы проанализировали ДНК 10 детей первого года жизни, включенных в исследование MLL-Baby, с диагнозом ОЛЛ, у которых отсутствовали перестройки 11q23/*MLL*. Применяли метод множественной лигазной амплификации зондов с использованием наборов SALSA MLPA P335 ALL-IKZF1 и SALSA MLPA P202 (оба производства MRC-Holland, Нидерланды). Делеция в гене *IKZF1* (*IKAROS*) была выявлена у 1 из 10 обследованных пациентов. Эта делеция затрагивала все 8 экзонов гена *IKZF1*. Она сочеталась с делециями в генах *CDKN2A*, *ETV6*, *BTG1*. Минимальная остаточная болезнь (МОБ) не была выявлена на 36-й день лечения. Пациент находится в 1-й ремиссии со сроком наблюдения 2,3 года.

В группу высокого генетического риска согласно рекомендациям группы UKALL [30] нами было отнесено 4 пациента. Среди них зафиксирован 1 рецидив у больного с высокой величиной МОБ (1,442 %) на 36-й день лечения по протоколу MLL-Baby. В группе низкого генетического риска было 6 пациентов; среди них также произошел 1 рецидив у больного с высокой гипердиплоидией и нормальным статусом исследованных генов, у которого выявлен высокий уровень МОБ (1,213 %) на 36-й день терапии.

Острый миелоидный лейкоз

На долю острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) у детей первого года жизни приходится 7–13 % от общего числа случаев ОМЛ у детей [31–35]. Наиболее частыми клинико-лабораторными признаками ОМЛ у детей первого года жизни являются гепатоспленомегалия, нейрорлейкоз, относительно высокий инициальный лейкоцитоз, перестройки 11q23/*MLL*. Несмотря на схожесть клинических признаков с ОЛЛ, есть и существенные различия: частые случаи хлоромы, более низкий уровень инициального лейкоцитоза, а также различающиеся частота и спектр перестроек 11q23/*MLL* [34, 36, 37]. Современная классификация ОМЛ, а также сравнение биологических и молекулярно-генетических показателей у детей и взрослых представлены в табл. 2.

Перестройки 11q23/*MLL* относятся к наиболее частым генетическим нарушениям при ОМЛ у детей первого года жизни [7, 8]. У детей старше 1 года и взрослых с ОМЛ их обнаруживают значительно реже [39–41]. Так же как и при ОЛЛ, нами выявлена зависимость частоты выявления перестроек 11q23/*MLL* от метода диагностики: при использовании стандартного цитогенетического метода перестройки 11q23 были обнаружены в 44,4 % случаев (у 28 из 63 пациентов с информативным цитогенетическим анализом) [13], при совместном применении ОТ-ПЦР и метода цитогенетики — в 49,3 % (37 из 75), а при проведении FISH — в 56 % (42 из 75) [42]. Исходя из этого, так же

как и при ОЛЛ, для пациентов первого года жизни с ОМЛ мы рекомендуем сочетанное использование методов цитогенетики, FISH и ОТ-ПЦР. ОТ-ПЦР должна проводиться для выявления следующих химерных транскриптов с вовлечением *MLL*: *MLL-MLLT3*, *MLL-MLLT10*, *MLL-MLLT11*, *MLL-ELL*, *MLL-AF4*, *MLL-MLLT4*, *MLL-MYO1F*, *MLL-FOXO4*, а также *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11*. В случае *MLL*-негативных ОМЛ также обязательным является проведение FISH для обнаружения транслокации t(7;12)(q36;p13).

Наиболее часто в исследуемой группе пациентов выявлялись транслокации t(9;11)(p22;q23)/*MLL-MLLT3* и t(10;11)(p12;q23)/*MLL-MLLT10* (по 28,6 % каждая). Морфологический вариант ОМЛ по классификации группы FAB был известен у 68 пациентов. У большинства — 26 (61,9 %) 11q23/*MLL*-позитивных больных — был выявлен острый монобластный лейкоз (морфологический вариант М5 по FAB-классификации). У 7 (16,7 %) пациентов с перестройками 11q23/*MLL* был диагностирован острый миеломонобластный лейкоз (М4 по FAB), ОМЛ с признаками созревания (М2 по FAB) — у 4 (9,5 %). Также было выявлено по 1 (2,4 %) случаю ОМЛ с минимальной дифференцировкой (М0 по FAB), ОМЛ без признаков созревания (М1 по FAB) и острого мегакариобластного лейкоза (М7 по FAB). Суммарно на долю вариантов М4 и М5 приходилось 78,5 % всех случаев *MLL*-позитивного ОМЛ в исследуемой группе. В группе пациентов без перестроек 11q23/*MLL* преобладающим морфологическим вариантом был М7 — 12 (36,4 %) больных, М5 был выявлен у 6 (18,2 %), М1 и М4 — по 3 (9,1 %), М2 и М0 — по 2 (6,1 %). Таким образом, у пациентов с наличием перестроек 11q23/*MLL* ОМЛ М5 диагностировался достоверно чаще ($p < 0,001$), а М7 — значительно реже ($p < 0,001$) по сравнению с группой пациентов, у которых перестройки 11q23/*MLL* не были обнаружены [42].

Также характерными для ОМЛ у детей первого года жизни являются транслокации t(7;12)(q36;p13) и t(1;22)(p13;q13) [43, 44].

Неслучайная транслокация t(1;22)(p13;q13), ведущая к образованию химерного гена *RBM15-MKL1*, является типичной для острого мегакариобластного лейкоза (ОМЛ М7) у детей первого года жизни и редко обнаруживается у пациентов других возрастных групп [45, 46]. В целом частота выявления данной транслокации при ОМЛ у детей составляет 1–4 % [32, 47, 48], но если учитывать только случаи ОМЛ, возникающие на первом году жизни, то эта величина достигает 6–28 % [44, 49]. При ОМЛ М7 доля пациентов с t(1;22) достигает 17 % и 30–45 % среди детей первого года жизни [50]. Транслокация t(1;22) сочетается с низким инициальным лейкоцитозом, миелофиброзом и экстрамедуллярными очагами [7, 44, 48]. В отличие от более старших детей и взрослых [51], в подавляющем большинстве случаев ОМЛ у детей первого года жизни t(1;22) является единственной аномалией

Таблица 2. Сравнение биологических свойств и генетических перестроек при ОМЛ у детей (младше 18 лет) и взрослых (до 60 лет) (цитируется по [38] с изменениями)

	ОМЛ у детей		ОМЛ у взрослых	
	частота/особенности	прогноз/5-летняя общая выживаемость (ОВ)	частота/особенности	прогноз/5-летняя ОВ
Биологическая характеристика				
ОМЛ <i>de novo</i>	> 95 %	60–75 %	83 %	30–40 %
Вторичный ОМЛ (из миелодиспластического синдрома)	1 %	Неблагоприятный прогноз	17 %	Неблагоприятный прогноз
Хромосомные аномалии	70–80 %	Зависит от типа аномалии	55 %	Зависит от типа аномалии
Классификация Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) (2008)				
ОМЛ с неслучайными генетическими аномалиями				
t(8;21)(q22;q22)/ <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	12–14 %	Благоприятный прогноз	8 %	Благоприятный прогноз
inv(16)(p13.1q22)/ <i>CBFB-MYH11</i>	8 %	Благоприятный прогноз	5 %	Благоприятный прогноз
t(15;17)(q22;q21)/ <i>PML-RARA</i>	6–10 %	Благоприятный прогноз	5–10 %	Благоприятный прогноз
t(9;11)(p22;q23)/ <i>MLL-MLLT3</i>	7 %	Благоприятный или промежуточный прогноз (63–77 %)	2 %	50 %
t(10;11)(p12;q23)/ <i>MLL-MLLT10</i>	3 % (преимущественно у детей младше 1 года)	Неблагоприятный прогноз	1 %	Не ясен
t(6;9)(p23;q34)/ <i>DEK-NUP214</i>	< 2 %	Неблагоприятный прогноз	1 %	Неблагоприятный прогноз
inv(3)(q21q26.2) или t(3;3)(q21;q26.2)/ <i>RPN1-EVT1</i>	< 1 %	Неблагоприятный прогноз	1 %	Неблагоприятный прогноз
t(1;22)(p13;q13)/ <i>RBM15-MKL1</i>	Только ОМЛ М7; у детей младше 1 года	Промежуточный прогноз	< 1 %	Не ясен
Временная категория: мутации <i>NPM1</i>	5–10 % (14–22 % при нормальном кариотипе). Чаще тип А. Увеличивается с возрастом	Благоприятный прогноз	35 % (53 % при нормальном кариотипе)	Благоприятный прогноз при отсутствии <i>FLT3-ITD</i>
Временная категория: мутации <i>CEBPA</i>	5 % (14 % при нормальном кариотипе)	Благоприятный прогноз	10 % при нормальном кариотипе	Благоприятный прогноз
<i>FLT3-ITD</i>	10 % (18 % при нормальном кариотипе)	Зависит от сочетания с другими мутациями	20–40 % (50 % при нормальном кариотипе)	Неблагоприятный прогноз
Не включенные в классификацию ВОЗ				
t(7;12)(q36;p13)/t(7;12)(q32;p13)	У детей младше 1 года	Неблагоприятный прогноз	—	—
t(5;11)(q35;p15.5)/ <i>NUP98-NSD1</i>	Чаще при нормальном кариотипе	Неблагоприятный прогноз	—	—
Мутации <i>NRAS</i>	20 %	Не связаны с прогнозом	10 %	Не связаны с прогнозом
Мутации <i>MLL-PTD</i>	3 %	Не определен	3–5 %	Неблагоприятный прогноз
Мутации <i>c-KIT</i>	25 % при t(8;21)	Не ясен	17 % при СВФ-лейкозах	Неблагоприятный прогноз при t(8;21)
Мутации <i>WT1</i>	13 % при нормальном кариотипе	Неблагоприятный прогноз в сочетании с <i>FLT3-ITD</i>	10 % при нормальном кариотипе	Неблагоприятный прогноз в сочетании с <i>FLT3-ITD</i>
Мутации <i>PTPN11</i>	5–21 %; только у детей младше 1 года	Не ясен	—	—
Мутации <i>IDH1/2</i>	2–3 %	Не связаны с прогнозом	16 %	Зависит от сочетания с другими мутациями
Мутации <i>TET2</i>	Не известно	Не ясен	8–17 %	Не ясен
Мутации <i>DNMT3A</i>	1 %	Не ясен	20 %	Не ясен

Примечание. Благоприятный прогноз указывает на 5-летнюю ОВ > 70 % у детей и > 60 % у взрослых; промежуточный прогноз — 50–70 % у детей и 23–60 % у взрослых; неблагоприятный прогноз — < 50 % у детей и < 23 % у взрослых.

кариотипа лейкозных клеток [46]. У пациентов с синдромом Дауна $t(1;22)$ встречается крайне редко [44, 47–49, 52]. Ранее эта хромосомная аномалия считалась маркером неблагоприятного прогноза [44, 46, 48], однако позднее было показано, что дети первого года жизни с ОМЛ М7 и наличием $t(1;22)$ имеют более благоприятный прогноз по сравнению с другими пациентами с ОМЛ М7. В целом вероятность 5-летней бессобытийной выживаемости (БСВ) детей с ОМЛ М7 составляет 10–34 % [53–55], в то время как при наличии $t(1;22)(p13;q13)/RBM15-MKL1$ эта величина достигает 50 % [51, 53].

Известно, что транслокация $t(8;21)(q22;q22)$ с образованием химерного гена *RUNX1-RUNX1T1* является самой частой специфической аномалией кариотипа при ОМЛ у подростков и молодых взрослых [40, 45]. У пациентов в возрасте до 1 года она встречается чрезвычайно редко: группа BFM не выявила ни одного случая данной транслокации среди 125 больных ОМЛ первого года жизни [32]. Описываются лишь единичные случаи этой генетической аномалии у пациентов младше 1 года [2]. В отличие от $t(8;21)$ инверсия $inv(16)(p13q22)/CBFB-MYH11$ встречается при ОМЛ у детей первого года жизни чаще (3–4 %) [32], но не достигает частоты, характерной для детей старше 1 года (5–9 %) [40, 41, 56].

Транслокация $t(7;12)(q36;p13)$ ведет к образованию химерного гена *HLXB9 (MNX1)-ETV6*. Данную транслокацию не всегда можно обнаружить при проведении цитогенетического исследования, и для ее выявления рекомендуется применять метод FISH [57–60]. С его помощью было показано существование различных точек разрыва как в хромосомном районе 7q36, так и 12p13 [58, 61]. Ряд исследователей ставят ее на 2-е место по частоте встречаемости после перестроек гена *MLL* при ОМЛ у детей первого года жизни [59]. На долю $t(7;12)$ приходится 4–18 % случаев ОМЛ у детей младше 1 года [32, 59, 60]. Характерными чертами ОМЛ с транслокацией $t(7;12)$ являются более высокий уровень тромбоцитов и $CD34^{+}$ -клеток по сравнению с пациентами, у которых $t(7;12)$ не была выявлена [59]. Также у пациентов с наличием $t(7;12)$ обнаружена гиперэкспрессия гена *HLXB9* [59].

Очень часто данная транслокация сочетается с трисомией хромосомы 19, изолированной или в комбинации с трисомией хромосомы 8, которые, как считается, ассоциированы с неблагоприятным прогнозом [43, 60]. В целом прогноз для группы пациентов с наличием $t(7;12)$ крайне неблагоприятный — медиана БСВ составила 9 мес по сравнению с 31 мес для $t(7;12)$ — негативных случаев. Трехлетняя БСВ составила 0 % и была достоверно ниже, чем у пациентов с наличием перестроек $11q23/MLL$ (58 ± 4 %), а также больных, у которых ни транслокация $t(7;12)$, ни перестройки $11q23/MLL$ не были выявлены. Аналогичные данные получены и для ОВ [59].

Комплексный кариотип у детей первого года жизни с ОМЛ, получавших терапию по протоколам AML-BFM

98 и AML-BFM 2004, регистрировался у 14 (12,7 %) из 110 пациентов с успешным цитогенетическим исследованием. С увеличением возраста происходило снижение доли пациентов с комплексным кариотипом: так, в возрасте от 1 года до 2 лет эта величина составила 8,6 %, а в интервале от 2 до 10 лет — 6,8 % [32].

В настоящее время на смену понятию «комплексный кариотип» пришел термин «моносомный кариотип», под которым понимают наличие по меньшей мере 2 аутосомных моносомий или 1 аутосомной моносомии в сочетании как минимум с 1 структурной хромосомной аномалией, за исключением маркеров благоприятного прогноза, а также моносомий половых хромосом [62]. Наиболее часто обнаруживаются моносомии хромосом 7, 5, 17 и 18 [63]. В ряде работ было показано, что у взрослых пациентов моносомный кариотип является более важным прогностически неблагоприятным фактором по сравнению с комплексным кариотипом [62]. В то же время приводятся данные о возможном комбинированном использовании моносомного и комплексного кариотипа для выделения максимально большой группы с наименее благоприятным прогнозом [64].

Исследованию проблемы моносомного кариотипа у детей посвящены лишь единичные работы. В рамках протокола AIEOP AML 2002/01 было выявлено 10 (2,1 %) пациентов с моносомным кариотипом из 482. Но необходимо отметить, что под моносомным кариотипом понимали только совместное отсутствие хромосом 5 и 7. В рамках этого протокола 8-летняя БСВ у пациентов с моносомным кариотипом была достоверно ниже по сравнению с общей группой ($20 \pm 12,6$ и $53 \pm 2,9$ % соответственно). Важно отметить, что данный фактор сохранял свою прогностическую значимость и при многофакторном анализе наряду с 2 другими: группой риска по протоколу и инициальным лейкоцитозом более $100 \times 10^9/\text{л}$ [65]. Однако из данных, приводимых авторами, непонятно, были ли среди пациентов с моносомным кариотипом дети младше 1 года.

Косвенный ответ на этот вопрос дан в работе К. Manola и соавт. [66], в которой представлены данные 15 пациентов с моносомным кариотипом (10 мальчиков и 5 девочек; медиана возраста 11 лет; диапазон 1,1–19 лет). Моносомный кариотип был выявлен среди всех морфологических вариантов ОМЛ, за исключением ОМЛ с созреванием (ОМЛ М2) и острого промиелоцитарного лейкоза (ОМЛ М3). Наибольшее количество пациентов (3 случая) имели острый миеломонобластный лейкоз (ОМЛ М4). В целом частота обнаружения данной цитогенетической аномалии составила 12,1 % (15 случаев из 124). Выявлены заметные различия при делении пациентов на 3 возрастные группы. Среди больных младше 2 лет моносомный кариотип выявлен в 31,2 % случаев (5 из 16); старше 2, но младше 14 лет — в 14,0 % (6 из 43); в возрасте 14–21 года — в 6,2 % (4 из 65). Необходимо подчерк-

нать, что у 12 из 15 пациентов с моносомным кариотипом был также диагностирован комплексный кариотип [66].

Проведенный нами анализ 75 пациентов первого года жизни с ОМЛ показал тенденции, схожие с описанными ранее в работах других авторов (табл. 3). Комплексный кариотип был выявлен у 7,9 % больных, случаев моносомного кариотипа не обнаружено. Транслокации $t(8;21)(q22;q22)$ и $t(15;17)(q22;q21)$, ассоциированные с благоприятным прогнозом, в исследованной группе не встретились. Третий маркер благоприятного прогноза при ОМЛ — $inv16(p13q22)$ — был обнаружен у 3 пациентов, причем в 1 случае $inv16$ сочеталась с транслокацией $t(7;12)(q36;p12)$. Двое пациентов с изолированной $inv16$ живы и находятся в полной продолжающейся ремиссии, длительность которой составляет 63 и 129 мес. Больной с сочетанием $inv16$ и $t(7;12)(q36;p12)$ умер через 10 мес от начала терапии. У 5 пациентов с ОМЛ М7 была обнаружена транслокация $t(1;22)(p13;q13)$ [42].

Транслокация $t(7;12)(q36;p13)$ была выявлена нами у 4 пациентов, включая 3 случая *MLL*-негативного ОМЛ и 1 — острого бифенотипического лейкоза. Выявление данной транслокации, которая была криптой в всех 4 случаях, стало возможным благодаря использованию трехцветного флуоресцентного зонда, специально разработанного для решения этой задачи компанией MetaSystems (Германия). Интересно отметить, что все $t(7;12)$ -позитивные случаи выявлены у девочек, и в 3 из 4 случаев цитогенетически определялась трисомия хромосомы 19. Взаимосвязи с FAB-вариантом не прослеживалось.

Известно, что в ряде случаев ОЛ у детей первого года жизни могут развиваться уже *in utero*. Доказательством этого является сходство ОЛ, возникших у монозиготных близнецов в течение первого года жизни. Это подтверждается одинаковыми клональными перестройками в бластных клетках, выявленными при стандартном цитогенетическом исследовании, а также аналогичными молекулярно-генетическими характеристиками химерных генов: точки разрыва в ДНК химерных генов, индивидуальные перестройки генов тяжелых цепей иммуноглобулинов и Т-клеточных рецепторов (*Ig* и *TCR*) [67, 68]. Считается, что возможной причиной возникновения идентичных ОЛ у монозиготных близнецов является наличие сосудистых анастомозов внутри монохорионической плаценты [69], благодаря чему опухоль, возникающая во внутриутробном периоде у одного плода, может диссеминировать во второй [70, 71]. Однако в литературе представлен также случай возникновения ОЛ у диохорионических близнецов на первом году жизни, но следует подчеркнуть, что при наличии идентичной транслокации $t(11;19)(q23;p13.3)$ с вовлечением в обоих случаях гена *MLL* авторы описали различающиеся перестройки гена *IgH* [72]. Также в пользу пренатального происхождения ОЛ свидетельствует

Таблица 3. Относительная частота (%) выявления различных генетических аберраций при ОМЛ у детей

Аномалия	Дети первого года жизни		Дети старше 1 года (данные литературы)
	наши данные (n = 75)	данные литературы [32, 36]	
Нормальный кариотип	8,0	4,0–9,0	20–39
$t(8;21)(q22;q22)/RUNX1-RUNX1T1$	—	—	12–14
$t(15;17)(q22;q11)/PML-RARA$	—	0–0,8	6–10
$inv(16)(p13q22)/CBFB-MYH11$	4,0	3,0–3,7	8
$t(1;22)(p13;q13)$	6,7	5,0	—
$t(7;12)(q36;p12)^*$	5,3	3,0–5,0	—
Транслокации с вовлечением $11q23/MLL^{**}$	56,0	56,0	16–18
$t(9;11)(p22;q23)/MLL-MLLT3$	16,0	18,0	7
$t(10;11)(p12;q23)/MLL-MLLT10$	16,0	9	3
$t(1;11)(q21;q23)/MLL-MLLT11$	2,7	?	?
$t(4;11)(q21;q23)/MLL-AF4$	2,7	?	?
$t(11;19)(q23;p13)/MLL-MYO1F$	2,7	?	—
$t(11;19)(q23;p13.1)/MLL-ELL$	2,7	4	1
$t(6;11)(q27;q23)/MLL-MLLT4$	1,3	1	1
$t(11;17)(q23;q25)/MLL-SEPT9$	1,3	?	?
$t(X;11)(q24;q23)/MLL-SEPT6$	1,3	?	?
<i>MLL</i> -PTD	1,3	?	0,9–2,5
Неизвестный ген-партнер <i>MLL</i>	6,7	5,0	1
Комплексный кариотип***	7,9	13,0	7
Другие	12,1	9,0	15

Примечание. *Включая 1 пациента с острым бифенотипическим лейкозом; **частота выявления перестроек $11q23/MLL$ дана с учетом данных цитогенетики, ОТ-ПЦР и FISH; ***клоны клеток с 3 и более хромосомными аномалиями, без перестроек $11q23/MLL$, без маркеров благоприятного прогноза.

выявление идентичной нуклеотидной последовательности химерного гена *MLL-AF4* в опухолевых бластах пациента и сухих пятнах его же пуповинной крови, взятых за несколько лет до клинического дебюта ОЛ [73].

Характерной чертой ОЛ, который развивается в течение первого года жизни у монозиготных близнецов, является близкая к 100 % вероятность развития ОЛ у второго близнеца из пары, в то время как у более старших детей эта величина составляет примерно 10 % [68]. В литературе приводятся лишь единичные описания случаев отсутствия развития ОЛ в паре монозиготных близнецов, у одного из которых поставлен диагноз ОЛ. Возможным объяснением этого феномена авторы посчитали тяжелую вирус-индуцированную нейтропению, которая привела к самопроизвольной редукции клона, несущего химерный ген *MLL-MLLT1* [74]. В то же время последний случай является еще одним подтверждением теории двух последовательных генетических событий (двух «ударов»), предложенной А. Knudson для объяснения механизмов возникновения злокачественных новообразований [75].

Заключение

Таким образом, нами описаны биологические особенности ОЛ у детей первого года жизни, приведены

доказательства пренатального происхождения этого заболевания, показана генетическая гетерогенность, проанализированы как частые, так и редкие цитогенетические и молекулярно-генетические характеристики ОЛ в данной возрастной группе, проведено сравнение собственных результатов с описанными в литературе данными. Для выявления и характеристики генетических аномалий, имеющих клиническое и научное значение у детей первого года жизни с ОЛЛ и ОМЛ, необходимо использовать комплексный методический подход, включающий все имеющиеся цитогенетические и молекулярно-генетические методики, а в идеале — сконцентрировать проведение исследований этой категории пациентов всего в нескольких лабораториях на территории РФ и Республики Беларусь.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 14-35-00105, а также постановлением № 211 Правительства Российской Федерации, контракт № 02.А03.21.0006.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Borkhardt A., Wuchter C., Viehmann S. et al. Infant acute lymphoblastic leukemia — combined cytogenetic, immunophenotypic and molecular analysis of 77 cases. *Leukemia* 2002;16(9):1685–90.
2. Emerenciano M., Agudelo Arias D., Coser V. et al. Molecular cytogenetic findings of acute leukemia included in the Brazilian Collaborative Study Group of Infant acute leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2006;47(5):549–54.
3. Chessells J., Harrison C., Kempinski H. et al. Clinical features, cytogenetics and outcome in acute lymphoblastic and myeloid leukaemia of infancy: report from the MRC Childhood Leukaemia working party. *Leukemia* 2002;16(5):776–84.
4. Reaman G., Zeltzer P., Bleyer W. et al. Acute lymphoblastic leukemia in infants less than one year of age: a cumulative experience of the Children's Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1985;3(11):1513–21.
5. Greaves M. Infant leukemia biology, aetiology and treatment. *Leukemia* 1996;10(2):372–7.
6. Dördelmann M., Reiter A., Borkhardt A. et al. Prednisone response is the strongest predictor of treatment outcome in infant acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999;94(4):1209–17.
7. Pui C.H., Kane J., Crist W. Biology and treatment of infant leukemia. *Leukemia* 1995;9(5):762–9.
8. Biondi A., Cimino G., Pieters R. et al. Biological and therapeutic aspects of infant leukemia. *Blood* 2000;96(1):24–33.
9. Crist W., Pullen J., Boyett J. et al. Clinical and biologic features predict a poor prognosis in acute lymphoid leukemias in infants: a Pediatric Oncology Group Study. *Blood* 1986;67(1):135–40.
10. Möricke A., Zimmermann M., Reiter A. et al. Prognostic impact of age in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia: data from the trials ALL-BFM 86, 90, and 95. *Klin Padiatr* 2005;217(6):310–20.
11. Pieters R., Schrappe M., De Lorenzo P. et al. A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial. *Lancet* 2007;370(9583):240–50.
12. Tomizawa D., Koh K., Sato T. et al. Outcome of risk-based therapy for infant acute lymphoblastic leukemia with or without an *MLL* gene rearrangement, with emphasis on late effects: a final report of two consecutive studies, MLL96 and MLL98, of the Japan Infant Leukemia Study Group. *Leukemia* 2007;22(11):2258–63.
13. Цаур Г.А., Флейшман Е.В., Попов А.М. и др. Цитогенетическая и молекулярно-генетическая характеристика острых лейкозов у детей первого года жизни. *Клиническая онкогематология* 2011;4(2):134–41. [Tsauro G.A., Fleishman E.V., Popov A.M. et al. Cytogenetics and molecular genetics of infant acute leukemias. *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology* 2011;4(2):134–41. (In Russ.)].
14. Цаур Г.А., Попов А.М., Алейникова О.В. и др. Характеристика перестроек 11q23(*MLL*) у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом. *Онкогематология* 2011;(3):57–64. [Tsauro G.A., Popov A.M., Aleynikova O.V. et al. Detection of 11q23(*MLL*) rearrangements in infant acute lymphoblastic leukemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2011;(3):57–64. (In Russ.)].
15. Цаур Г.А., Плеханова О.М., Гиндина Т.Л. и др. Применение метода флуоресцентной гибридизации *in situ* для выявления перестроек гена *MLL* при острых лейкозах у детей первого года жизни. *Медицинская генетика* 2012;(7):35–45. [Tsauro G.A., Plekhanova O.M., Gindina T.L. et al. Detection of *MLL* gene rearrangements in infants under 12 month of age with acute leukemias by fluorescence *in situ* hybridization. *Meditsinskaya genetika = Medical Genetics* 2012;(7):35–45. (In Russ.)].
16. Aricò M., Valsecchi M.G., Camitta B. et al. Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2000;342(14):998–1006.
17. Nagayama J., Tomizawa D., Koh K. et al. Infants with acute lymphoblastic leukemia and a germline *MLL* gene are highly curable with use of chemotherapy alone: results from the Japan Infant Leukemia Study Group. *Blood* 2006;107(12):4663–5.
18. Felice M., Gallego M., Alonso C. et al. Prognostic impact of t(1;19)/*TCF3-PBX1*

- in childhood acute lymphoblastic leukemia in the context of Berlin–Frankfurt–Münster-based protocols. *Leuk Lymphoma* 2011;52(7):1215–21.
19. Kager L., Lion T., Attarbaschi A. et al. Incidence and outcome of *TCF3-PBX1*-positive acute lymphoblastic leukemia in Austrian children. *Haematologica* 2007;92(11):1561–4.
20. Bhojwani D., Pei D., Sandlund J. et al. *ETV6-RUNX1*-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: improved outcome with contemporary therapy. *Leukemia* 2012;26(2):265–70.
21. Borkhardt A., Cazzaniga G., Viehmann S. et al. Incidence and clinical relevance of *TEL/AML1* fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials. *Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica and the Berlin–Frankfurt–Münster Study Group. Blood* 1997;90(2):571–7.
22. Pui C.H., Carroll W., Meshinchi S. et al. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *J Clin Oncol* 2011;29(5):551–65.
23. Moghrabi A., Levy D.E., Asselin B. et al. Results of the Dana-Farber cancer institute ALL consortium protocol 95-01 for children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2007;109(3):896–904.
24. Moorman A., Ensor H., Richards S. et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *Lancet Oncol* 2010;11(5):429–38.
25. Nachman J., Heerema N., Sather H. et al. Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2007;110(4):1112–5.
26. Den Boer M., van Slegtenhorst M., De Menezes R. et al. A subtype of childhood acute lymphoblastic leukaemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study. *Lancet Oncol* 2009;10(2):125–34.
27. Dörge P., Meissner B., Zimmermann M. et al. *IKZF1* deletion is an independent predictor of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Haematologica* 2013;98(3):428–32.
28. Chen I., Harvey R., Mullighan C. et al. Outcome modeling with *CRLF2*, *IKZF1*, *JAK*, and minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. *Blood* 2012;119(15):3512–22.
29. Moorman A., Richards S., Robinson H. et al. Prognosis of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21). *Blood* 2007;109(6):2327–30.
30. Moorman A., Enshaie A., Schwab C. et al. A novel integrated cytogenetic and genomic classification refines risk stratification in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014;124(9):1434–44.
31. Pui C.H., Kalwinsky D., Schell M. et al. Acute nonlymphoblastic leukemia in infants: clinical presentation and outcome. *J Clin Oncol* 1988;6(6):1008–13.
32. Creutzig U., Zimmermann M., Bourquin J.P. et al. Favorable outcome in infants with AML after intensive first- and second-line treatment: an AML-BFM study group report. *Leukemia* 2012;26(4):654–61.
33. Stevens R., Hann I., Wheatley K. et al. Marked improvements in outcome with chemotherapy alone in paediatric acute myeloid leukemia: results of the United Kingdom Medical Research Council's 10th AML trial. MRC Childhood Leukaemia Working Party. *Br J Haematol* 1998;101(1):130–40.
34. Webb D., Harrison G., Stevens R. et al. Relationships between age at diagnosis, clinical features, and outcome of therapy in children treated in the Medical Research Council AML 10 and 12 trials for acute myeloid leukemia. *Blood* 2001;98(6):1714–20.
35. Perel Y., Auvrignon A., Leblanc T. et al. Treatment of childhood acute myeloblastic leukemia: dose intensification improves outcome and maintenance therapy is of no benefit – multicenter studies of the French LAME (Leucémie Aiguë Myéloblastique Enfant) Cooperative Group. *Leukemia* 2005;19(12):2082–9.
36. Ishii E., Okamura J., Tsuchida M. et al. Infant leukemia in Japan: clinical and biological analysis of 48 cases. *Med Pediatr Oncol* 1991;19(1):28–32.
37. Zweidler-McKay P., Hilden J. The ABCs of infant leukemia. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2008;38(3):78–94.
38. Creutzig U., van den Heuvel-Eibrink M., Gibson B. et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012;120(16):3187–205.
39. Schoch C., Schnittger S., Klaus M. et al. AML with 11q23/*MLL* abnormalities as defined by the WHO classification: incidence, partner chromosomes, FAB subtype, age distribution, and prognostic impact in an unselected series of 1897 cytogenetically analyzed AML cases. *Blood* 2003;102(7):2395–402.
40. Harrison C., Hills R., Moorman A. et al. Cytogenetics of childhood acute myeloid leukemia: United Kingdom Medical Research Council Treatment trials AML 10 and 12. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2674–81.
41. von Neuhoff C., Reinhardt D., Sander A. et al. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2682–9.
42. Цаур Г.А., Флейшман Е.В., Гиндина Т.Л. и др. Характеристика перестроек 11q23/*MLL* при остром миелоидном лейкозе у детей первого года жизни. *Клиническая онкогематология* 2012;5(4):365–70. [Tsauro G.A., Fleishman E.V., Gindina T.L. et al. Detection of 11q23/*MLL* rearrangements in infant acute myeloid leukemia. *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology* 2012;5(4):365–70. (In Russ.)].
43. Tosi S., Harbott J., Teigler-Schlegel A. et al. t(7;12)(q36;p13), a new recurrent translocation involving *ETV6* in infant leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2000;29(4):325–32.
44. Carroll A., Civin C., Schneider N. et al. The t(1;22)(p13;q13) is non-random and restricted to infants with acute megakaryoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *Blood* 1991;78(3):748–52.
45. Manola K. Cytogenetics of pediatric acute myeloid leukemia. *Eur J Haematol* 2009;83(5):391–405.
46. Bernstein J., Dastugue N., Haas O. et al. Nineteen cases of the t(1;22)(p13;q13) acute megakaryoblastic leukaemia of infants/children and a review of 39 cases: report from a t(1;22) study group. *Leukemia* 2000;14(14):216–8.
47. Raimondi S., Chang M.N., Ravindranath Y. et al. Chromosomal abnormalities in 478 children with acute myeloid leukemia: clinical characteristics and treatment outcome in a cooperative pediatric oncology group study-POG 8821. *Blood* 1999;94(11):3707–16.
48. Martinez-Climent J., Garcia-Conde J. Chromosomal rearrangements in childhood acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *J Pediatr Hematol Oncol* 1999;21(2):91–102.
49. Lion T., Haas O. Acute megakaryocytic leukemia with the t(1;22)(p13;q13). *Leuk Lymphoma* 1993;11(1–2):15–20.
50. Haas O., Kronberger M., Mayerhofer L. Cytogenetic abnormalities associated with childhood acute myeloblastic leukemia. *Recent Results Cancer Res* 1993;131:103–12.
51. Dastugue N., Lafage-Pochitaloff M., Pagès M. et al. Cytogenetic profile of childhood and adult megakaryoblastic leukemia (M7): a study of the Groupe Français de Cytoгенетique Hematologique (GFCH). *Blood* 2002;100(2):618–26.
52. Vormoor J., Boos J., Stahnke K. et al. Therapy of childhood acute myelogenous leukemias. *Ann Hematol* 1996;73(1):11–24.
53. Reinhardt D., Diekamp S., Langebrake C. et al. Acute megakaryoblastic leukemia in children and adolescents, excluding Down's syndrome: improved outcome with intensified induction treatment. *Leukemia* 2005;19(8):1495–6.
54. Athale U., Razzouk B., Raimondi S. et al. Biology and outcome of childhood acute megakaryoblastic leukemia: a single

- institution's experience. *Blood* 2001;97(12):3727–32.
55. Barnard D., Alonzo T., Gerbing R. et al. Comparison of childhood myelodysplastic syndrome, AML FAB M6 or M7, CCG 2891: report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer* 2007;49(1):17–22.
56. Tsukimoto I., Tawa A., Horibe K. et al. Risk-stratified therapy and the intensive use of cytarabine improves the outcome in childhood acute myeloid leukemia: the AML99 trial from the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *J Clin Oncol* 2009;27(24):4007–13.
57. Wlodarska I., La Starza R., Baens M. et al. Fluorescence in situ hybridization characterization of new translocations involving TEL (ETV6) in a wide spectrum of hematologic malignancies. *Blood* 1998;91(4):1399–406.
58. Tosi S., Hughes J., Scherer S. et al. Heterogeneity of the 7q36 breakpoints in the t(7;12) involving ETV6 in infant leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2003;38(2):191–200.
59. von Bergh A., van Drunen E., van Wering E. et al. High incidence of t(7;12)(q36;p13) in infant AML but not in infant ALL, with a dismal outcome and ectopic expression of HLXB9. *Genes Chromosomes Cancer* 2006;45(8):731–9.
60. Slater R., von Drunen E., Kroes W. et al. t(7;12)(q36;p13) and t(7;12)(q32;p13) translocations involving ETV6 in children 18 months of age or younger with myeloid disorders. *Leukemia* 2001;15(6):915–20.
61. Simmons H., Oseth L., Nguyen P. et al. Cytogenetic and molecular heterogeneity of 7q36/12p13 rearrangements in childhood AML. *Leukemia* 2002;16(12):2408–16.
62. Breems D., van Putten W., de Greef G. et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol* 2008;26(29):4791–7.
63. Raza S., TaherNazerHussain F., Patnaik M. et al. Autosomal monosomies among 24262 consecutive cytogenetic studies: prevalence, chromosomal distribution and clinicopathologic correlates of sole abnormalities. *Am J Hematol* 2011;86(4):353–6.
64. Haferlach C., Alpermann T., Schnittger S. et al. Prognostic value of monosomal karyotype in comparison to complex aberrant karyotype in acute myeloid leukemia: a study on 824 cases with aberrant karyotype. *Blood* 2012;119(9):2122–5.
65. Pession A., Masetti R., Rizzari C. et al. Results of the AIEOP AML 2002/01 multicenter prospective trial for the treatment of children with acute myeloid leukemia. *Blood* 2013;122(2):170–8.
66. Manola K., Panitsas F., Polychronopoulou S. et al. Cytogenetic abnormalities and monosomal karyotypes in children and adolescents with acute myeloid leukemia: correlations with clinical characteristics and outcome. *Cancer Genet* 2013;206(3):63–72.
67. Ford A., Ridge S., Cabrera M. et al. *In utero* rearrangements in the trithorax-related oncogene in infant leukaemias. *Nature* 1993;363(6427):358–60.
68. Greaves M., Maia A., Wiemels J. et al. Leukemia in twins: lessons in natural history. *Blood* 2003;102(7):2321–33.
69. Strong S., Corney G. The placenta in twin pregnancy. Oxford: Pergamon Press, 1967. 107 p.
70. Clarkson B., Boyse E. Possible explanation of the high concordance for acute leukaemia in monozygotic twins. *Lancet* 1971;1(7701):699–701.
71. Wolman I. Parallel responses to chemotherapy in identical twin infants with concordant leukemia. *J Pediatr* 1962;60:91–5.
72. Gill Super H., Rothberg P., Kobayashi H. et al. Clonal, nonconstitutional rearrangements of the *MLL* gene in infant twins with acute lymphoblastic leukemia: in utero chromosome rearrangement of 11q23. *Blood* 1994;83(3):641–4.
73. Gale K., Ford A., Repp R. et al. Backtracking leukemia to birth: identification of clonotypic gene fusion sequences in neonatal blood spots. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(25):13950–4.
74. Chuk M., McIntyre E., Small D. et al. Discordance of *MLL*-rearranged (*MLL*-R) infant acute lymphoblastic leukemia in monozygotic twins with spontaneous clearance of preleukemic clone in unaffected twin. *Blood* 2009;113(26):6691–4.
75. Knudson A. Stem cell regulation, tissue ontogeny, and oncogenic events. *Semin Cancer Biol* 1992;3(3):99–106

Дазатиниб: 10 лет применения в мировой клинической практике

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

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России»;
Россия, 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16

Контакты: Василий Анатольевич Шуваев shuvaev77@mail.ru

В статье представлены результаты метаанализа данных литературы в отношении опыта использования ингибитора тирозинкиназ 2-го поколения дазатиниба, а также итоги клинических исследований применения дазатиниба у больных хроническим миелолейкозом при резистентности и непереносимости иматиниба в различных фазах заболевания. Приведены результаты, в том числе отдаленные, сравнительного анализа использования дазатиниба и иматиниба в 1-й линии терапии у больных с впервые выявленным хроническим миелолейкозом. Проанализированы спектр и частота побочных явлений, представлены рекомендации по управлению токсичностью дазатиниба. Описаны перспективы возможной отмены терапии дазатинибом у больных хроническим миелолейкозом с глубоким молекулярным ответом — ведения фазы ремиссии без лечения. Также представлена информация о результатах использования дазатиниба при лечении острых лимфобластных лейкозов с филадельфийской хромосомой.

Ключевые слова: дазатиниб, ингибиторы тирозинкиназ, хронический миелолейкоз, острый лимфобластный лейкоз с филадельфийской хромосомой, BCR-ABL, ведение фазы ремиссии без лечения

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-24-33

Dasatinib: ten years of clinical practice worldwide

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.,
Saint Petersburg, 191024, Russia

The article contains results of meta-analysis of experience in use of second-generation tyrosine kinase inhibitors — dasatinib. The results of clinical trials dasatinib therapy in chronic myelogenous leukemia imatinib-resistant or intolerant patients are presented. The dasatinib and imatinib comparative analysis in first-line therapy in newly diagnosed chronic myelogenous leukemia patients are demonstrated. The range and frequency of dasatinib therapy adverse events are analyzed. Toxicities management recommendations are listed. Perspectives of dasatinib therapy cessation in patients with long lasting deep molecular responses — treatment free chronic myelogenous leukemia remissions are described. Also, there is an information about dasatinib usage in treatment of Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia.

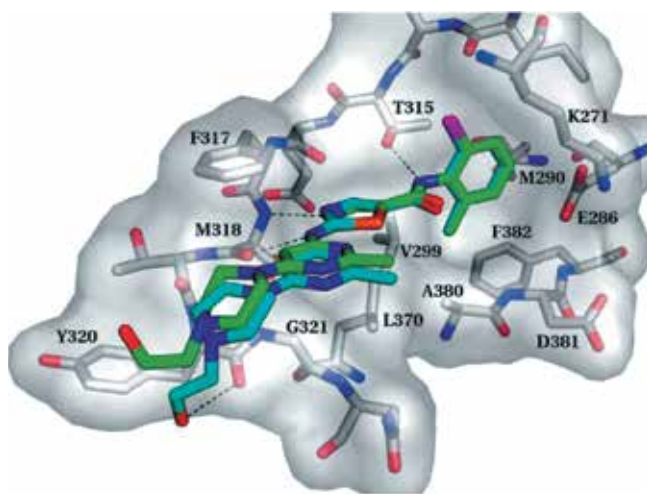
Key words: dasatinib, tyrosine kinase inhibitors, chronic myelogenous leukemia, Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia, BCR-ABL, treatment free remission

Введение

Дазатиниб, первоначально разработанный под кодом BMS-354825, является ингибитором тирозинкиназ (ИТК) 2-го поколения и первым представителем «двойных» ИТК, способных оказывать терапевтическое воздействие, связанное с одновременной блокадой 2 целевых киназ (BCR-ABL и SRC), имеющих патогенетическое значение в малигнизированной клетке (см. рисунок) [1, 2]. Данное качество позволяет дазатинибу иметь клиническую эффективность не только при хроническом миелолейкозе (ХМЛ), но и при других неоплазиях [3–5]. Необходимость создания данного препарата была обусловлена тем, что, несмотря на первоначальные ошеломляющие успехи иматиниба в лечении ХМЛ, при анализе 5-летнего опыта его использования оказалось, что около трети больных ХМЛ прекратили прием иматиниба по причине недостаточного эффекта или плохой переносимости [6]. Доля больных, ко-

торые не достигают полного цитогенетического ответа (ПЦО) в течение года терапии иматинибом (неудача терапии), составляет 34–35 %. В целом необходимость перехода с иматиниба на терапию ИТК 2-го поколения по жизненным показаниям имеется у 40–45 % пациентов с ХМЛ [7–9]. Развитие резистентности к иматинибу через 4,5 года терапии наблюдалось у 25 % больных с хронической фазой (ХФ), у 41 % с фазой акселерации (ФА) и у 92 % с бластными кризами (БК) ХМЛ [10]. Дазатиниб был разработан в результате сотрудничества между фирмами Bristol-Myers Squibb и Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd [11]. Препарат получил название в честь одного из его изобретателей-химиков — J. Das [12].

Одним из значительных преимуществ дазатиниба является более чем 300-кратная по сравнению с иматинибом активность против тирозинкиназы BCR-ABL и его способность в терапевтических концентрациях



Структура дазатиниба и его взаимодействие с аденозинтрифосфат-связывающим участком белка *BCR-ABL* с указанием местоположения точечных мутаций [1]

ингибировать рост клеток ХМЛ с 18 из 19 резистентных к иматинибу мутаций *BCR-ABL* [13, 14]. Сравнение ингибирующих концентраций различных ИТК (иматиниб, нилотиниб, дазатиниб, бозутиниб) при культивировании клеток ХМЛ с наиболее частыми точечными мутациями *BCR-ABL* приведено в табл. 1 [15].

Дазатиниб характеризуется высокой биодоступностью, после перорального применения и всасывания в кишечнике 96 % назначенной дозы препарата связывается с белками плазмы. Концентрация его в крови значимо не зависит от характера и объема пищи. Период полужизни в сыворотке крови составляет от 1,5 до 5 ч. Активным фармакологическим действием обладает непосредственно сам препарат, его метаболиты не оказывают существенного влияния. В связи с небольшой молекулярной массой дазатиниб успешно проникает в различные органы и среды организма, в том числе в центральную нервную систему, что отличает препарат от других ИТК. После метаболизма в печени изоферментом цитохромов CYP3A4 большая часть препарата выводится через желчные пути и кишечник (96 %), значительно меньше — с мочой (4 %) [3, 16]. Дазатиниб является единственным ИТК с однократным приемом независимо от приема пищи, что определяет его удобство для пациента и способствует повышению приверженности [3, 17].

Дазатиниб был первым из ИТК 2-го поколения одобрен в июне 2006 г. для лечения ХМЛ с резистентностью или непереносимостью иматиниба. Следует отметить, что Управление по контролю качества пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) США, с учетом результатов клинического исследования и потребности в данном препарате, провело его регистрацию в ускоренном порядке. Вскоре после этого дазатиниб был зарегистрирован в большинстве стран мира [18]; в России — в 2008 г. (регистрационное удостоверение ЛСР-000256/08) [3].

Таблица 1. Мутации *BCR-ABL* и их чувствительность к ИТК [15]

Мутация <i>BCR-ABL</i>	Относительная эффективность препаратов*			
	иматиниб	нилотиниб	дазатиниб	бозутиниб
«Дикий» тип	1	1	1	1
L248V	3,54	2,80	5,11	2,97
G250E	6,86	4,56	4,45	4,31
Q252H	1,39	2,64	3,05	0,81
Y253F	3,58	3,23	1,58	0,96
E255K	6,02	6,69	5,61	9,47
E255V	16,99	10,31	3,44	5,53
D276G	2,18	2,00	1,44	0,60
E279K	3,55	2,05	1,64	0,95
V299L	1,54	1,34	8,65	26,10
T315I	17,50	39,41	75,03	45,42
F317L	2,60	2,22	4,46	2,42
M351T	1,76	0,44	0,88	0,70
F359V	2,86	5,16	1,49	0,93
L384M	1,28	2,33	2,21	0,47
H396P	2,43	2,41	1,07	0,43
H396R	3,91	3,10	1,63	0,81
G398R	0,35	0,49	0,69	1,16
F486S	8,10	1,85	3,04	2,31

*Отношение ингибирующей концентрации ИТК в среде *in vitro*, подавляющей рост 50 % колоний с мутациями, по сравнению с влиянием на «дикий» тип *BCR-ABL*.

Чувствительные мутации

≤ 2,00

Умеренно-резистентные мутации

2,01–4,00

Резистентные мутации

4,01–10,00

Высокорезистентные мутации

> 10,00

С учетом 10-летнего периода использования дазатиниба и большого объема накопленной информации о результатах его использования в клинических исследованиях и гематологической практике определенный интерес представляет обобщение этих данных.

Целью исследования являлось проведение метаанализа данных опубликованных исследований использования дазатиниба.

Материалы и методы

Изучены результаты поиска в полнотекстовых базах данных международных научных медицинских источников. Критериями включения были: публикация в рецензируемых журналах, контролируемые исследования, соответствующие нормам надлежащей клинической

практики (Good Clinical Practice, GCP). Проведен анализ полученных данных с обобщением результатов.

Результаты

При оценке эффективности применения дазати-ниба было проанализировано 11 литературных источ-ников, приведенных в табл. 2. В первое клиническое исследование I фазы было включено 84 больных с ре-зистентностью к лечению иматинибом: 40 пациентов с ХФ ХМЛ, 11 — с ФА ХМЛ, 23 — с миелоидным БК ХМЛ и 10 — с лимфоидным БК ХМЛ или острым лим-фобластным лейкозом с филадельфийской хромосомой (Ph⁺ ОЛЛ). Лечение дазатинобом проводилось в дозах 15–180 мг/сут. Мутации были выявлены у 71 % боль-ных до начала терапии дазатинобом. Наиболее частыми побочными эффектами были нейтропения III–IV сте-

пени (45–89 %) и тромбоцитопения III–IV степени (35–80 %). Миелосупрессия требовала перерывов в лече-нии у 60 % больных и обычно разрешалась в течение первых 3 мес терапии, часто в связи с достижением цитогенетического ответа. Плевральные выпоты на-блюдалась у 13–35 % пациентов. Другими побочными эффектами были: диарея I–II степени (23 %), пери-ферические отеки (19 %), головная боль (10 %). Пере-крестной токсичности с иматинибом не наблюдалось. Уровень максимально переносимой дозы достигнут не был. Снижение дозы потребовалось у 25 % боль-ных, но ни один пациент не был исключен из иссле-дования в связи с непереносимостью дазатиноба. В ре-зультате лечения у больных в ХФ ХМЛ в 92 % случаев был достигнут полный гематологический ответ (ПГО), в 35 % — ПЦО. В ФА ХМЛ ПГО и ПЦО были получе-

Таблица 2. Клинические исследования дазатиноба

Авторы	Год публикации	Показания	Нозология, число больных, показания	Результаты
Talpaz M. и соавт. [19]	2006	I фаза, резистентность к иматинибу	40 больных в ХФ ХМЛ; 11 — в ФА ХМЛ; 23 — с миелоидным БК ХМЛ 10 — с лимфоидным БК ХМЛ и Ph ⁺ ОЛЛ	ПГО 92 %, ПЦО 35 %; ПГО 45 %, ПЦО 18 %; ПГО 35 %, ПЦО 26 %; ПГО 70 %, ПЦО 30 %
Mauro M.J. и соавт. [20]	2008	II фаза, резистентность/непе-реносимость иматиниба	387 больных в ХФ ХМЛ	ПГО 91 %, ПЦО 53 %, БМО 47 %
Kantarjian H. и соавт. [21]	2009	II фаза, резистентность/непе-реносимость иматиниба	ХФ ХМЛ: дазатиноб 140 мг/сут (<i>n</i> = 101); иматиниб 800 мг/сут (<i>n</i> = 49)	ПГО 93 %, ПЦО 44 %, БМО 29 %; ПГО 82 %, ПЦО 18 %, БМО 12 %
Guilhot F. и соавт. [22]	2007	II фаза, резистентность/непе-реносимость иматиниба	107 пациентов в ФА ХМЛ	ПГО 39 %, ПЦО 24 %
Cortes J. и со-авт. [23]	2007	II фаза, резистентность/непе-реносимость иматиниба	74 больных миелоидным БК ХМЛ; 42 — лимфоидным БК ХМЛ	ПГО 26 %, ПЦО 27 %; ПГО 29 %, ПЦО 43 %
Shah N. P. и соавт. [24]	2008	III фаза, резистентность/непереносимость иматиниба	ХФ ХМЛ: 100 мг 1 раз в сутки (<i>n</i> = 167); 50 мг 2 раза в сутки (<i>n</i> = 168); 140 мг 1 раз в сутки (<i>n</i> = 167); 70 мг 2 раза в сутки (<i>n</i> = 168)	ПГО 90 %, ПЦО 41 %; ПГО 92 %, ПЦО 42 %; ПГО 86 %, ПЦО 44 %; ПГО 87 %, ПЦО 45 %
Kantarjian H. и соавт. [27]	2009	III фаза, резистентность/непереносимость иматиниба	ХФ ХМЛ: 140 мг 1 раз в сутки (<i>n</i> = 158); 70 мг 2 раза в сутки (<i>n</i> = 159)	ПГО 47 %, ПЦО 32 %; ПГО 52 %, ПЦО 33 %
Lilly M. B. и соавт. [28]	2010	III фаза, резистентность/непереносимость иматиниба	ХФ ХМЛ: 140 мг 1 раз в сутки (<i>n</i> = 40); 70 мг 2 раза в сутки (<i>n</i> = 44)	ПГО 33 %, ПЦО 50 %; ПГО 25 %, ПЦО 39 %
Cortes J. E. и соавт. [30]	2010	II фаза, впервые выявленные больные ХМЛ	ХФ ХМЛ: 100 мг 1 раз в сутки (<i>n</i> = 77); 50 мг 2 раза в сутки (<i>n</i> = 30)	ПЦО 95 %, БМО 86 %; ОВ (5 лет) 95 %, ВБП (5 лет) 92 %
Pemmaraju N. и соавт. [29]	2014			
Cortes J. и соавт. [32]	2014	III фаза, впервые выявленные больные ХМЛ	ХФ ХМЛ: дазатиноб 100 мг/сут (<i>n</i> = 259); иматиниб 400 мг/сут (<i>n</i> = 260)	ПЦО 83 %, БМО 76 %, МО4,5 42 %, ОВ (5 лет) 91 %, ВБП (5 лет) 85 %; ПЦО 78 %, БМО 64 %, МО4,5 42 %, ОВ (5 лет) 90 %, ВБП (5 лет) 86 %

БМО — большой молекулярный ответ; МО4,5 — молекулярный ответ с экспрессией BCR-ABL 0,0032 % и менее; ОВ — общая выживаемость; ВБП — выживаемость без прогрессии.

ны у 45 и 18 % пациентов соответственно. При лечении больных с БК ХМЛ наблюдались следующие результаты: миелоидный вариант ПГО/ПЦО — 35/26 %; лимфоидный БК и Ph⁺ ОЛЛ — 70/30 % соответственно. Наиболее часто ответы наблюдались при уровне дозы 50 мг/сут и более. Частота ответов не различалась при назначении суточной дозы дазатиниба в 1 или 2 приема. Продолжительность ответов была гораздо больше у больных в ХФ и ФА (медиана ВБП не достигнута за 2 года наблюдения), в то время как у пациентов с БК ХМЛ и Ph⁺ ОЛЛ медиана сохранения продолжительности ответов составила только 4 мес [19].

После получения данных результатов были инициированы исследования II фазы, которые проводились отдельно на следующих группах пациентов: ХФ ХМЛ (START-C — 1 группа, START-R — рандомизированное сравнение дазатиниба и высоких доз (800 мг/сут) иматиниба), ФА ХМЛ (START-A), БК ХМЛ (START-B) и лимфоидный БК ХМЛ с включением также Ph⁺ ОЛЛ (START-L). С учетом предыдущих результатов доза дазатиниба, используемая в этих исследованиях, составляла 140 мг/сут (в 2 приема по 70 мг).

Результаты исследования START-C в группе 387 больных в ХФ ХМЛ показали, что дазатиниб за 2 года лечения позволяет достигать ПГО в 91 % случаев, ПЦО — в 53 % и БМО у 47 % пациентов при резистентности/непереносимости иматиниба. Частота ответов на терапию была выше при непереносимости иматиниба по сравнению с резистентностью, при этом частота сохранения цитогенетического ответа составила 88 % в течение 2 лет. Наиболее частыми побочными эффектами III–IV степени были: тромбоцитопения (49 %), нейтропения (50 %), плевральный выпот (9 %), одышка (6 %), кровотечение (4 %), диарея (3 %) и слабость (3 %). Перекрестная токсичность с иматинибом составила только 3 % [20].

В рандомизированном сравнительном исследовании лечения больных в ХФ ХМЛ (START-R) при резистентности или непереносимости иматиниба была показана значительно большая эффективность дазатиниба ($n = 101$) по сравнению с высокими (800 мг/сут) дозами иматиниба ($n = 49$). В группе дазатиниба были достигнуты следующие результаты: ПГО у 93 % больных, ПЦО — у 44 %, БМО — у 29 %, тогда как использование высоких доз иматиниба позволило получить ПГО только у 82 %, ПЦО — у 18 % и БМО — у 12 %. При этом частота сохранения цитогенетического ответа и ВБП были статистически значимо выше в группе дазатиниба. Наиболее частыми нежелательными явлениями III–IV степени были миелосупрессия, а также задержка жидкости (7 %), одышка (5 %), плевральные выпоты (5 %), инфекции (4 %), диарея (3 %) слабость (3 %), головная боль (2 %). Терапия дазатинибом была прервана вследствие непереносимости у сопоставимого числа пациентов в группе дазатиниба (23 %) и высоких доз иматиниба (20 %). Частое снижение дозы по причине токсичности у большинства

(70 %) больных, получающих дазатиниб, привело к тому, что медиана дозы дазатиниба в итоге составила 100 мг/сут [21].

Исследования дазатиниба в продвинутых стадиях ХМЛ также показали его эффективность, хотя и в меньшей степени, чем при ХФ ХМЛ. В исследовании START-A при лечении 107 больных в ФА ХМЛ у 39 % был достигнут ПГО, у 24 % — ПЦО. ОВ и ВБП при сроке наблюдения 10 мес составила 76 %. Несмотря на частые побочные эффекты III–IV степени токсичности: анемия (69 %), нейтропения (76 %), тромбоцитопения (82 %), диарея (6 %), желудочно-кишечное кровотечение (7 %), слабость (4 %), одышка (4 %), лихорадка (4 %), плевральные выпоты (3 %), только у 6 % пациентов дазатиниб был отменен по причине непереносимости терапии [22]. Применение дазатиниба у 74 больных с миелоидным и 42 пациентов с лимфоидным БК ХМЛ (исследования START-B и START-L) с предшествующей резистентностью/непереносимостью иматиниба показало, что даже в такой крайне неблагоприятной клинической группе дазатиниб позволяет добиваться результатов у части больных. При миелоидном БК ХМЛ у 27 % пациентов был достигнут ПЦО; при лимфоидном варианте БК результаты были еще лучше — ПЦО в 43 % случаев. Медиана ВБП составила 5 мес при миелоидном и 2,8 мес при лимфоидном БК ХМЛ. Лечение дазатинибом переносилось хорошо: терапия была прекращена по причине токсичности только у 11 % больных с миелоидным и 2 % — лимфоидным БК ХМЛ. Наиболее частыми побочными эффектами III–IV степени при миелоидном БК были: анемия (68 %), нейтропения (82 %), тромбоцитопения (84 %), плевральный выпот (14 %), диарея (8 %), желудочно-кишечное кровотечение (8 %), одышка (7 %); при лимфоидном БК: анемия (52 %), нейтропения (79 %), тромбоцитопения (88 %), плевральный выпот (2 %), нейтропеническая лихорадка (12 %), слабость (5 %), анорексия (5 %), сыпь (5 %) [23].

Одинаковая эффективность при однократном и двукратном приеме дазатиниба в исследовании I фазы [19] и наличие побочных эффектов, требующих снижения дозы до среднего уровня 100 мг/сут, в исследованиях II фазы [20, 21] вызвали необходимость проведения исследования, посвященного оптимизации дозы дазатиниба. В исследование CA180-034 было включено 670 больных в ХФ ХМЛ с резистентностью/непереносимостью иматиниба, разделенных практически поровну на 4 группы лечения дазатинибом: 100 мг 1 раз в сутки; 50 мг 2 раза в сутки; 140 мг 1 раз в сутки; 70 мг 2 раза в сутки. Уже первые результаты, полученные при медиане продолжительности терапии 8 мес, показали, что эффективность лечения значимо не различается между группами (ПГО 86–92 %; ПЦО 41–45 %). Частота же побочных эффектов статистически значимо оказалась наименьшей в группе лечения дазатинибом 100 мг 1 раз в сутки (30 %) и наи-

большей — при дозе 70 мг 2 раза в сутки (48 %), также достоверно различалась и частота развития плевральных выпотов: 7 и 16 % соответственно в вышеупомянутых группах. При этом частота перерывов терапии и снижения доз была также самой низкой в группе 100 мг 1 раз в сутки (27 и 22 %) и самой высокой в группе 70 мг 2 раза в сутки (35 и 32 %). Медиана средней суточной дозы составила: в группе 100 мг 1 раз в сутки — 100 мг; 50 мг 2 раза в сутки — 93 мг; 140 мг 1 раз в сутки — 126 мг; 70 мг 2 раза в сутки — 108 мг [24]. По результатам данного исследования рекомендованная доза дазатиниба для лечения ХФ ХМЛ была уточнена — доза 100 мг 1 раз в сутки была признана оптимальной с позиций эффективности и безопасности и внесена в инструкцию по применению препарата [25].

В 2014 г. на конгрессе Американского гематологического общества (American Society of Hematology, ASH) были представлены финальные 7-летние результаты данного исследования. На сегодняшний день это самое длительное наблюдение по эффективности и безопасности ИТК 2-го поколения. Поскольку лечение ХМЛ является долгосрочным, как правило — пожизненным, данные результаты представляют особый интерес.

Семилетние результаты, как и более ранние сообщения, показали схожую ОВ (65–73 %) и ВБП (38–44 %) во всех 4 группах. При этом более половины пациентов, первоначально рандомизированных на прием дазатиниба дважды в сутки, перешли на однократный прием препарата. В группе больных, получавших дазатиниб в дозе 100 мг однократно, через 7 лет терапии почти половина (46 %) достигли БМО. Также в исследовании было показано, что пациенты, у которых был достигнут ранний ответ ($BCR-ABL \leq 10\%$ на 3-м месяце лечения), имели лучшие показатели ОВ и бессобытийной выживаемости к 7-му году по сравнению с пациентами с $BCR-ABL > 10\%$.

В ходе длительного наблюдения было показано, что гематологические побочные эффекты развивались, как правило, в течение 24 мес от начала лечения. Кумулятивная частота негематологических нежелательных явлений была ниже в группе, получавшей дазатиниб в дозе 100 мг однократно, и составила: задержка жидкости (51 %), диарея (42 %), тошнота/рвота (27 %), миалгия/артралгия (38 %), слабость (37 %), сыпь (33 %). В течение 7-го года лечения новые случаи плевральных выпотов были отмечены у 5 % пациентов [26].

В ФА ХМЛ сравнение одно- и двукратного приема дазатиниба в течение суток также показало схожую эффективность при лучшей переносимости однократной дозировки. В исследовании, в котором 317 больных с ФА ХМЛ были разделены поровну на группы приема 140 мг дазатиниба однократно ($n = 158$) или 70 мг дважды в сутки ($n = 159$), за 15 мес лечения ПГО был достигнут в 47 и 52 %, а ПЦО — в 32 и 33 % случаев соответственно. Группы больных статистически значимо не различались по ОВ и ВБП. Побочные эффекты отличались достоверно меньшей частотой

задержки жидкости (34 и 48 %) и плевральных выпотов (20 и 39 %) при однократном приеме 140 мг дазатиниба по сравнению с двукратным приемом по 70 мг [27].

Сравнение эффективности и безопасности одно- и двукратного приема дазатиниба в суточной дозе 140 мг было проведено в исследовании III фазы также у 84 больных Ph^+ ОЛЛ. При анализе 2-летних результатов эффективность однократного приема дазатиниба оказалась выше (ПГО 33 % и ПЦО 50 %) по сравнению с той же дозой, но разделенной на 2 приема (ПГО 25 % и ПЦО 39 %). При этом ОВ (6,5 и 9,1 мес) и ВБП (4,0 и 3,0 мес) статистически значимо не различались между группами. Частота побочных эффектов была схожей, за исключением частоты развития плеврального выпота (18 % при однократном приеме препарата по сравнению с 32 % при двукратном) [28].

Успехи использования дазатиниба в лечении ХМЛ и Ph^+ ОЛЛ побудили исследователей проверить гипотезу о более высокой эффективности дазатиниба у впервые выявленных больных по сравнению с иматинибом.

Первое исследование II фазы применения дазатиниба у впервые выявленных больных ХМЛ включало 155 пациентов, рандомизированных в группы лечения дазатинибом 100 мг/сут в виде однократного или двукратного приема препарата в сутки. При анализе 105 больных с медианой срока наблюдения 62,9 мес частота достижения ПЦО и БМО составила 100 и 90 % соответственно, а 56 % пациентов достигли ПМО. Существенным отличием применения дазатиниба у первичных больных ХМЛ оказалась его более высокая переносимость (меньшая частота токсичности III–IV степени), в первую очередь в виде меньшей миелосупрессии: анемии (2 %), нейтропении (13 %), тромбоцитопении (3 %), при этом кровотечений III–IV степени зарегистрировано не было. Общая частота плевральных выпотов составила 13 %, а у пациентов, получавших дазатиниб однократно, — всего 3 %. Пятилетняя ОВ составила 95 %, а ВБП — 92 % [29, 30].

Прямое сравнение эффективности и безопасности дазатиниба и иматиниба в 1-й линии терапии ХМЛ было проведено в рамках многоцентрового рандомизированного клинического исследования III фазы DASISION (CA180-056). В исследование было включено 519 больных ХМЛ, лечение которых проводилось дазатинибом в дозе 100 мг/сут ($n = 259$) или иматинибом 400 мг/сут ($n = 260$). Дазатиниб доказал свое преимущество уже через год наблюдения: частота достижения ПЦО составила 77 % в группе дазатиниба и 66 % в группе иматиниба ($p = 0,007$) [31]. Исследование продолжалось в течение 5 лет. Отдаленные его результаты также демонстрируют преимущество дазатиниба: частота достижения ПЦО через 5 лет составила в группе дазатиниба 83 %, а в группе иматиниба — 78 %, частота достижения БМО — 76 и 64 % соответственно, МО4,5 — 42 и 33 % соответственно. Медиана времени лечения, необходимого для достижения ПЦО, составила в группе дазатиниба 3,2 мес,

Таблица 3. Побочные эффекты терапии дазатиным в клинических исследованиях III фазы

Нежелательное явление	CA180-034, 6 лет, все степени, % [35]	CA180-034, 6 лет, III–IV степени, % [35]	CA180-056, 3 года, все степени, % [9]	CA180-056, 3 года, III–IV степени, % [9]
Все побочные эффекты	98,5	69,0	Н/д	Н/д
Анемия	Н/д	12,7	Н/д	12,0
Нейтропения	Н/д	36,4	Н/д	24,0
Тромбоцитопения	Н/д	23,6	Н/д	19,0
Абдоминальные боли	24,2	2,7	Н/д	Н/д
Артралгии	25,8	2,4	Н/д	Н/д
Диарея	45,2	5,3	21,0	< 1,0
Одышка	33,1	6,5	Н/д	Н/д
Слабость	34,5	3,2	9,0	< 1,0
Кровотечение	26,6	3,5	Н/д	Н/д
Головная боль	44,3	2,4	13,0	Н/д
Инфекции	46,7	6,1	5,0	Н/д
Боли в опорно-двигательном аппарате	48,5	3,0	5,8	Н/д
Миалгии	17,0	Н/д	10,1	Н/д
Тошнота	22,4	0,6	10,0	Н/д
Плевральный выпот	25,3	5,3	19,0	2,0
Кожная сыпь	32,8	2,4	13,0	Н/д
Периферические отеки	25,5	0,6	13,0	Н/д

Примечание. Н/д — данные не приведены.

иматиниба — 6,0 мес; для достижения БМО — 15 и 36 мес соответственно. Ранний молекулярный ответ к 3-му месяцу лечения ($BCR-ABL \leq 10\%$) также чаще достигался в группе дазатиноба (84 %), чем иматиниба (64 %). Частота прогрессирования в продвинутое фазы (ФА и БК) ХМЛ при лечении дазатиным была меньшей (4,6 %), чем при лечении иматинибом (7,2 %).

Частота побочных эффектов в целом была меньшей в группе дазатиноба, за исключением тромбоцитопении (при одинаковой частоте кровотечений в группах) и плеврального выпота. Частота развития плеврального выпота составила 29 % за 5 лет, с приблизительно равной вероятностью развития в течение всего срока (медиана развития первого эпизода — 114 нед), однако только у 5 % его выраженность соответствовала III–IV степени. Причиной отмены терапии дазатиным плевральный выпот явился у 6 % больных. Пятилетняя ОВ (91 % для дазатиноба и 90 % для иматиниба) и 5-летняя ВВП (85 % для дазатиноба и 86 % для иматиниба) были сходными [32, 33]. Данные результаты позволили исследователям заключить, что применение дазатиноба в 1-й линии обеспечивает достижение более быстрых и глубоких ответов, чем при назначении иматиниба [27]. Похожие результаты были полу-

чены и в других сравнительных исследованиях дазатиноба и иматиниба в 1-й линии терапии ХМЛ [34].

Нежелательные явления. Существующие стандарты терапии ХМЛ и Ph^+ ОЛЛ предполагают длительный прием ИТК. В этих условиях побочные эффекты даже небольшой степени выраженности при длительном наличии могут существенно влиять на качество жизни больных и снижать их приверженность к лечению (комплаентность), а также влиять на ОВ. Перечень хорошо известных побочных эффектов терапии дазатиным, выявленных еще в исследованиях I–II фазы, соответствует результатам исследований III фазы и включает: миелосупрессию (анемию, нейтропению, тромбоцитопению), задержку жидкости, гастроэнтерологические симптомы, слабость, головную боль, миалгии и артралгии, сыпь, инфекции [9, 19–23, 28, 32, 35]. Коррекция их не вызывает значительных затруднений при следовании стандартным рекомендациям [7]. Геморрагический синдром на фоне терапии дазатиным может быть обусловлен как тромбоцитопенией, так и антиагрегантным действием дазатиноба, ингибирующего связывание коллагена рецепторами $Fc\gamma RIIa$ [36–38].

Поскольку пациенты с ХМЛ — это лица 40–50 лет и старше, которые помимо ХМЛ могут страдать и дру-

гими заболеваниями, интерес представляет анализ тех нежелательных явлений, которые могут быть перекрестными или усугублять уже имеющуюся сопутствующую патологию.

По результатам анализа базы данных пациентов с ХМЛ в США наиболее частыми сопутствующими патологиями являются сердечно-сосудистые заболевания (22,8 %), сахарный диабет (17,8 %), заболевания легких (12,7 %) [39]. В связи с этим представляют интерес возможные нежелательные явления со стороны данных органов и систем, так как прием ИТК может усугубить течение сопутствующей патологии.

Особенным нежелательным явлением, связанным с механизмом действия дазатиниба, являются плевральные выпоты. Генез плевральных выпотов, по мнению большинства исследователей, до конца не ясен и может быть связан с ингибированием активности тирозинкиназ PDGFR α и PDGFR β [40]. Частота сообщений о плевральных выпотах варьирует в различных исследованиях. В ходе долгосрочных наблюдений (5–7 лет терапии в рамках клинических исследований) примерно у трети пациентов в ХФ отмечаются плевральные выпоты, однако III–IV степень их выраженности регистрируется не более чем у 5 % [19, 32]. Факторами риска развития плевральных выпотов являются: возраст старше 45 лет, лимфоцитоз и повышение уровня CD56⁺-лимфоцитов периферической крови, повышенная (140 мг/сут) доза дазатиниба, двукратный по сравнению с однократным прием дазатиниба в сутки, неконтролируемая гипертензия, заболевания сердца и аутоиммунные заболевания. С другой стороны, у пациентов, перенесших плевральный выпот на терапии дазатинибом, наблюдались более высокие частота и скорость достижения цитогенетических и молекулярных ответов [24, 25, 28, 33, 39, 41, 42]. При правильном подходе к своевременной диагностике и коррекции плевральных выпотов с адекватной коррекцией дозы дазатиниба постоянная отмена препарата необходима не более чем у четверти пациентов с этим осложнением [32]. Важной является своевременная диагностика плеврального выпота на ранней стадии и минимальной степени выраженности, для чего больные, получающие дазатиниб, должны быть проинструктированы о необходимости обращения к врачу при возникновении одышки, кашля, слабости, в особенности без связи с симптомами инфекции. Гематологи же должны иметь настороженность в отношении этого осложнения и проводить физикальное и рентгенологическое исследования органов дыхания при малейших подозрениях. Тактика коррекции плеврального выпота при его выявлении следующая:

- проведение дифференциальной диагностики с другими причинами гидроторакса и гидроперикарда (заболевания сердца, легких, опухоли, травмы, инфекционные заболевания);
- при выраженности I–II степени, без значимой дыхательной недостаточности возможно ограни-

читься отменой препарата с контрольным рентгенологическим исследованием каждые 2 нед с последующим возобновлением терапии в той же и сниженной на один уровень дозе дазатиниба;

- при наличии признаков дыхательной недостаточности и/или III–IV степени плеврального выпота кроме отмены дазатиниба целесообразно пероральное назначение диуретиков и стероидов (например, 10–20 мг преднизолона и 10 мг торасемида) с последующим контролем выраженности выпота каждую неделю или чаще; торакоцентез необходимо выполнять при необходимости дифференциальной диагностики или по неотложным показаниям при выраженной степени дыхательной недостаточности; после разрешения нежелательного явления дозу дазатиниба целесообразно снизить на один уровень;
- при возникновении повторных эпизодов плеврального выпота необходимо взвесить возможность продолжения терапии дазатинибом в редуцированной дозе (50 мг/сут или менее), в том числе с учетом достигнутого ранее ответа на лечение и индивидуальных биологических особенностей заболевания (мутационный статус) и пациента (коморбидность) [7, 28].

Поскольку сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет являются самыми распространенными сопутствующими заболеваниями у пациентов с ХМЛ и могут усугубляться в ходе терапии ИТК, они требуют особого внимания со стороны гематологов. Так, в сравнении с общей популяцией и лечением иматинибом при терапии нилотинибом была отмечена более высокая частота артериальных тромбозов (инфаркт миокарда, инсульты, окклюзия периферических артерий). Возможными механизмами развития тромботических осложнений при назначении нилотиниба могут быть его проатерогенное и антиангиогенное действие на эндотелиальные клетки, а также развитие вазоспазма [43].

По результатам метаанализа, в который была включена информация о 15 706 больных ХМЛ, получавших ИТК, были сделаны выводы, приведенные в табл. 4 [44].

Таблица 4. Частота развития артериальных тромбозов у больных ХМЛ при терапии ИТК на 100 пациентов в год [44]

Вид патологии	Без терапии ИТК	Иматиниб	Нилотиниб	Дазатиниб	Бозутиниб
Общая частота	0,8	0,1	2,8	1,1	0,4
Окклюзия периферических артерий	0,8	0,1	1,3	0,2	0,1
Ишемическая болезнь сердца	Н/д	0,1	1,4	0,6	0,3
Цереброваскулярная болезнь	Н/д	< 0,1	0,3	0,7	0,1

Примечание. Н/д — данные не приведены.

При прямом сравнении нилотиниба и иматиниба относительный риск возникновения артериальных тромбозов составлял 5,3; окклюзии периферических артерий — 5,5.

Гиперхолестеринемия и тромботические явления не характерны для дазатиниба; уникальное нежелательное явление для него — развитие легочной артериальной гипертензии (ЛАГ) [45–48]. ЛАГ — редкое, но серьезное осложнение терапии дазатинибом. Большинство сообщений о ее возникновении являются описанием единичных клинических случаев; наибольшая выборка, описанная в рамках одного наблюдения, составляет 9 пациентов. Возможная частота развития ЛАГ при лечении дазатинибом составляет 0,45 %. При ее возникновении рекомендуется отменить терапию дазатинибом и решить вопрос о назначении лекарственной терапии, снижающей давление в легочной артерии (блокаторы кальциевых каналов, антагонисты рецепторов эндотелия), с его периодическим мониторингом. Для подтверждения диагноза ЛАГ также необходимо проведение катетеризации правых отделов сердца [49]. После отмены дазатиниба при ЛАГ, выявленной на фоне его применения, гемодинамические и клинические параметры восстановились у большей части пациентов, однако оставшимся больным требовался постоянный прием антигипертензивной терапии [47, 50–52].

При приеме дазатиниба не было отмечено индукции гипергликемии и гиперинсулинемии, как при приеме нилотиниба. Поэтому препарат может беспрепятственно назначаться пациентам данной категории [53–55].

Перспективой дальнейшего прогресса в лечении ХМЛ являются проводимые в течение последних 10 лет исследования по отмене терапии в случае длительного глубокого молекулярного ответа — ведению фазы ремиссии без лечения. Первые результаты такого рода исследований показали, что при лечении иматинибом больные при наличии глубокого молекулярного ответа могут сохранять его в 33–68 % случаев после прекращения приема иматиниба [56, 57]. Исследования по ведению фазы ремиссии без лечения у больных, получающих ИТК 2-го поколения, также показали вероятность успешной длительной отмены терапии и сохранения ответа (МО4,0 — БМО) у 57–85 % больных, хотя в случае наличия в анамнезе резистентности или непереносимости иматиниба вероятность успешной отмены была ниже (41,7 %) [58]. Возможность успешной отмены в группе больных ХМЛ, получавших дазатиниб в рамках 2-й линии при предшествующей резистентности/непе-

реносимости иматиниба, была изучена в исследовании DADI. Из 66 пациентов 30 (49 %) сохраняли молекулярный ответ без возобновления терапии при сроке наблюдения более года [59]. В настоящий момент проводится ряд исследований по ремиссии вне терапии у пациентов, получавших дазатиниб.

Основными критериями включения больных ХМЛ в исследования по ведению фазы ремиссии без лечения являются: наличие стойкого МО4,0 или МО4,5 длительностью не менее 1–2 лет. Использование дазатиниба в рамках 1-й линии терапии ХМЛ с последующей отменой лечения при наличии глубокого молекулярного ответа имеет определенные преимущества перед иматинибом, так как дазатиниб в 1-й линии позволяет более быстро и часто получать глубокие молекулярные ответы [32]. В случае применения ИТК 2-го поколения у впервые выявленных больных ХМЛ доля пациентов, успешно перешедших в фазу ремиссии без лечения, может быть в 2 раза большей по сравнению с использованием иматиниба, что при определенных условиях может компенсировать разницу в их стоимости [60, 61]. Следует отметить, что на сегодняшний день отмена терапии пациентам с ХМЛ рассматривается только в рамках клинических исследований и не может использоваться в рутинной практике гематологов.

Заключение

ИТК 2-го поколения дазатиниб показал высокую эффективность в доклинических и клинических исследованиях. Имеются убедительные доказательства высокой эффективности дазатиниба в случае предшествующей резистентности и/или непереносимости иматиниба у больных ХМЛ и Ph⁺ ОЛЛ. Применение дазатиниба у впервые выявленных больных ХМЛ показало его преимущество перед иматинибом в скорости и частоте достижения цитогенетических и молекулярных ответов. Безопасность препарата хорошо изучена в долгосрочных наблюдениях как в 1-й, так и во 2-й линиях терапии. Нежелательные явления управляемы, и в большинстве случаев их коррекция не вызывает затруднений у гематологов. С учетом фармакокинетики препарат характеризуется удобным приемом, что способствует приверженности пациентов. Перспективами дальнейшего расширения использования дазатиниба в условиях российской клинической практики является его внедрение в 1-ю линию терапии ХМЛ и изучение возможности отмены терапии — ведения фазы ремиссии без лечения у больных со стойким длительным глубоким молекулярным ответом.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tokarski J.S., Newitt J.A., Chang C.Y. et al. The structure of dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase

domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL mutants. Cancer Res 2006;66(11):5790–7.

2. Lombardo L.J., Lee F.Y., Chen P. et al. Discovery of N-(2-chloro-6-methylphenyl)-2-(6-(4-(2-hydroxyethyl)-

- piperazin-1-yl)-2-methylpyrimidin-4-ylamino)thiazole-5-carboxamide (BMS-354825), a dual Src/Abl kinase inhibitor with potent antitumor activity in preclinical assays. *J Med Chem* 2004;47(27):6658–61.
3. Спрайсел® (Sprycel®). Инструкция по применению, противопоказания, состав и цена. Справочник лекарств РЛС (Электронный ресурс). URL: www.rlsnet.ru/tn_index_id_38851.htm#pokazaniya-preparata-sprajsel® (дата обращения 01.01.2016). [Sprycel® (Sprycel®). Instructions for use, contraindications, composition and price. Medication guide RLS (Electronic source). URL: http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_38851.htm#pokazaniya-preparata-sprajsel® (Access date 01.01.2016). (In Russ.)].
4. Verstovsek S., Tefferi A., Cortes J. et al. Phase II study of dasatinib in Philadelphia chromosome-negative acute and chronic myeloid diseases, including systemic mastocytosis. *Clin Cancer Res* 2008;14(12):3906–15.
5. Hahn N.M., Knudsen B.S., Daneshmand S. et al. Neoadjuvant dasatinib for muscle-invasive bladder cancer with tissue analysis of biologic activity. *Urol Oncol* 2016;34(1):4. e11–7.
6. Druker B.J., Guilhot F., O'Brien S.G. et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *New Engl J Med* 2006;355(23):2408–17.
7. Абдулкадыров К.М., Абдуллаев А.О., Авдеева Л.Б. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и терапии хронического миелолейкоза. Вестник гематологии 2013;9(3):4–40. [Abdulkadyrov K.M., Abdullaev A.O., Avdeeva L.B. et al. Federal clinical guidelines for chronic myelogenous leukemia diagnosis and treatment. *Vestnik gematologii = Bulletin of Hematology* 2013;9(3):4–40. (In Russ.)].
8. Saglio G., Kim D.W., Issaragrisil S. et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *New Engl J Med* 2010;362(24):2251–9.
9. Jabbour E., Kantarjian H.M., Saglio G. et al. Early response with dasatinib or imatinib in chronic myeloid leukemia: 3-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood* 2013;123(4):494–500.
10. Lahaye T., Riehm B., Berger U. et al. Response and resistance in 300 patients with BCR-ABL-positive leukemias treated with imatinib in a single center. *Cancer* 2005;103(8):1659–69.
11. Bristol-Myers Squibb Announces Extension of U.S. Agreement for ABILIFY® and Establishment of an Oncology Collaboration with Otsuka. Bristol-Myers Squibb 2009 06.04.2009 (Electronic source). URL: <http://news.bms.com/press-release/financial-news/bristol-myers-squibb-announces-extension-us-agreement-abilify-and-estab> (Access date 01.01.2016).
12. Das J., Chen P., Norris D. et al. 2-aminothiazole as a novel kinase inhibitor template. Structure-activity relationship studies toward the discovery of N-(2-chloro-6-methylphenyl)-2-[[6-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-2-methyl-4-pyrimidinyl] amino]-1,3-thiazole-5-carboxamide (dasatinib, BMS-354825) as a potent pan-Src kinase inhibitor. *J Med Chem* 2006;49(23):6819–32.
13. Shah N.P., Tran C., Lee F.Y. et al. Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. *Science* 2004;305(5682):399–401.
14. O'Hare T., Walters D.K., Stoffregen E.P. et al. In vitro activity of Bcr-Abl inhibitors AMN107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. *Cancer Res* 2005;65(11):4500–5.
15. Redaelli S., Piazza R., Rostagno R. et al. Activity of bosutinib, dasatinib, and nilotinib against 18 imatinib-resistant BCR/ABL mutants. *J Clin Oncol* 2009;27(3):469–71.
16. Sprycel (dasatinib) tablets prescribing information and patient information. Bristol Mayers-Squibb Company. Princeton, NJ, 2011.
17. Trivedi D., Landsman-Blumberg P., Darkow T. et al. Adherence and persistence among chronic myeloid leukemia patients during second-line tyrosine kinase inhibitor treatment. *J Manag Care Spec Pharm* 2014;20(10):1006–15.
18. FDA approves additional medical indication for Sprycel. Patients with rare type of leukemia now have another treatment option FDA news release 2010 (Electronic source). URL: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm231409.htm> (Access date 01.01.2016).
19. Talpaz M., Shah N.P., Kantarjian H. et al. Dasatinib in imatinib-resistant Philadelphia chromosome-positive leukemias. *New Engl J Med* 2006;354(24):2531–41.
20. Baccarani M., Mauro M.J., Cervantes F. et al. Dasatinib 2-year efficacy in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia (CML-CP) with resistance or intolerance to imatinib (START-C). *J Clin Oncol* 2008;26(15S): 1.
21. Kantarjian H., Pasquini R., Lévy V. et al. Dasatinib or high-dose imatinib for chronic-phase chronic myeloid leukemia resistant to imatinib at a dose of 400 to 600 milligrams daily. *Cancer* 2009;115(18):4136–47.
22. Guilhot F., Apperley J., Kim D.W. et al. Dasatinib induces significant hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in accelerated phase. *Blood* 2007;109(10):4143–50.
23. Cortes J., Rousselot P., Kim D.W. et al. Dasatinib induces complete hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in blast crisis. *Blood* 2007;109(8):3207–13.
24. Shah N.P., Kantarjian H.M., Kim D.W. et al. Intermittent target inhibition with dasatinib 100 mg once daily preserves efficacy and improves tolerability in imatinib-resistant and -intolerant chronic-phase chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2008;26(19):3204–12.
25. Porkka K., Khoury H.J., Paquette R.L. et al. Dasatinib 100 mg once daily minimizes the occurrence of pleural effusion in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase and efficacy is unaffected in patients who develop pleural effusion. *Cancer* 2010;116(2):377–86.
26. Kantarjian H., Shah N.P., Kim D.W. et al. Six-year (yr) follow-up of patients (pts) with imatinib-resistant or -intolerant chronic-phase chronic myeloid leukemia (CML-CP) receiving dasatinib. *J Clin Oncol* 2012;30(suppl):abstr 6506.
27. Kantarjian H., Cortes J., Kim D.W. et al. Phase 3 study of dasatinib 140 mg once daily versus 70 mg twice daily in patients with chronic myeloid leukemia in accelerated phase resistant or intolerant to imatinib: 15-month median follow-up. *Blood* 2009;113(25):6322–9.
28. Lilly M.B., Ottmann O.G., Shah N.P. et al. Dasatinib 140 mg once daily versus 70 mg twice daily in patients with Ph-positive acute lymphoblastic leukemia who failed imatinib: Results from a phase 3 study. *Am J Hematol* 2010;85(3):164–70.
29. Pemmaraju N., O'Brien S., Borthakur G. et al. Results of a phase II trial of dasatinib as frontline therapy for chronic myeloid leukemia (CML) in chronic phase (CP). *Blood* 2014;121(21):abstr 4565.
30. Cortes J.E., Jones D., O'Brien S. et al. Results of dasatinib therapy in patients with early chronic-phase chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2010;28(3):398–404.
31. Kantarjian H., Shah N.P., Hochhaus A. et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *New Engl J Med* 2010;362(24):2260–70.
32. Cortes J., Saglio G., Baccarani M. et al. Final Study results of the phase 3 dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) trial (DASISION, CA180-056). *Blood* 2014;124(21):152.
33. Kantarjian H.M., Shah N.P., Cortes J.E. et al. Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood* 2012;119(5):1123–9.
34. Radich J.P., Kopecky K.J., Appelbaum F.R. et al. A randomized trial of dasatinib 100 mg versus imatinib 400 mg in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *Blood* 2012;120(19):3898–905.
35. Shah N.P., Guilhot F., Cortes J.E. et al. Long-term outcome with dasatinib after imatinib failure in chronic-phase chronic

- myeloid leukemia: follow-up of a phase 3 study. *Blood* 2014;123(15):2317–24.
36. Quintás-Cardama A., Han X., Kantarjian H. et al. Tyrosine kinase inhibitor-induced platelet dysfunction in patients with chronic myeloid leukemia. *Blood* 2009;114(2):261–3.
37. Gratacap M.P., Martin V., Valéra M.C. et al. The new tyrosine-kinase inhibitor and anticancer drug dasatinib reversibly affects platelet activation *in vitro* and *in vivo*. *Blood* 2009;114(9):1884–92.
38. Quintás-Cardama A., Kantarjian H., Ravandi F. et al. Bleeding diathesis in patients with chronic myelogenous leukemia receiving dasatinib therapy. *Cancer* 2009;115(11):2482–90.
39. Jabbour E., Makenbaeva D., Lingohr-Smith M. et al. Evaluation of comorbidities relevant to tyrosine kinase inhibitor treatment among patients with chronic myelogenous leukemia in the U. S. managed care setting. *Blood* 2014;124(21):4550.
40. Brixey A.G., Light R.W. Pleural effusions due to dasatinib. *Curr Opin Pulm Med* 2010;16(4):351–6.
41. Iriyama N., Fujisawa S., Hagihara M. et al. The incidence of pleural effusion on dasatinib treatment is associated with CD56 positive cell values one month after commencing dasatinib and achievement of an early molecular response in newly diagnosed chronic myeloid leukemia patients. *Blood* 2014;124(21):3142.
42. Quintás-Cardama A., Kantarjian H., O'Brien S. et al. Pleural effusion in patients with chronic myelogenous leukemia treated with dasatinib after imatinib failure. *J Clin Oncol* 2007;25(25):3908–14.
43. Valent P., Hadzijusufovic E., Scherthaner G.H. et al. Vascular safety issues in CML patients treated with BCR/ABL1 kinase inhibitors. *Blood* 2014;125(6):901–6.
44. Chai-Adisaksopha C., Lam W., Hillis C. Major arterial events in patients with chronic myeloid leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors: a meta-analysis. *Leuk Lymphoma* 2015;1–11. [Epub ahead of print].
45. Nicolini F.E., Turkina A., Shen Z.X. et al. Expanding Nilotinib Access in Clinical Trials (ENACT): an open-label, multicenter study of oral nilotinib in adult patients with imatinib-resistant or imatinib-intolerant Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia in the chronic phase. *Cancer* 2012;118(1):118–26.
46. Larson R.A., Kim D.W., Issaragrisil S. et al. Efficacy and safety of nilotinib (NIL) vs imatinib (IM) in patients (pts) with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): long-term follow-up (f/u) of ENESTnd. *Blood* 2014;124(21):4541.
47. Hochhaus A., Kantarjian H. The development of dasatinib as a treatment for chronic myeloid leukemia (CML): from initial studies to application in newly diagnosed patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013;139(12):1971–84.
48. Cortes J.E., Kim D.W., Pinilla-Ibarz J. et al. A phase 2 trial of ponatinib in Philadelphia chromosome-positive leukemias. *New Engl J Med* 2013;369(19):1783–96.
49. McLaughlin V.V., Archer S.L., Badesch D.B. et al. ACCF/AHA 2009 Expert Consensus Document on Pulmonary Hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;53(17):1573–619.
50. Montani D., Bergot E., Günther S. et al. Pulmonary arterial hypertension in patients treated by dasatinib. *Circulation* 2012;125(17):2128–37.
51. Sano M., Saotome M., Urushida T. et al. Pulmonary arterial hypertension caused by treatment with dasatinib for chronic myeloid leukemia – critical alert. *Intern Med* 2012;51(17):2337–40.
52. Rasheed W., Flaim B., Seymour J.F. Reversible severe pulmonary hypertension secondary to dasatinib in a patient with chronic myeloid leukemia. *Leuk Res* 2009;33(6):861–4.
53. Zdenek R., Belohlavkova P., Cetkovsky P. Comparison of glucose and lipid metabolism abnormality during nilotinib, imatinib and dasatinib therapy – results of Enigma 2 study. *Blood* 2014;124(21):1813.
54. Agostino N.M., Chinchilli V.M., Lynch C.J. et al. Effect of the tyrosine kinase inhibitors (sunitinib, sorafenib, dasatinib, and imatinib) on blood glucose levels in diabetic and nondiabetic patients in general clinical practice. *J Oncol Pharm Pract* 2011;17(3):197–202.
55. Breccia M., Muscaritoli M., Cannella L. et al. Fasting glucose improvement under dasatinib treatment in an accelerated phase chronic myeloid leukemia patient unresponsive to imatinib and nilotinib. *Leuk Res* 2008;32(10):1626–8.
56. Mahon F.X., Rea D., Guilhot J. et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol* 2010;11(11):1029–35.
57. Ross D.M., Branford S., Seymour J.F. et al. Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: results from the TWISTER study. *Blood* 2013;122(4):515–22.
58. Rea D., Nicolini F.E., Tulliez M. et al. Dasatinib or nilotinib discontinuation in chronic phase (CP) chronic myeloid leukemia (CML) patients (pts) with durably undetectable BCR-ABL transcripts: interim analysis of the STOP 2G-TKI study with a minimum follow-up of 12 months – on behalf of the French CML Group Filmc. *Blood* 2014;124(21):811.
59. Imagawa J., Tanaka H., Okada M. et al. Discontinuation of dasatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained deep molecular response for longer than 1 year (DADI trial): a multicentre phase 2 trial. *Lancet Haematol* 2015;2(12):e528–35.
60. Шуваев В.А., Абдулкадыров К.М., Мартынкевич И.С. и др. Фармакоэкономическое моделирование таргетной терапии у больных хроническим миелолейкозом в ремиссии. *Онкогематология* 2014;(3):16–24. [Shuvaev V.A., Abdulkadyrov K.M., Martynkevich I.S. et al. Pharmacoeconomic modeling of target therapy of chronic myeloid leukemia in remission. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2014;(3):6–14. (In Russ.)].
61. Шуваев В.А., Абдулкадыров К.М., Мартынкевич И.С. и др. Выбор терапии первой линии хронического миелолейкоза: моделирование клинико-экономических факторов. *Клиническая онкогематология* 2015;8(1):78–83. [Shuvaev V.A., Abdulkadyrov K.M., Martynkevich I.S. et al. Choice of first line treatment of chronic myelogenous leukemia: modeling of clinical and economic factors. *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology* 2015;8(1):78–83 (In Russ.)].

Мутации в генах *BRAF* и *MAP2K1* при волосатоклеточном лейкозе и селезеночной В-клеточной лимфоме из клеток маргинальной зоны

И.А. Якутик, Л.С. Аль-Ради, У.Л. Джулакян, Б.В. Бидерман, А.Б. Судариков

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

Контакты: Игорь Александрович Якутик igorya90@list.ru

Исследованы образцы ДНК пациентов с волосатоклеточным лейкозом (ВКЛ) и селезеночной В-клеточной лимфомой из клеток маргинальной зоны (СЛКМЗ) для выявления активирующих мутаций в генах *BRAF* и *MAP2K1*. Мутация *BRAF V600E* обнаружена у 39 (98 %) из 40 больных ВКЛ и ни у одного пациента с СЛКМЗ. Ни у одного пациента, вошедшего в данное исследование, не выявлены какие-либо другие, отличные от *V600E*, активирующие мутации в экзонах 11 и 15 гена *BRAF*. Мутация *MAP2K1 Q56P* выявлена у 1 (2 %) из 40 пациентов с ВКЛ, характеризующегося экспрессией *IGHV4-34*. Ни у одного больного СЛКМЗ не обнаружены активирующие мутации в экзонах 2, 3 или 11 гена *MAP2K1*, в том числе и среди тех, у кого выявлена экспрессия *IGHV4-34*.

Ключевые слова: селезеночная В-клеточная лимфома, волосатоклеточный лейкоз, ген *BRAF*, ген *MAP2K1*, мутации

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-34-36

BRAF and *MAP2K1* mutations in hairy cell leukemia and splenic marginal zone B-cell lymphoma

I.A. Yakutik, L.S. Al'-Radi, H.L. Julhakyan, B.V. Biderman, A.B. Sudarikov

National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow, 125167, Russia

DNA samples from patients with hairy cell leukemia (HCL) and splenic marginal zone B-cell lymphoma (MZBCL) for *BRAF* and *MAP2K1* activating mutations were analyzed. *V600E* mutation of *BRAF* was detected in 39 (98 %) of 40 patients with hairy cell leukemia, and no patient with MZBCL. In none of the patients in this study any other activating mutations than *V600E* in exons 11 and 15 of *BRAF* gene were revealed. *MAP2K1 Q56P* mutation characterized by *IGHV4-34* expression was detected in 1 (2 %) of 40 patients with HCL. In none of the patients with MZBCL activating mutations in the 2, 3 or 11 exons of *MAP2K1* gene have been identified, including those with *IGHV4-34* expression.

Key words: splenic B-cell lymphoma, hairy cell leukemia, *BRAF* gene, *MAP2K1* gene mutations

Введение

Волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ) — хроническое В-клеточное лимфопролиферативное заболевание (ЛПЗ), обладающее рядом характерных клинико-патологических, иммунофенотипических и молекулярно-биологических черт, позволяющих отличить его от прочих В-клеточных ЛПЗ. Ранее с помощью полноэкзомного секвенирования было продемонстрировано, что мутация в гене *BRAF*, приводящая к аминокислотной замене *V600E*, выявляется у 100 % больных ВКЛ [1], а также была показана конститутивная активация *RAF*-*MEK*-*ERK*-каскада [2, 3]. Вместе эти находки проливают свет на молекулярные механизмы патогенеза данного заболевания, а также вносят существенный вклад в вопросы диагностики и лечения ВКЛ, поскольку позволяют отличить его от сходных В-клеточных ЛПЗ, таких как вариантная форма ВКЛ и селезеночная В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны (СЛКМЗ). Больные ВКЛ хорошо отвечают на химиотерапию пуриновыми аналогами — кладрибином и пентостатином, однако при медиане наблюдения 10 лет примерно у 40 % пациентов развивается рецидив, иногда менее восприимчивый к терапии [4].

Эти и другие факты указывают на необходимость совершенствования современных методов терапии ВКЛ. Открытие мутации *BRAF V600E* и активации *RAF*-*MEK*-*ERK*-каскада сделало обоснованным применение таргетной терапии ВКЛ с использованием протеинкиназных ингибиторов, целенаправленно подавляющих активацию мутантной *BRAF*-киназы и киназ *MEK1/2* [5, 6]. В то же время в недавних исследованиях было показано, что больные, имеющие перестройку варибельной области тяжелой цепи иммуноглобулинов 4-34 (*IGHV4-34*), не несут мутацию *BRAF V600E* и в значительной части случаев характеризуются различными активирующими мутациями в гене *MAP2K1*, кодирующем киназу *MEK1* [7, 8]. Все эти факты указывают на необходимость расширения панели генов, исследуемых при ВКЛ, а также углубления знаний о молекулярных особенностях данного заболевания. Также при анализе литературных данных до сих пор остается неясным патогенез СЛКМЗ [9–12].

В данной работе мы исследовали мутации в генах *BRAF* и *MAP2K1* у больных ВКЛ и СЛКМЗ с целью оценить их частоту и диагностическую значимость на собственной выборке пациентов.

Материалы и методы

Были исследованы 40 пациентов с диагнозом ВКЛ и 24 пациента с диагнозом СЛКМЗ. Диагноз устанавливали, основываясь на стандартных общепринятых диагностических критериях [9, 13, 14], включающих исследование морфологии и иммунофенотипа лимфоидных клеток крови и/или костного мозга [15]. Также проводилось исключение диагноза селезеночных неклассифицируемых лимфом (вариантной формы ВКЛ и лимфомы селезенки с диффузным поражением красной пульпы) [16]. Во всех случаях была выявлена клональная реаранжировка генов тяжелых цепей иммуноглобулинов. Для анализа мутаций была использована геномная ДНК, выделенная из образцов периферической крови, аспиратов костного мозга и биоптатов селезенки пациентов.

Мутацию V600E гена *BRAF* определяли с помощью аллель-специфичной полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) на приборе StepOne-Plus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems) по методике, описанной ранее [17].

Мутации в экзонах 11 и 15 гена *BRAF* и экзонах 2, 3 и 11 гена *MAP2K1* исследовали методом прямого секвенирования по Сэнгеру с применением набора Big Dye 1.1 XTerminator Cycle Sequencing Kit и капиллярного секвенатора ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Для секвенирования использовали следующие праймеры: *BRAF*-E11F: 5'-CTTCCTGTATCCCTCTCAGGC-3', *BRAF*-E11R: 5'-TGGAGGAGTCCTGAACATAATCA-3', *BRAF*-E15F: 5'-TACCTAACTCTTCATAATGCTTGC-3', *BRAF*-E15R: 5'-GTAACCTCAGCAGCATCTCAGGG-3', *MEK1*-E2F: 5'-GACCTGGAGCTTTCTTTCCA-3', *MEK1*-E2R: 5'-TCCCCAGGCTTCTAAGTACC-3', *MEK1*-E3F: 5'-CCAATGCCTGCCTTAGTACA-3', *MEK1*-E3R: 5'-TCACCTCCCAGACCAAAGAT-3', *MEK1*-E11F: 5'-AGGCAGAGTTACTGTCTCCA-3', *MEK1*-E11R: 5'-GCCAATCCACTTAGGGGAAC-3'.

Мутационный статус варьируемых участков тяжелых цепей генов иммуноглобулинов определяли по методике, описанной ранее [18].

Результаты и обсуждение

Мутация *BRAF* V600E была выявлена в 39 из 40 случаев ВКЛ и ни в одном из случаев СЛКМЗ. Принимая во внимание, что патогенные мутации в гене *BRAF* не ограничиваются вариантом V600E [19] и что основное число активирующих мутаций локализовано в экзонах 11 и 15 [19], мы просеквенировали соответствующие экзоны данного гена у всех пациентов, вошедших в исследование. Ни у одного из больных ВКЛ или СЛКМЗ не были выявлены активирующие мутации в экзонах 11 и 15 гена *BRAF*.

В соответствии с литературными данными активирующие мутации в гене *MAP2K1*, кодирующем MAP-киназу MEK1, выявляются при вариантной форме ВКЛ и в тех случаях, когда при ВКЛ экспрессируется *IGHV4-34* [8]. Протеинкиназа MEK1 является важным

элементом механизма передачи сигнала через MAP-киназный каскад и, будучи фосфорилированной протеинкиназой *BRAF*, передает сигнал нижележащим участникам каскада — протеинкиназам ERK1 и ERK2. Поскольку активирующие мутации киназы MEK1 чаще всего затрагивают N-концевой ауторегуляторный домен [8, 20, 21] и активационный сегмент киназного домена [20, 21], мы просеквенировали экзоны 2, 3 и 11 гена *MAP2K1*. Мутация с.167A>C, приводящая к замене Q56P в аминокислотной последовательности белка MEK1, была обнаружена у 1 пациента с ВКЛ. В результате определения мутационного статуса генов иммуноглобулинов было выяснено, что это единственный пациент в нашей выборке, относящийся к подгруппе *IGHV4-34*-положительных ВКЛ. Важно отметить, что этот случай имел нетипичную картину поражения костного мозга — морфологически выявлялись лишь рассеянные лимфоидные клетки, но при иммуногистохимическом исследовании обнаруживалась выраженная интерстициальная лимфоидная инфильтрация CD20⁺CD79a⁺ В-клетками. При этом в биоптате удаленной селезенки морфологически, иммуногистохимически и фенотипически диагноз ВКЛ был подтвержден, в то время как повторное исследование показало наличие мутации *MAP2K1* Q56P и отсутствие мутации *BRAF* V600E в ткани селезенки. Ни у одного из 24 пациентов с СЛКМЗ не было обнаружено мутаций в гене *MAP2K1*. Важно отметить, что среди больных СЛКМЗ также были 2 пациента с экспрессией *IGHV4-34*, что хорошо согласуется с данными других исследователей [22].

В результате нашего исследования на выборке пациентов, обратившихся в Гематологический научный центр в период с 2005 по 2015 г., было показано, что мутация *BRAF* V600E встречается не во всех случаях ВКЛ (в нашем исследовании — 98 % (39/40)). Было подтверждено, что у *BRAF* V600E-отрицательных больных могут выявляться активирующие мутации в других генах, кодирующих протеинкиназы — компоненты MAP-киназного каскада, таких как *MAP2K1*. Исследование мутационного статуса генов тяжелых цепей иммуноглобулинов выявляет в данном случае использование гена *IGHV4-34* в перестроенном опухолевом клоне. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что именно активация RAF-MEK-ERK-каскада лежит в основе патогенеза ВКЛ, а конкретные мутации, приводящие к образованию конститутивно активированных форм различных киназ, должны рассматриваться как причины данной активации. Также можно предположить, что спектр возможных причин вышеописанной активации не ограничивается обнаруженными на данный момент мутациями, а имеет потенциально значительно больший масштаб как за счет различных мутаций одного и того же гена, так и за счет мутаций в других генах каскада. Отсутствие же экспериментальных данных, подтверждающих это предположение, объясняется низкой частотой подобных явлений вместе с относительной

редкостью данного заболевания и, как следствие, небольшими выборками пациентов. Полученные нами данные согласуются с уже имеющимися сообщениями других исследователей о редких случаях *BRAF V600E*-негативного ВКЛ [7, 8], а также явно указывают на большое значение исследования мутационного статуса генов иммуно-

глобулинов и необходимость расширения панели мутаций и генов, исследуемых при диагностике ВКЛ. Более того, эти данные указывают на возможность применения новых таргетных препаратов, нацеленных на подавление активности RAF-MEK-ERK-каскада (ингибиторы MEK и ERK), для лечения резистентных форм ВКЛ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tiacci E., Trifonov V., Schiavoni G. et al. *BRAF* mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 2011;364(24): 2305–15.
2. Kamiguti A.S., Harris R.J., Slupsky J.R. et al. Regulation of hairy-cell survival through constitutive activation of mitogen-activated protein kinase pathways. *Oncogene* 2003;22(15):2272–84.
3. Tiacci E., Schiavoni G., Martelli M.P. et al. Constant activation of the RAF-MEK-ERK pathway as a diagnostic and therapeutic target in hairy cell leukemia. *Haematologica* 2013;98(4):635–9.
4. Pettitrossi V., Santi A., Imperi E. et al. *BRAF* inhibitors reverse the unique molecular signature and phenotype of hairy cell leukemia and exert potent antileukemic activity. *Blood* 2015;125(8):1207–16.
5. Урнова Е.С., Аль-Ради Л.С., Кузьмина Л.А. и др. Успешное применение вемурафениба у больного с резистентной формой волосатоклеточного лейкоза. *Терапевтический архив* 2013;85(7):76–8. [Urnova E.S., Al'-Radi L.S., Kuz'mina L.A. et al. Successful use of vemurafenib in a patient with resistant hairy cell leukemia. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archives* 2013;85(7):76–8. (In Russ.)].
6. Peyrade F., Re D., Ginet C. et al. Low-dose vemurafenib induces complete remission in case of hairy-cell leukemia with a V600E mutation. *Haematologica* 2013;98(2):e20–2.
7. Xi L., Arons E., Navarro W. et al. Both variant and IGHV4-34-expressing hairy cell leukemia lack the *BRAF V600E* mutation. *Blood* 2012;119(14):3330–2.
8. Waterfall J.J., Arons E., Walker R.L. et al. High prevalence of *MAP2K1* mutations in variant and IGHV4-34-expressing hairy-cell leukemias. *Nat Genet* 2014;46(1):8–10.
9. Джулакян У.Л., Гриншпун Л.Д. Селезеночная лимфома из клеток маргинальной зоны (лимфоцитомы селезенки) у пожилых пациентов: клиника, диагностика, лечение. В сб.: *Гериатрическая гематология. Заболевания системы крови в старших возрастных группах*. Под ред. Л.Д. Гриншпун, А.В. Пивника. М., 2012. С. 237–44. [Dzhulakyan U.L., Grinshpun L.D. Splenic marginal zone lymphoma (spleen lymphocytoma) in elderly patients: clinical features, diagnosis, treatment. In: *Geriatric hematology. Blood disorders in the older age groups*. Ed. by L.D. Grinshpun, A.V. Pivnik. Moscow, 2012. Pp. 237–44. (In Russ.)].
10. Джулакян У.Л., Обухова Т.Н., Капланская И.Б. Лимфоцитомы селезенки с перестройкой локуса гена *BCL-6/3q27*. *Гематология и трансфузиология* 2009;54(3):48–52. [Dzhulakyan U.L., Obukhova T.N., Kaplanskaya I.B. Spleen lymphocytoma with *BCL-6/3q27* rearrangement. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology* 2009;54(3):48–52. (In Russ.)].
11. Джулакян У.Л. Вирусные гепатиты и лимфома из клеток маргинальной зоны селезенки: подходы к терапии. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика* 2012;6(1):120–3. [Dzhulakyan U.L. Viral hepatitis and splenic marginal zone lymphoma: therapy approaches. *Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika = Basic Research and Clinical Practice* 2012;6(1):120–3. (In Russ.)].
12. Никитин Е.А., Баранова А.В. Патогенез В-клеточных лимфатических опухолей. В кн.: *Клиническая онкогематология*. Под ред. проф. М.А. Волковой. М.: Медицина, 2007. С. 645–78. [Nikitin E.A., Baranova A.V. The pathogenesis of B-cell lymphoid tumors. In: *Clinical oncohematology*. Ed. by prof. M.A. Volkova. Moscow: Meditsina, 2007. Pp. 645–78. (In Russ.)].
13. Foucar K., Falini B., Catovsky D. et al. (eds.) *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC, 2008. Pp. 188–90.
14. Аль-Ради Л.С., Пивник А.В., Зыбунова Е.Е. и др. Волосатоклеточный лейкоз у пожилых: клиника, диагностика, лечение аналогом пурина 2-СдА. *Клиническая геронтология* 2004;(5):7–13. [Al'-Radi L.S., Pivnik A.V., Zybunova E.E. et al. Hairy cell leukemia in the elderly: clinical features, diagnosis, treatment with purine analogue 2-CdA. *Klinicheskaya gerontologiya = Clinical Gerontology* 2004;(5):7–13. (In Russ.)].
15. Хвастунова А.Н., Аль-Ради Л.С., Капранов Н.М. и др. Использование клеточного биочипа в диагностике волосатоклеточного лейкоза. *Онкогематология* 2015;(1):37–45. [Khvastunova A.N., Al'-Radi L.S., Kapranov N.M. et al. Using a cell biochip in the diagnosis of hairy cell leukemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2015;(1):37–45. (In Russ.)].
16. Julhakyan H.L., Al-Radi L.S., Moiseeva T.N. et al. The experience of diagnostic and treating splenic diffuse red pulp lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2015;15 Suppl 2:69–70.
17. Якутик И.А., Аль-Ради Л.С., Бидерман Б.В. и др. Применение аллель-специфичной ПЦП-РВ для определения мутации *B-RAF V600E* у больных волосатоклеточным лейкозом. *Гематология и трансфузиология* 2014;59(2):16–9. [Yakutik I.A., Al'-Radi L.S., Biderman B.V. et al. Detection of *B-RAF V600E* mutation in patients with hairy cell leukaemia by allele-specific RT-PCR. *Gematologiya i transfuziologiya = Haematology and Transfusiology* 2014;59(2):16–9. (In Russ.)].
18. Бидерман Б.В., Никитин Е.А., Сергиенко Т.Ф. и др. Репертуар генов тяжелой цепи иммуноглобулинов при В-клеточном хроническом лимфолейкозе в России и Беларуси. *Онкогематология* 2012;(3):38–43. [Biderman B.V., Nikitin E.A., Sergienko T.F. et al. The repertoire of heavy chain immunoglobulin genes in B-cell chronic lymphocytic leukemia in Russia and Belarus. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2012;(3):38–43. (In Russ.)].
19. Dahlman K.B., Xia J., Hutchinson K. et al. *BRAF (L597)* mutations in melanoma are associated with sensitivity to MEK inhibitors. *Cancer Discov* 2012;2(9):791–7.
20. Chakraborty R., Hampton O.A., Shen X. et al. Mutually exclusive recurrent somatic mutations in *MAP2K1* and *BRAF* support a central role for ERK activation in LCH pathogenesis. *Blood* 2014;124(19):3007–15.
21. Van Allen E.M., Wagle N., Sucker A. et al. The genetic landscape of clinical resistance to RAF inhibition in metastatic melanoma. *Cancer Discov* 2014;4(1):94–109.
22. Джулакян У.Л., Бидерман Б.В., Гемджян Э.Г. и др. Молекулярный анализ генов иммуноглобулина в опухолевых В-клетках при лимфоме селезенки из клеток маргинальной зоны. *Терапевтический архив* 2015;87(7):58–63. [Dzhulakyan U.L., Biderman B.V., Gemdzhyan E.G. et al. Molecular analysis of immunoglobulin genes in tumor cells in splenic marginal zone B-cell lymphoma. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archives* 2015;87(7):58–63. (In Russ.)].

Анемия хронических заболеваний: отдельные аспекты патогенеза и пути коррекции

О.А. Рукавицын

ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь им акад. Н.Н. Бурденко» Минобороны России; Россия, 105229, Москва, Госпитальная площадь, 3

Контакты: Олег Анатольевич Рукавицын ngc@list.ru

В обзоре приведены данные, касающиеся новых важных аспектов патогенеза и лечения анемии хронических заболеваний. Показана роль эритропоэз-стимулирующих агентов и препаратов железа в лечении пациентов с анемией хронических заболеваний.

Ключевые слова: анемия хронических заболеваний, железо, эритропоэз-стимулирующие агенты

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-37-46

Anemia of chronic diseases: the important aspects of pathogenesis and treatment

O.A. Rukavitsyn

N.N. Burdenko Main Military Clinical Hospital, Ministry of Defence of Russia; 3 Gospital'naya Square, Moscow, 105229, Russia

The review contains data about new important aspects of pathogenesis, and treatment of anemia of chronic diseases. The treatment of patients with anemia of chronic diseases by erythropoiesis-stimulating agents and iron is analyzed.

Key words: anemia of chronic diseases, iron, erythropoiesis-stimulating agents

Анемия часто осложняет течение опухолевого, инфекционно-воспалительного или аутоиммунного заболевания. В разных исследованиях приводится различная частота возникновения этого серьезного осложнения (например, от 30 до 90 %), однако можно предположить, что этот показатель может достигать 100 %, если заболевание и сопутствующее ему лечение будут продолжаться достаточно долго. От эффективного лечения анемии зависит быстрота нормализации состояния больного, восстановление его работоспособности, а также успех в лечении других заболеваний. Анемия существенно отягощает течение патологических процессов, с которыми сочетается [1, 2].

Для того чтобы понять место анемии хронических заболеваний (АХЗ) во всей совокупности анемий, необходимо прибегнуть к классификации. Общепринятой единой классификации анемий в настоящее время нет.

Принято деление анемий по среднему объему эритроцитов (mean cell volume, MCV):

- на микроцитарные (MCV < 80 фл);
- нормоцитарные (MCV = 80–95 фл);
- макроцитарные (MCV > 95 фл).

Обычно с этой классификацией совпадает разделение анемий на гипохромные, нормохромные и гиперхромные, поскольку от объема эритроцита зависит концентрация гемоглобина (Hb) (mean cell hemoglobin, MCH). При этом диагноз гипохромной анемии обычно ставится при MCH < 26 пг, а гиперхромной — при MCH > 32 пг.

По патофизиологическому признаку анемии делятся:

- на связанные с недостаточной продукцией эритроцитов и/или Hb;
- связанные с повышенным разрушением эритроцитов.

С точки зрения тяжести анемии делятся:

- на тяжелые (Hb < 70 г/л);
- средней тяжести (Hb 70–100 г/л);
- легкие (Hb > 100 г/л).

Существует большое количество других классификаций анемий, но с практической точки зрения они имеют меньшее значение. Для принятия клинически значимого решения обычно достаточно приведенных выше классификаций. Однако для того, чтобы использовать не 3, а 1 классификацию и максимально быстро принять клиническое решение, рекомендуется разделить анемии на 3 группы:

- 1-я — «дефицитные» анемии, связанные с недостаточностью железа (включая постгеморрагические) или витамина B₁₂ (иногда — фолиевой кислоты);
- 2-я — АХЗ, сопровождающие длительно текущие опухолевые, инфекционно-воспалительные и аутоиммунные заболевания;
- 3-я — «гематологические» анемии (включая анемии у больных гемобластомами и гемолитические), связанные с недостаточностью костного мозга или повышенным разрушением клеток красной крови.

Такое деление помогает правильно выбрать тактику и место лечения пациента. Больные с анемиями

1-й группы обычно являются пациентами врача общей практики, 2-й — специалиста, лечащего основное заболевание, и 3-й — врача-гематолога.

Анемии 1-й группы: железодефицитная — микроцитарная, гипохромная; B_{12} -дефицитная (фолиеводефицитная) — макроцитарная, гиперхромная. Анемии 2-й и 3-й групп в большинстве своем нормоцитарные, нормохромные [3].

Об АХЗ (2-я группа) можно думать при наличии у пациента длительно текущего инфекционно-воспалительного, опухолевого или аутоиммунного процесса. Патогенез этой анемии сложен, его основные составляющие — нарушение синтеза эритропоэтина и чувствительности к нему клеток-предшественников эритропоэза, гиперпродукция факторов, угнетающих эритропоэз (фактор некроза опухоли, интерлейкины (ИЛ)), нарушения в метаболизме железа [4–7].

Основные факторы патогенеза анемии хронических заболеваний

Нарушения обмена железа. Железо является важнейшим компонентом митохондриальной дыхательной цепи. Оно абсолютно необходимо для функционирования организма, так как играет центральную роль в связывании и транспорте кислорода. В то же время свободное железо образует опасные гидроксильные радикалы, приводящие к гибели клеток. Однако в свободном виде железо практически не встречается, — оно связывается на конкретном этапе циркулирования в организме с определенным белком. Наиболее важную роль в обмене железа играют ферритин, трансферрин и трансферриновый рецептор. Ферритин — большой белок с молекулярной массой 480 кДа, выполняющий функции накопления и хранения запасов железа. В физиологических условиях (но далеко не всегда у больных АХЗ) количество ферритина соотносится с количеством железа в организме (чем больше ферритина, тем больше железа). Трансферрин имеет молекулярную массу 80 кДа и служит для транспортировки железа в ткани, испытывающие в нем потребность. Он синтезируется в клетках печени в соответствии с количеством железа в организме (чем меньше железа, тем больше синтезируется трансферрина). Трансферрин транспортирует как железо, попавшее в организм с пищей, так и высвобожденное из депо (макрофагов). Однако оно не может быть транспортировано из комплекса трансферрин–железо прямо в клетку. Для этого нужен еще один белок — трансферриновый рецептор. Его молекула состоит из 2 доменов общей массой 180 кДа, каждый домен может связывать 2 молекулы трансферрина. После этого связывания комплекс трансферрин–трансферриновый рецептор погружается в клетку, где при низком pH из него высвобождается железо. Белки же (трансферрин и трансферриновый рецептор) не разрушаются, а входят в процесс рециркуляции. Приблизительно 2/3 железа организма используется в эритропоэзе и содержится

либо в эритроцитах, либо в эритроидных клетках-предшественниках костного мозга. Биодоступность железа, поступающего с пищей, невысока. Однако абсолютное большинство этого металла после разрушения клеток, содержащих железо, используется вновь. Оно содержится в макрофагах печени и селезенки и может быть высвобождено из них. Еще одним важнейшим белком, регулирующим высвобождение железа из клеток моноцитарно-макрофагальной системы, является гепсидин, вырабатываемый в печени. Его количество негативно коррелирует с доступностью железа для клеток организма (чем больше экспрессия гепсидина, тем менее доступно железо) [8–10].

Гепсидин контролирует поступление в плазму крови железа из 3 основных источников: абсорбция пищевого железа из кишечника, высвобождение из макрофагов печени и селезенки и из гепатоцитов. Он ингибирует высвобождение железа путем уменьшения экспрессии ферропортина — единственного известного экспортера железа. Гепсидин связывается с ферропортином и инициирует его убиквитинизацию. В результате эндоцитоза и последующей липосомальной деградации гепсидин-ферропортиновый комплекс высвобождается железо. Гепсидин регулирует содержание железа в плазме, но верно и обратное — экспрессия гепсидина регулируется количеством железа в организме, а вернее — потребностью в нем. Концентрация гепсидина также регулируется эритропоэтической активностью через недавно открытый белок эритроферрон. Предполагается, что он вырабатывается делящимися эритроидными клетками-предшественниками костного мозга. Эритроферрон ингибирует продукцию гепсидина при повышенной потребности в железе для синтеза Hb [8].

Повышенное содержание гепсидина приводит к недостатку железа для синтеза Hb у пациентов с различными типами анемий. В качестве примера генетически обусловленного увеличения количества гепсидина можно привести железорезистентную железодефицитную анемию (iron refractory iron deficiency anemia, IRIDA). Это наследственное заболевание, передающееся по ауто-сомно-рецессивному типу. Его причина — мутация фермента матриптазы-2 (TMPRSS6), негативного регулятора экспрессии гепсидина. В результате такие пациенты не могут подавить продукцию гепсидина при железодефицитных состояниях.

Воспаление (особенно хроническое) — самая частая причина гиперпродукции гепсидина. Особенно часто его содержание повышено у пациентов с заболеваниями кишечника, обычно это сочетается с низкой концентрацией железа и анемией. Таким образом, воздействие на содержание гепсидина в целях его понижения является важной терапевтической мишенью, воздействие на которую может приблизить нас к решению проблемы АХЗ. На практике это чаще всего заболевания, связанные с хроническим воспалением, некоторые виды злокачественных опухолей, болезни

почек и упомянутая выше наследственная IRIDA. В качестве путей решения непростой задачи снижения концентрации гепсидина рассматриваются уменьшение его выработки, нейтрализация циркулирующего гепсидина и влияние на взаимодействие гепсидин–ферропортин. Рассматриваются разнообразные опции, в том числе воздействие на продукцию гепсидина путем регуляции содержания ИЛ-6, антитела к гепсидину, а также к ферропортину. Решение проблемы находится на этапе доклинического исследования и ранних фаз клинических испытаний.

Исключительная важность взаимодействия в комплексе гепсидин – ферропортин стала причиной выделения нового патофизиологического феномена, который был назван «осью гепсидин–ферропортин». Это стало поводом к выделению целой группы заболеваний. Насколько это оправданно – покажет время [8, 11, 12].

Повреждение пролиферации и дифференцировки клеток эритропоэза – следующий (за нарушениями обмена железа) важнейший фактор развития АХЗ. Это может быть связано с проапоптотическими эффектами интерферона- γ (ИФН- γ), ИФН- α , фактора некроза опухолей α (ФНО- α) и ИЛ-1 в отношении клеток-предшественников эритропоэза – эритроидных бурстобразующих и колониобразующих единиц. Кроме того, эти же цитокины вызывают снижение экспрессии рецепторов к эритропоэтину, а также нарушают синтез эритропоэтина, тем самым ингибируя его активность. Эти процессы, происходящие на фоне ограниченной доступности железа для эритропоэза, приводят к ингибированию пролиферации эритроидных предшественников. Кроме того, ИЛ-6, ИЛ-22 и активин В увеличивают экспрессию гепсидина.

Белки острой фазы воспаления могут эффективно связывать трансферрин и ингибировать опосредованный трансферрином захват железа эритроидными предшественниками. Таким образом блокируются их пролиферация и дифференцировка. Антипролиферативный эффект в отношении эритропоэза описан и для ферритина; механизм эффекта не вполне ясен, но он может быть связан с доступностью железа эритроидным предшественникам. Кроме того, у пациентов с АХЗ может развиваться дефицит кобаламина и фолиевой кислоты, что приводит к нарушению пролиферации эритроидных предшественников. И наконец, сочетание анемии у онкологических больных с радио- и химиотерапевтическим воздействием может усиливать анемию посредством прямого токсического действия на костный мозг.

В последнее время все больше внимания уделяется дефициту железа у больных с АХЗ. Так, в одном из исследований установлено, что концентрация растворимого трансферринового рецептора (рТФР) значимо выше в группе онкологических пациентов, страдающих анемией, в сравнении с группой неанемичных больных. Был проведен комплексный анализ содер-

жания С-реактивного белка, гепсидина, ферритина и рТФР в сыворотке крови в этой группе пациентов. Оказалось, что повышение концентрации рТФР было более значимым, чем изменение других параметров, влияющих на эритропоэз. Поскольку повышение содержания рТФР надежно указывает на дефицит железа для эритропоэза, авторы делают вывод, что этот патогенетический механизм часто является основным в возникновении АХЗ [13].

Уменьшение синтеза и биологической активности эритропоэтина – третий фактор развития АХЗ. Как правило, у больных АХЗ концентрация эндогенного эритропоэтина неадекватна степени анемии. К тому же биологический ответ на гипоксию у таких пациентов искажен. Это лишь косвенно связано с изменениями в гомеостазе железа. Главная причина – действие цитокинов на образование эритропоэтина и его активность. ИЛ-1 и ФНО- α индуцируют образование токсичных радикалов, которые повреждают клетки, продуцирующие эритропоэтин, тем самым ингибируя его продукцию. Этот механизм, приводящий к уменьшению синтеза эритропоэтина, обнаружен и на экспериментальных моделях (в опытах на животных). Ответ эритроидных предшественников на эритропоэтин коррелирует с количеством циркулирующих цитокинов: так, в присутствии высоких концентраций ИФН- γ и ФНО- α требуется повышенное количество эритропоэтина для образования эритроидных колоний.

После связывания с рецептором эритропоэтин активирует гены семейств сигнальных трансдукторов и активаторов транскрипции. Эти процессы повреждаются и регулируются воспалительными цитокинами по принципу отрицательной обратной связи [14–16].

Диагностика анемии хронических заболеваний

Обычно АХЗ – умеренная нормохромная и нормоцитарная анемия, выраженность которой невелика. Концентрация Hb редко опускается ниже 70 г/л.

Основой диагностики является наличие у пациента длительно текущего хронического заболевания, обычно опухолевой, инфекционно-воспалительной или аутоиммунной природы. Если такое заболевание отсутствует – диагноз АХЗ маловероятен. Поскольку сам термин АХЗ касается большой группы пациентов, часто патогенетически различных, он не всем казался удачным. Однако лучшего названия для обозначения этих анемий к настоящему времени предложить не удалось.

По мнению ряда авторов, можно разделять АХЗ и анемию злокачественных новообразований. На наш взгляд, в таком разделении нет необходимости с учетом общих патогенетических механизмов и общих подходов к лечению у больных АХЗ и анемией злокачественных новообразований. Поэтому целесообразно считать анемию злокачественных новообразований частным случаем АХЗ.

Достаточно часто приходится проводить дифференциальную диагностику АХЗ с железодефицитной анемией (ЖДА). Диагноз основан на отличиях в гомеостазе железа. Диагностика АХЗ требует оценки состояния обмена железа. Обычно адекватно оценить запасы железа в организме можно, ориентируясь на уровень сывороточного ферритина. У больных ЖДА концентрация ферритина в сыворотке крови обычно крайне низкая, а при АХЗ она может быть нормальной или даже повышенной. Причина этого — два обстоятельства: первое — повышенная концентрация ферритина в сыворотке крови отражает запасы железа в клетках моноцитарно-макрофагальной системы; второе — повышенная экспрессия ферритина может быть индуцирована воспалением, поскольку он относится к провоспалительным цитокинам. То есть содержание ферритина в сыворотке крови не отражает запасы железа у больных с воспалительными процессами, как это происходит у пациентов без воспаления. Что касается опухолевых и аутоиммунных заболеваний, то обычно здесь также присутствует воспалительный компонент.

Концентрация ферритина в сыворотке крови также повышается у лиц с гипертиреозом, заболеваниями печени, алкогольной болезнью и после назначения некоторых лекарств. Концентрация сывороточного железа и насыщение трансферрина железом могут быть снижены как при ЖДА, так и при АХЗ и не играют большой роли в дифференциальной диагностике между ними.

Напротив, концентрация трансферрина, нормальная или низкая у больных АХЗ, обычно значительно повышена у больных ЖДА. Также содержание рТФР (усеченного фрагмента мембранного рецептора) повышено, когда снижена доступность железа для гемопоэза [13].

Когда диагноз АХЗ установлен или предполагается с высокой степенью вероятности, ключевым вопросом становится определение типа дефицита железа — является ли он абсолютным (истинным) или функциональным. Принципиальная разница между ними состоит в том, что при абсолютном дефиците железа его назначение приводит к быстрому потреблению эритроидными клетками-предшественниками и активирует эритропоэз, компенсируя тем самым анемию. В то же время у пациентов с функциональным железодефицитом такое назначение будет бесполезным, несмотря на то что имеются признаки нехватки железа. Ранее считалось, что это принципиально разные состояния, но в дальнейшем наступило понимание того, что они часто сочетаются (наличие функционального дефицита железа не исключает наличия истинного, и наоборот).

Здесь важнейшую роль играет тщательный сбор анамнеза. АХЗ с абсолютным дефицитом железа обнаруживается у больных с потерей крови из-за гастроинтестинальных и урологических опухолей, маточных кровотечений, воспалительных заболеваний кишеч-

ника и гастроинтестинальных инфекций. Признаки кровопотери могут быть выявлены уже при подробном расспросе больного или его родственников. Назначенное с целью верифицировать хроническую кровопотерю обследование может помочь в этом.

Лабораторными признаками АХЗ с абсолютным дефицитом железа являются (в порядке значимости):

- высокая концентрация рТФР;
- сниженное насыщение трансферрина железом;
- увеличение количества трансферрина;
- сниженные концентрации железа и ферритина в сыворотке крови.

Определение отношения содержания рТФР к логарифму концентрации ферритина в сыворотке крови может помочь установить потребность в железе для эритропоэза. Соотношение < 1 предполагает АХЗ с функциональным дефицитом железа; соотношение > 3 указывает на его абсолютный дефицит.

Определение количества гипохромных эритроцитов и, что еще более важно, гипохромных ретикулоцитов может быть полезно для оценки доступности железа клеткам эритропоэза, т. е. их повышенные уровни говорят о том, что железа не хватает и эритроциты работают в условиях дефицита железа. На это же может указывать снижение среднего содержания Hb в эритроците и среднего объема эритроцитов. Очень важным признаком истинного дефицита железа является снижение количества железосодержащих гранул в эритроидных клетках-предшественниках костного мозга при специальной окраске (по Перлсу). При обычной же окраске часто наблюдается неровность контуров клеток-предшественников эритропоэза, что может быть связано с дефектами цитоплазматической мембраны.

Весьма вероятно, что в недалеком будущем в установлении диагноза АХЗ с истинным дефицитом железа важную роль будет играть уровень гепсидина. При высоком уровне можно будет предполагать, что имеется нехватка железа и эритропоэз работает в условиях его дефицита. В том же ключе интенсивно изучается роль другого белка, который, возможно, также активно участвует в эритропоэзе, — эритроферрона. Установление диагноза может быть затруднено сопутствующими кровотечениями, почечной недостаточностью и влиянием медикаментов.

Лечение анемии хронических заболеваний

Наличие анемии приводит к уменьшению оксигенации органов и тканей, снижению физической активности, появлению слабости и ухудшению качества жизни. Следует учитывать, что у больных с АХЗ часто встречается комплексная патология — может быть нарушена функция почек, сердца, печени и т. д. В подобных ситуациях можно говорить о взаимном отягощении имеющихся нарушений, каждое из которых вряд ли может быть излечено в отдельности. И только компенсация анемии положительно влияет на функциониро-

вание разнообразных органов и систем. Напротив, у части больных с АХЗ концентрация Hb ниже 80 г/л ассоциируется с большей в 2 раза вероятностью смерти, чем при Hb 100–110 г/л. Компенсация анемического синдрома (нормализация Hb) приводит к улучшению качества жизни и уменьшению риска смерти. У пациентов со злокачественными новообразованиями, получающих полихимиотерапию, значительно улучшается качество жизни, если проводится лечение анемии; наибольшее улучшение отмечается при Hb около 110 г/л. Когда это возможно, основой терапевтического подхода к лечению АХЗ, является лечение основного заболевания. Когда это невозможно, необходимо компенсировать анемию иначе. Можно говорить о 3 основных направлениях:

- переливание компонентов крови;
- назначение препаратов железа;
- применение стимуляторов эритропоэза.

Переливание компонентов крови — широко распространенное терапевтическое вмешательство, дающее быстрый эффект. Переливания эритроцитарной массы или отмытых эритроцитов абсолютно показаны пациентам с жизнеугрожающей анемией (Hb < 65 г/л). Они также могут применяться у больных с выраженной (Hb < 80 г/л) или осложненной кровотечением АХЗ.

Принято считать, что переливания крови и ее компонентов могут приводить к осложнениям иммунологического типа. Кроме того, нельзя гарантировать абсолютную защиту от возможного заражения одной из гемотрансмиссивных инфекций.

Возможность осложнений иммунологического типа основана на том, что кроме системы антигенов АВО существуют и другие (конечно, менее значимые) системы. Совмещение же гемокомпонента с донорским образцом подвержено влиянию разнообразных физических факторов (температура, влажность и т. д.). Это влияние крайне сложно нивелировать в полной мере. Диапазон возможных нежелательных иммунных реакций на применение гемокомпонентов весьма широк — от легкой крапивницы (быстро исчезающая сыпь) до анафилактического шока с вероятным летальным исходом. Переливания крови также могут нарушать иммунный статус пациента — прямо или через выброс железа в микроциркуляторное русло. Это, в свою очередь, может увеличивать риск инфекционных осложнений. Кроме того, у пациента, регулярно получающего трансфузии, закономерно снижается уровень Hb вслед за быстрым его повышением. Существует точка зрения, согласно которой быстрое изменение степени оксигенации клеток (если речь идет о злокачественной опухоли) может приводить к опухолевой прогрессии у больных злокачественными новообразованиями. Забегая вперед, можно сказать, что эти явления отсутствуют у пациентов, получающих для коррекции анемии эритропоэз-стимулирующие агенты (ЭСА) — рекомбинантные человеческие эритропоэтины.

Полностью исключить возможность переноса инфекционного агента также сложно. Конечно, в первую очередь речь идет о вирусе иммунодефицита человека. Тест-системы, применяющиеся при скрининговом обследовании доноров, постоянно совершенствуются, и вероятность необнаружения существующего вируса минимальна, но полностью не исключена. Следует учитывать значительную распространенность такой традиционной инфекции, как сифилис. Кроме того, возможны технические ошибки (объективные и субъективные) при выполнении анализов на наличие инфекций.

Однако существует точка зрения, что гемотрансфузии полезны, поскольку имеет место их иммуномодулирующий эффект. Так, например, известно, что переливание крови увеличивает выживаемость больных АХЗ, осложненной инфарктом миокарда.

Бесспорно, частые трансфузии препаратов красной крови являются значимым фактором плохого прогноза в хирургической онкологии. Это привело к возникновению в хирургии понятия «управление кровью пациента» (patient blood management), которое состоит из 3 частей: 1) коррекция предоперационной анемии, 2) уменьшение интраоперационной кровопотери и 3) коррекция анемии в послеоперационном периоде. Здесь в 1-й и 3-й частях вполне уместно применение ЭСА.

Естественным является предположение, что более упорная анемия отражает более выраженное основное заболевание. Так, больные, получающие большое количество гемокомпонентов, имеют худший прогноз сами по себе, и трансфузии крови могут не вносить особого вклада в негативный клинический исход. Основываясь на данных, имеющихся в настоящий момент, крайне сложно определить влияние трансфузий на результат лечения у больных АХЗ, а также на течение основного заболевания [17].

Назначение препаратов железа. Еще недавно считалось, что лечение только железом в отсутствие железодефицита не полезно больным АХЗ. Действительно, пероральные препараты железа иногда плохо всасываются из-за ухудшения функционирования желудочно-кишечного тракта у больных АХЗ. Это особенно резко выражено у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. Сейчас появились данные о том, что процесс всасывания также регулируется гепсидином. Это является основной причиной малой эффективности перорального приема железа у этих пациентов.

Более того, полагали, что терапия железом может быть вредной. Теоретически верно, что железо необходимо для жизнедеятельности пролиферирующих организмов. Так, предполагалось, что «убирание» железа от пролиферирующих микроорганизмов и опухолевых клеток — потенциально эффективная стратегия для ингибирования их роста. Также известно, что железо ингибирует активность ИФН- γ — цитокина, иг-

рающего важнейшую роль в клеточно-опосредованных иммунных эффекторных механизмах. Роль ИФН- γ в борьбе против клеток опухоли и микроорганизмов весьма важна. Однако реальная клиническая значимость этих, в основном теоретических, положений неизвестна. Неясно, насколько наличие высокого уровня железа в организме предрасполагает к развитию инфекционных осложнений или же к прогрессированию опухолевого процесса. Данные об этом либо отсутствуют, либо противоречивы. И абсолютно неизвестно, о каком количестве железа в какой клинической ситуации можно говорить в свете его влияния на опухолевый рост или инфекцию.

Также предполагается, что избыточное количество железа приводит к формированию высокотоксичных гидроксид-радикалов через каталитическое действие металла. Теоретически это может вызвать повреждение тканей и увеличить риск острых сердечно-сосудистых заболеваний. Однако невозможно установить, какое количество железа у конкретного больного будет действительно вредным.

Есть указания на то, что терапия железом дает умеренный иммуносупрессивный эффект (опять же без конкретной оценки его клинической значимости). Однако именно из-за иммуносупрессивного действия терапия железом может быть полезна у больных АХЗ с аутоиммунным компонентом. Путем ингибирования образования ФНО- α железо может уменьшать активность болезни при ревматоидном артрите и в терминальной стадии некоторых заболеваний почек. При этом железо абсолютно необходимо для основных процессов клеточного метаболизма и обязательно должно включаться в терапию АХЗ с признаками дефицита железа. Внутривенное железо должно назначаться больным, у которых отсутствует ответ на ЭСА и подозревается дефицит железа. Характерно, что железо быстрее утилизируется клетками эритрона, чем микроорганизмами при хронических воспалительных заболеваниях; Hb повышается без роста числа инфекционных осложнений [18, 19].

«Искусственный» железодефицит может развиваться при применении ЭСА. Усиленный эритропоэз увеличивает и потребность в железе. Установлено, что парентеральная терапия железом гораздо эффективнее, чем пероральная, у больных раком, получающих химиотерапию. Скорее всего, это верно для абсолютного большинства пациентов с АХЗ. Накопленные в последние годы сведения позволяют ввести понятие *гепсидинового барьера*, т. е. определить состояния внутри большой группы АХЗ с повышенным уровнем гепсидина и, как следствие (в совокупности с другими факторами), невсасыванием железа из желудочно-кишечного тракта. Однако попытки преодоления этого барьера продолжаются, в частности появились препараты железа, в которых металл интегрирован в липосомы. Есть сведения о том, что такие препараты способны преодолевать гепсидиновый барьер [20, 21].

Обобщая комплекс вопросов о лечении препаратами железа больных АХЗ, можно заключить, что они скорее полезны, даже если признаки дефицита железа неочевидны. Вред же их не определен конкретно, а существующие данные не позволяют определить противопоказания к попытке ферротерапии у пациентов этой группы, кроме тех, у которых есть признаки перегрузки железом. При этом нет смысла использовать пероральное железо (возможно, за исключением липосомального). Необходимо применять парентеральные препараты, эффективность которых зачастую весьма высока. Современные железосодержащие комплексы удобны тем, что можно ввести требуемую дозу металла за 1–2 инфузии и долгое время контролировать анемию.

Человеческие рекомбинантные эритропоэтины (ЭСА).

ЭСА были впервые синтезированы генноинженерным способом в 80 годах прошлого века. С химической точки зрения ЭСА представляет собой гликопротеин, состоящий из белковой и углеводной частей, общей молекулярной массой 30 кДа. Белковая часть является полипептидом, состоящим из 165 аминокислотных остатков и полностью идентичным нативному эритропоэтину. Углеводная часть молекулы может быть различной, что предполагает разные механизмы взаимодействия с рецептором и, как следствие, неодинаковую биологическую активность молекул. ЭСА-альфа по сравнению с другими ЭСА обладает меньшей степенью гликозилирования, схожей с нативным гормоном, что определяет его более высокое сродство к рецепторам эритропоэтина и короткий период полувыведения.

Необходимость коррекции АХЗ не вызывает сомнения. Во-первых, повышение Hb тесно связано с качеством жизни пациентов, а во-вторых, улучшает течение основного заболевания. Многочисленными исследованиями подтверждено, что риск смерти у больных с АХЗ возрастает параллельно с углублением анемии. Для пациентов со злокачественными новообразованиями также верно положение, что анемия, ухудшая оксигенацию опухоли, вызывает образование в ней новых сосудов (неоангиогенез). Это, в свою очередь, является важнейшим фактором опухолевого роста.

Рекомендуемая стартовая доза ЭСА — 150 МЕ/кг 3 раза в неделю, с возможностью увеличения дозы до 300 МЕ/кг 3 раза в неделю в последующие 4 нед у не ответивших пациентов. Классическим является режим 10 000 МЕ 3 раза в неделю. Это позволяет мониторировать ответ на лечение, вовремя отменяя терапию (опасность тромбогенности) или усиливая ее. Однако более предпочтителен режим 12 000 МЕ 3 раза в неделю, так как в этом случае общая недельная доза ближе к целевой — 40 000 МЕ. Возможен альтернативный режим введения ЭСА — 1 раз в неделю в дозе 40 000 МЕ для взрослых пациентов с возможным увеличением до 60 000 МЕ. Продолжение терапии ЭСА при отсутствии ответа через 6–8 нед, вероятно, не является выгодным. Не ответившие пациенты должны исследоваться с целью выявления прогрессии опу-

холи, дефицита железа и других возможных причин анемии.

Дарбэпоэтин-альфа вводится в дозе 150 мкг 1 раз в неделю или 500 мкг 1 раз в 3 нед. Скорость ответной реакции на терапию ЭСА у пациентов с анемиями при злокачественных новообразованиях широко варьируется, однако имеется четкий дозозависимый эффект. Более подходящим является подкожное введение ЭСА, так как оно имеет предпочтительную фармакокинетику. Продолжительность лечения играет особую роль. Не стоит ожидать значимого клинического эффекта раньше, чем через 4 нед от начала лечения, обычно же — через 6 нед. При заболеваниях почек используют меньшие дозы [22, 23].

Особое значение имеет целевой уровень Hb. Существуют руководства (стандарты) авторитетных международных организаций (ASCO, ESMO, ASH, EORTC), рекомендуемые тот или иной целевой уровень Hb (обычно это 110–120 г/л, или 11–12 г/дл). Однако большинство экспертов (например, в последнем пересмотре критериев ASCO) считают целевым уровень Hb 110 г/л (11 г/дл). Он является оптимальным, так как позволяет избежать неконтролируемого роста Hb, продолжающегося после отмены препарата. У больных АХЗ избыточный Hb (особенно в сочетании с быстрым темпом нарастания) сочетается со значительным увеличением числа случаев тромбозов и тромбоэмболий, особенно часто это наблюдается у пациентов со злокачественными новообразованиями. Поэтому имеет смысл подчеркнуть разницу между традиционными ЭСА (например, эритропоэтин-альфа — Эральфон) и дарбэпоэтином-альфа. Структура молекулы последнего обеспечивает длительное воздействие на рецепторы эритроидных предшественников. Это делает возможным более редкое введение препарата, но и не позволяет с необходимой точностью прогнозировать темпы прироста Hb, который может быть чрезмерным и неуправляемым. Это крайне опасно, так как резко повышает риск тромботических осложнений. Уже введенный препарат будет действовать довольно долго, даже если появились абсолютные показания для его отмены (тромбоз). Кроме того, та же избыточная стимуляция эритроидных предшественников иногда приводит к резко выраженным оссалгиям. В частности, мы наблюдали 3 пациентов, у которых после первой инъекции дарбэпоэтина-альфа в течение 3–5 дней возникли резко выраженные костные боли, потребовавшие отмены препарата [24].

Концентрация эндогенного эритропоэтина у больных с анемиями при злокачественных новообразованиях обычно понижена. При этом имеется в виду расчетный показатель, соответствующий глубине анемии, определенный в группе пациентов с ЖДА. Соотношение существующего и ожидаемого содержания эндогенного эритропоэтина известно как индекс О/Р (ожидаемый/расчетный; норма — 1). Больные АХЗ с высокими содержанием эритропоэтина (> 200 ЕД/л)

и индексом О/Р ($> 0,9$) теоретически имеют низкую вероятность ответа на ЭСА. Однако определение концентрации эндогенного эритропоэтина до начала терапии ЭСА вовсе не обязательно. Это связано с тем, что предсказать наступление клинко-гематологического эффекта на основании концентрации эндогенного эритропоэтина далеко не всегда возможно. Действительно, низкое его содержание говорит о большей вероятности ответа на лечение. Однако нередко хороший ответ на применение ЭСА (в том числе полный гематологический ответ) может быть получен и у пациентов с высоким содержанием эндогенного эритропоэтина. Вероятно, это связано со способностью ЭСА преодолевать негативное действие провоспалительных цитокинов на эритропоэз. Ниже приводятся критерии ответной реакции на терапию ЭСА; характерно, что уменьшение потребности в гемотрансфузиях трактуется как позитивный ответ на применение препарата.

Полная ответная реакция:

- нормализация гематокрита.

Значительная (неполная) ответная реакция (все критерии):

- отсутствие необходимости в трансфузиях;
- повышение гематокрита $\geq 6\%$;
- достигнутый гематокрит $\geq 30\%$.

Незначительная ответная реакция (любой из критериев):

- уменьшение необходимости в трансфузиях по крайней мере на 50% ;
- повышение гематокрита $\geq 6\%$, но гематокрит $< 30\%$;
- достигнутый гематокрит $\geq 30\%$, но повышение гематокрита $< 6\%$.

Хорошо известен позитивный эффект ЭСА в отношении коррекции анемии. Действие же на основное заболевание и на другие биологические процессы, кроме эритропоэза, изучено хуже. Однако известно, что ЭСА проявляют иммуномодулирующий эффект путем влияния на целый ряд цитокинов. Так, у больных с терминальной почечной недостаточностью длительное лечение ЭСА снижает уровень ФНО- α . При этом у пациентов, хорошо ответивших на ЭСА, в сравнении с плохо ответившими уменьшен уровень ИЛ-10, ИЛ-12, ИФН- γ и ФНО- α . Эти эффекты ЭСА могут быть полезны, например, при ревматоидном артрите. Показано, что комбинированное лечение ЭСА и железом не только повышает Hb, но и уменьшает активность основного заболевания.

Назначение препаратов железа совместно с ЭСА вызывает традиционные вопросы. Понятно, что оно необходимо при наличии признаков дефицита железа, но даже если эти признаки неочевидны, попытка применения таких препаратов все равно оправдана. Однако по современным представлениям это должны быть препараты железа для внутривенного введения. Так, по некоторым данным, назначение препаратов железа *per os* не увеличивает эффективность ЭСА. В то же время внутривенное

их назначение увеличивает частоту и скорость наступления ответа, улучшает качество жизни и позволяет снизить дозы ЭСА, необходимые для достижения целевого уровня Hb.

Известно, что рецепторы к эритропоэтину найдены на некоторых опухолевых клетках (при раке шейки матки, молочной железы и др.), однако их биологическая роль не вполне ясна. Не совсем понятно, функционируют ли они, а если да, то как. Также непонятно, могут ли ЭСА эффективно взаимодействовать с этими рецепторами. Так, стимуляция клеточных линий отдельных опухолей *in vitro* большими дозами ЭСА не приводила к видимым изменениям в функционировании опухолевых клеток. Возможно, у больных раком молочной железы рецепторы к эритропоэтину и эндогенный эритропоэтин выполняют функцию регуляторов клеточной гипоксии. У этих пациентов высокая экспрессия рецепторов к эритропоэтину сочеталась с неоангиогенезом, опухолевой интоксикацией и инфильтративным ростом опухоли.

В последнее время внимание врачей и ученых, занимающихся проблемой применения ЭСА, привлекли результаты метаанализа большого числа клинических исследований, в которых, в частности, была предпринята попытка выявить связь между вероятностью летального исхода и фактом применения ЭСА. Эти результаты суммированы в 2 больших работах. В первой из них проанализированы результаты 53 клинических исследований, в которых приняли участие 13 933 пациента. Оказалось, что применение ЭСА может быть связано с увеличением риска летального исхода, но эти отличия не были статистически достоверны. Второе исследование показало похожие результаты. Примечательно, что часть включенных в метаанализ клинических исследований продемонстрировали ухудшение выживаемости в группе пациентов, получавших ЭСА, а часть — улучшение; количество этих исследований примерно равное. Отдельные исследования, опубликованные после того, как стали известны результаты метаанализа, не смогли подтвердить отрицательное влияние факта применения ЭСА на исход заболевания [25–27].

Метаанализ большого количества исследований используется все чаще, и его результаты обычно становятся предметом широкой дискуссии. Однако несмотря на то, что статистический инструментарий непрерывно совершенствуется, продолжает вызывать сомнения подход, в котором делается попытка обобщить результаты исследований разных контингентов больных. Кроме того, что контингенты различны, сами исследования имеют разные цели и задачи и изначально используют разную методологию. Поэтому оценка результатов таких исследований затруднительна и напоминает анекдотичную ситуацию с анализом средней температуры всех пациентов в больнице. Вероятно, имеет смысл анализировать исследования в схожих группах пациентов, даже если эти группы будут существенно меньше.

Пожалуй, действительно жизнеугрожающим является риск тромботических и тромбоэмболических осложнений, связанных с применением ЭСА. Как обычно, можно найти исследования, подтверждающие вероятность этого риска и отрицающие ее. Однако, скорее всего, такая взаимосвязь существует, и важное значение имеет темп роста показателей красной крови. Для принятия решения о назначении ЭСА важную роль играют следующие факторы, указывающие на потенциальный риск тромботических осложнений: наличие тромбозов или эмболий в анамнезе, продолжительный период иммобилизации или ограниченной активности, а также длительное применение глюкокортикоидов. При наличии даже одного из этих факторов применение ЭСА возможно лишь с осторожностью [28].

Обобщая сказанное, приведем необходимый перечень данных, которыми должен располагать врач перед назначением ЭСА. Необходимо иметь результаты полного клинического анализа крови (включая число ретикулоцитов) в совокупности (в идеале) с данными миелограммы. Требуется (если необходимо) оценить обмен железа, содержание витамина B₁₂ и фолиевой кислоты в сыворотке крови, выявить возможную кровопотерю и нарушение функции почек. Полезным будет проверить результаты пробы Кумбса (особенно у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями) и концентрацию непрямого билирубина, а также оценить риск тромбозов, как указано выше. Следует подчеркнуть, что не всегда и не все вышеперечисленные тесты являются абсолютно необходимыми. Решение о назначении ЭСА принимает только лечащий врач.

Таким образом, ЭСА эффективны для коррекции анемии и улучшения качества жизни больных с АХЗ. При этом целевой уровень Hb не должен быть выше 110 г/л (11 г/дл). Отсутствуют убедительные данные о том, что применение ЭСА может стимулировать основное заболевание у больных со злокачественными новообразованиями. В то же время возможно увеличение чувствительности клеток опухоли к химиолучевому воздействию вследствие терапии ЭСА. Определение концентрации эндогенного эритропоэтина до начала терапии ЭСА не обязательно и имеет лишь вспомогательное значение. По-видимому, препараты железа для внутривенного введения показаны большей части больных с АХЗ.

Следует учитывать, что функция эритропоэтина не исчерпывается регуляцией эритропоэза. Например, он участвует в важных метаболических процессах, происходящих в кардиомиоцитах, клетках головного мозга. Клинически важно, что зачастую качество жизни у пациента с анемией, получающего ЭСА, может улучшаться и без повышения уровня Hb.

Анемии при гемобластозах: этиология, патогенез, пути коррекции

Анемия является частым осложнением у пациентов с гемобластозами. Существует несколько основных

механизмов, лежащих в основе развития анемического синдрома. У больных с гемобластами, сопровождающимися поражением костного мозга, возможно вытеснение эритроидного пула клетками опухоли. Разумеется, интенсивная и длительная полихимиотерапия также угнетает образование клеток красной крови. Кроме того, достаточно часто могут играть роль механизмы, присущие АХЗ: увеличение количества про- и противовоспалительных цитокинов, задержка всасывания железа в кишечнике и высвобождения его макрофагами, а также сниженная продукция эритропоэтина. Таким образом, врач-гематолог должен иметь в виду, что патогенез анемии у пациента с гемобластом является сложным и многокомпонентным. Возможно участие патогенетических механизмов всех 3 групп анемий. Кроме того, длительные и частые госпитализации пациентов с заболеваниями системы крови, а также необходимость мониторингирования лечебного процесса и неизбежное в подобных ситуациях частое взятие небольших количеств крови в целях последующего анализа приводят к ятрогенному железодефициту. В то же время медикаментозная терапия может способствовать дефициту витамина B_{12} и фолиевой кислоты.

Способы коррекции анемии в гематологическом стационаре. Традиционным способом коррекции анемии в гематологических отделениях являются гемотрансфузии (эритроцитарная масса, отмытые эритроциты). Однако у некоторых групп пациентов с заболеваниями системы крови может быть поставлен вопрос о применении ЭСА. Прежде чем рассмотреть этот вопрос, необходимо обозначить группу заболеваний, при которых такое лечение противопоказано. Прежде всего, это хронические лейкозы миелоидной направленности (хронический миелолейкоз, эссенциальная полицитемия и эссенциальная тромбоцитемия). Противопоказание является следствием того, что клетки эритроидного ряда и предшественники миелопоэза весьма близки и имеют схожий рецепторный аппарат. Теоретически возможно стимулирующее влияние ЭСА на патологический клон при перечисленных выше заболеваниях. Однако следует подчеркнуть, что ни экспериментального, ни клинического подтверждения этой гипотезы не существует.

Отчасти предположение о схожести рецепторного аппарата клеток-предшественников эритроидного ростка с опухолевым клоном может быть применено к острым лейкозиям; кроме того, пациенты с острой лейкозией обычно получают массивную полихимиотерапию с резко выраженным ингибирующим действием на все ростки гемопоэза, поэтому весьма вероятна ситуация, когда для действия ЭСА не окажется клеток-мишеней. Однако нами установлена относительная эффективность применения ЭСА даже у больных, подвергающихся аутологичной трансплантации периферических стволовых клеток (имеются в виду пациенты с множественной миеломой и злокачественными лимфомами). Применение ЭСА привело к восстановле-

нию уровня Hb у реципиентов аутологичных стволовых клеток быстрее, чем в контрольной группе [29].

Весьма противоречивой является ситуация применения ЭСА у пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС). С одной стороны, приведенный выше теоретический посыл об общем рецепторном аппарате клеток-предшественников эритропоэза и клеток злокачественного клона здесь абсолютно верен. Однако, как и в ситуации с острыми лейкозиями, экспериментальные и клинические проявления влияния ЭСА на опухолевый клон отсутствуют либо являются спорными и неполными. Кроме того, необходимо иметь в виду, что собственно анемия (дефицит Hb и клеток красной крови) — главнейший фактор, отвечающий за страдания этой большой группы пациентов. Поэтому попытки применить ЭСА у больных МДС являются регулярными, однако успех наблюдается далеко не всегда. Суммируя результаты этих попыток, можно сказать, что успех отмечается лишь у 20–40 % больных. При этом наилучшие результаты получены у пациентов с рефрактерной анемией и с рефрактерной анемией с избытком кольцевидных сидеробластов (до 44 % из них ответили на терапию). Наихудшие же результаты получены у больных с формами МДС, сопровождающимися бластом. Вероятно, не следует пытаться применять у таких пациентов препараты ЭСА, то же относится к группе больных с обнаруженными цитогенетическими аномалиями. В то же время попытка применения такой терапии у пациентов с рефрактерной анемией и с рефрактерной анемией с избытком кольцевидных сидеробластов, безусловно, оправдана, так как в случае успеха решает все проблемы больного (пациент обычно, кроме анемического синдрома, не страдает ничем). В случае же неуспеха можно будет проводить гемозаместительную терапию. МДС — единственная группа заболеваний, в которой перед назначением ЭСА необходимо проверить концентрацию эндогенного эритропоэтина — препараты не назначаются при концентрации выше 500 МЕ/мл [30–33].

Целевой группой гематологических больных для назначения препаратов ЭСА являются пациенты с лимфомами (как с лимфомой Ходжкина, так и с неходжкинскими) и множественной миеломой. Если наличие анемии не связано с гемолизом, а также с нехваткой витамина B_{12} , фолиевой кислоты или железа, лечение успешно более чем у 50 % пациентов. Если же связано — перечисленные выше дефициты легко устранимы. Дозы и режимы введения препаратов ЭСА подробно описаны выше и применимы в гематологической практике. В настоящее время оптимальным представляется режим 12 000 МЕ 3 раза в неделю, поскольку позволяет эффективно мониторировать терапию и быстро достигать ответа на лечение.

Гемозаместительная терапия применяется у всех пациентов, у которых неприменимо или неэффективно лечение ЭСА. При этом необходимо помнить о наличии гемотрансмиссивных инфекций (гепатиты, вирус имму-

нодефицита человека и др.) и учитывать возможность трансфузионных реакций. Длительные трансфузии приводят к избытку железа в организме, который потенци-

ально опасен для органов и систем (печень, сердце и др.). У подобных больных проводится хелаторная терапия с целью связывания и элиминации железа (деферализокс).

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Вуд М.Э., Банн П.А. Секреты гематологии и онкологии. М.: Бином, 1997. 560 с. [Vud M.E., Bann P.A. Secrets of hematology and oncology. Moscow: Binom, 1997. 560 p. (In Russ.)].
2. Руководство по гематологии. Под ред. А.И. Воробьева. Т. 3. М.: Ньюдиамед, 2005. 415 с. [Hematology guide. Ed. by A.I. Vorob'ev. Vol. 3. Moscow: Newdiamed, 2005. 415 p. (In Russ.)].
3. Новик А.А., Богданов А.Н. Анемия (от А до Я). Руководство для врачей. СПб.: Нева, 2004. 250 с. [Novik A.A., Bogdanov A.N. Anemia (A to Z). Medical guidelines. St. Petersburg: Neva, 2004. 250 p. (In Russ.)].
4. Болезни крови пожилых. Под ред. М.Дж. Дэнхэма, И. Чанарина. М.: Медицина, 1989. 480 с. [Blood disorders in the elderly. Ed. by M.J. Denhem, I. Chanarin. Moscow: Meditsina, 1989. 480 p. (In Russ.)].
5. Павлов А.Д., Моршачкова Е.Ф., Румянцев А.Г. Эритропоэз, эритропоэтин, железо. М.: ГЭОТАР-медиа, 2011. 299 с. [Pavlov A.D., Morshchakova E.F., Rumyantsev A.G. Erythropoiesis, erythropoietin, iron. Moscow: GEOTAR-media, 2011. 299 p. (In Russ.)].
6. Шифман Ф.Дж. Патофизиология крови. М.: Бином; СПб.: Невский диалект, 2000. 451 с. [Shiffman F.J. Blood pathophysiology. Moscow: Binom; St. Petersburg: Nevskiy dialekt, 2000. 451 p. (In Russ.)].
7. Cartwright G.E., Wintrobe M.M. The anemia of infection: a review. *Adv Intern Med* 1952;5:165–226.
8. Arezes J., Nemeth E. Hepsidin and iron disorders: new biology and clinical approaches. *Int J Lab Hematol* 2015;37 Suppl 1:92–8.
9. Jurado R.L. Iron, infections, and anemia of inflammation. *Clin Infect Dis* 1997;25(4):888–95.
10. Ganz T. Hepsidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102(3):783–8.
11. Nicolas G., Bennoun M., Porteu A. et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(7):4596–601.
12. Andrews N.C. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. *J Clin Invest* 2004;113(9):1251–3.
13. Park S., Jung C.W., Kim K. et al. Iron deficient erythropoiesis might play key role in development of anemia in cancer patients. 2015;6(40):42803–12.
14. Ludwig H., Fritz E., Leitgeb C. et al. Prediction of response to erythropoietin treatment in chronic anemia of cancer. *Blood* 1994;84(4):1056–63.
15. Schilling R.F. Anemia of chronic disease: a misnomer. *Ann Intern Med* 1991;115(7):572–3.
16. Weiss G., Goodnough L.T. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005;352(10):1011–23.
17. Wilson A., Reyes E., Ofinan J. Prevalence and outcomes of anemia in inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am J Med* 2004; 116 Suppl 7A:44S–9S.
18. Steinmetts T., Tschechne B., Harlin O. et al. Clinical experience with ferric carboxymaltose in treatment of cancer- and chemotherapy-associated anemia. *Ann Oncol* 2013;24(2):475–82.
19. Maury C.P., Liljestrom M., Laiho K. et al. Tumor necrosis factor alpha, its soluble receptor I, and -308 gene promoter polymorphism in patients with rheumatoid arthritis with or without amyloidosis: implications for the pathogenesis of nephropathy and anemia of chronic disease in reactive amyloidosis. *Arthritis Rheum* 2003;48(11):3068–70.
20. Brissot P., Ropert M., Lee L.C., Loreal O. Non-transferrin bound iron: a key role in iron overload and iron toxicity. *Biochim Biophys Acta* 2012;1820(3):403–10.
21. Tarantino G., Brilli E., Giordano G., Torelli A. Innovative oral iron supplement (sucrosomial iron) is able to downregulate hepsidin release during inflammation: *in vitro* study. *Blood* 2015;126:4563–5.
22. Rizzo J.D., Brouwers M., Hurley P. et al. American Society of Hematology/American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update on the use epoetin and darbepoetin in adult patients with cancer. *Blood* 2010;116(20):4045–59.
23. Stenvinkel P. The role of inflammation in the anaemia of end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16 Suppl 7: 36–40.
24. Дрозд М.В., Ермолин В.В., Рукавицын О.А. и др. Болевой синдром (оссалгии) на фоне применения стимуляторов эритропоэза: случайность или побочный эффект? В сб.: Тезисы Всероссийской юбилейной конференции ГВКГ им. Н.Н. Бурденко. М., 2010. С. 207–8. [Drozd M.V., Ermolin V.V., Rukavitsyn O.A. et al. Pain (ossalgia) during treatment with erythropoiesis stimulants: a coincidence or a side effect? In: Abstract book of Russian Anniversary Conference of N.N. Burdenko Main Military Clinical Hospital. Moscow, 2010. Pp. 207–8. (In Russ.)].
25. Bohlius J., Schmidlin K., Brillant C. et al. Recombinant human erythropoiesis-stimulating agents and mortality in patients with cancer: a meta-analysis of randomized trials. *Lancet* 2009;373(9674):1532–42.
26. Glaspy J., Crawford J., Vansteenkiste J. et al. Erythropoiesis-stimulating agents in oncology: a study-level meta-analysis of survival and other safety outcomes. *Br J Cancer* 2010;102(2):301–15.
27. Tsuboi M., Ezaki K., Tobinai K. et al. Weekly administration of epoetin beta for chemotherapy-induced anemia in cancer patients: results of multicenter, phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Jpn J Clin Oncol* 2009;39(3):163–8.
28. Levine M.N., Lee A.Y., Kakkar A.K. Thrombosis and cancer. *Am Soc Clin Oncol Ed Book*. 2005. Pp. 748–57.
29. Дрозд М.В. Анемия у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями: патогенетические особенности и возможности терапии. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2007. [Drozd M.V. Anemia in patients with lymphoproliferative diseases: pathogenetic features and therapy options. Author's abstract of thesis ... of candidate of medicine. Moscow, 2007. (In Russ.)].
30. Aul C., Bowen D.T., Yoshida Y. Pathogenesis, ethiology and epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Hematologica* 1998;83(1):71–86.
31. Geary C.C., Marsh J.C., Gordon-Smith E.C. Hypoplastic myelodysplasia (MDS). *Br J Haematol* 1996;94(3):579–84.
32. Rarcharidou A., Raza A., Economopoulos T. Extensive apoptosis of bone marrow cells as evaluated by the in situ end-labelling (ISEL) technique may be the basis for ineffective haematopoiesis in patients with myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 1999;62(1):19–26.
33. Ross S.D., Allen I.E., Probst C.A. et al. Efficacy and safety of erythropoiesis-stimulating proteins in myelodysplastic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Oncologist* 2007;12(10):1264–73.

Экстракорпоральный фотоферез в лечении реакции «трансплантат против хозяина»

И.В. Гуз, П.Е. Трахтман

ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России;
Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

Контакты: Илья Валерьевич Гуз ilikis@mail.ru

Экстракорпоральный фотоферез доказал свою практическую эффективность в лечении хронической реакции «трансплантат против хозяина» после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и представляет собой альтернативу другим методам лечения. К его преимуществам относятся хорошая переносимость, отсутствие ограничений по возрасту, минимум инфекционных осложнений по сравнению с последствиями увеличения иммуносупрессии. Этот метод терапии дает реальное улучшение качества жизни.

Ключевые слова: аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, экстракорпоральный фотоферез, реакция «трансплантат против хозяина», 8-метоксипсорален

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-47-51

Extracorporeal photopheresis in the treatment of graft-versus-host disease

I. V. Guz, P. E. Trachtman

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

Extracorporeal photopheresis has proved efficacy in the treatment of chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and is an alternative to other treatments. This method is characterized by good tolerability, the lack of age restrictions, minimum of infectious complications compared to increasing immunosuppression. This therapy gives a real improvement in the quality of life.

Key words: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, extracorporeal photopheresis, graft-versus-host disease, 8-methoxypsoralen

Экстракорпоральный фотоферез (ЭКФФ), также называемый «фотоферез» и «экстракорпоральная фотохимиотерапия», — это многоэтапный процесс, при котором мононуклеарные клетки пациента, выделенные методом афереза, подвергаются стандартной дозе облучения ультрафиолетом А (УФА) (приблизительно 1,5 Дж/см²) с использованием светочувствительного препарата 8-метоксипсоралена (8-МОП) в концентрации 60–200 нг/мкл. Процедура ЭКФФ с конца 1980-х годов применяется для паллиативного лечения кожных проявлений у пациентов с кожной Т-клеточной лимфомой (КТКЛ) как альтернатива ПУВА-терапии (псорален + УФА) для минимизации побочных эффектов, связанных с приемом псоралена. На сегодняшний день область применения ЭКФФ значительно расширилась и включает помимо КТКЛ ряд аутоиммунных заболеваний, отторжение трансплантированных солидных органов, а также реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ) после проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) [1] (см. таблицу).

ЭКФФ проводится в несколько этапов (рис. 1):

- 1) лейкоферез примерно 3–10 % циркулирующих мононуклеарных клеток;
- 2) добавление в собранный продукт 8-МОП в дозе 20 мкг/мл;
- 3) фотодинамическое воздействие: облучение УФА с экспозицией 1–2 Дж/см²;
- 4) переливание обработанных клеток пациенту [1, 3].

Биологический механизм действия ЭКФФ заключается в том, что под влиянием УФА в присутствии фотосенсибилизатора 8-МОП происходит необратимое сшивание ДНК в ядрах лимфоцитов, что приводит к их апоптозу. Но не только процесс апоптоза лимфоцитов обеспечивает иммуномодулирующее действие ЭКФФ, обуславливающее его эффективность при различных иммунных расстройствах (КТКЛ, аутоиммунные заболевания, РТПХ и отторжение трансплантатов солидных органов). Как полагают, ЭКФФ способен оказывать два совершенно противоположных эффекта: иммуностимулирующий против опухолевых клеток при КТКЛ и иммуносупрессивный при Т-клеточно-опосредованных нарушениях, например РТПХ [1].

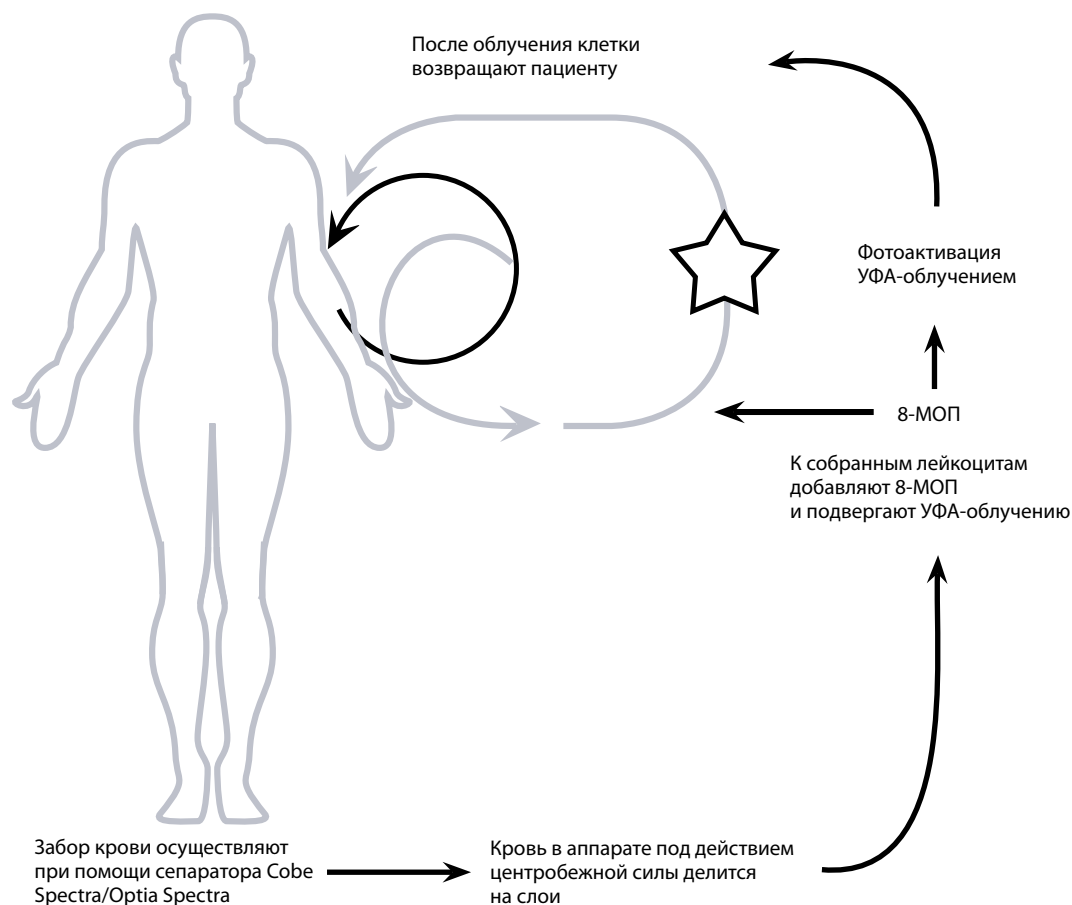


Рис. 1. Схема процедуры ЭКФФ [3]

Категории, разработанные Американским обществом терапевтического афереза (ASFA) для ЭКФФ [2]

Заболевание	Категория	Рекомендуемая степень
Отторжение сердечного аллотрансплантата: профилактика лечение	I II	1A 1B
КТКЛ; фунгоидный микоз; синдром Сезари: эритродермическая форма неэритродермическая форма	I III	1B 2C
РТПХ: кожная (хроническая) кожная (острая) некожная (острая/хроническая)	II II III	1B 2C 2C
Отторжение легочного трансплантата	II	1C
Нефрогенный системный фиброз	III	2C
Вульгарный пемфигус	III	2C
Склеродермия (системный прогрессирующий склероз)	IV	1A

Примечание. I категория — стандартная терапия; II — вторичная терапия; III — оптимальная стратегия не разработана; IV — не эффективен в контролируемых исследованиях.

Было продемонстрировано, что наиболее чувствительны к фотодинамическому воздействию клетки Сезари и нормальные Т-клетки. Моноциты CD14⁺/CD45⁺, напротив, оказались устойчивы к данной процедуре [4]. Также было обнаружено, что собранные во время афереза моноциты подвергаются дифференцировке в дендритные клетки, способные к фагоцитозу [5, 6], но этот процесс не связан с псорален-индуцированной фотоактивацией, а происходит главным образом за счет контакта клеток с пластиком и другими синтетическими материалами при прохождении через систему фотофереза [6]. После фагоцитоза подверженных апоптозу опухолевых клеток эти дендритные клетки способны представлять опухолевые антигены, таким образом иницируя иммунный ответ [7].

Имеются данные, что фагоцитирование собственных апоптотических клеток дендритными клетками способно индуцировать толерантность к собственным антигенам [8]. Кроме того, было обнаружено, что данный процесс переключает активность дендритных клеток в пользу противовоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин (ИЛ) 10 и ИЛ-1Ra, и стимулирует выработку регуляторных Т-клеток. Также предполагается, что процедура ЭКФФ через активацию синтеза ИЛ-10 индуцирует продукцию регуляторных В-клеток и регуляторных CD8⁺ Т-клеток (рис. 2) [1].

роиды являются стандартной начальной терапией оРТПХ и эффективны у 25–69 % пациентов, но больные, резистентные к данной терапии, имеют неблагоприятный прогноз и плохую выживаемость [20].

В настоящее время опыт применения ЭКФФ для лечения оРТПХ ограничен. В проспективном рандомизированном исследовании II фазы по оценке влияния ЭКФФ на стероид-зависимую или стероид-резистентную формы оРТПХ полный ответ был достигнут у 82 % пациентов с кожной, 61 % с печеночной и 61 % с кишечной оРТПХ [21]. Вероятность выживания составила 59 % среди больных, которые полностью ответили на ЭКФФ, по сравнению с 11 % у пациентов с неполным ответом. Раннее начало ЭКФФ приводило к заметному улучшению показателей общего ответа на терапию, особенно у больных с поражением желудочно-кишечного тракта и IV степенью стероид-резистентных форм оРТПХ [22].

По данным метаанализа Н. Zhang и соавт., частота общего ответа на ЭКФФ при лечении оРТПХ составила 71 %, при этом эффективность ЭКФФ при кожной форме оРТПХ достигала 86 %, при печеночной форме – 60 % и при кишечной – 68 % [23].

Е. Holler и соавт. [2] провели исследование по сравнению эффективности ЭКФФ при оРТПХ и хРТПХ. В исследование были включены в общей сложности 34 стероид-резистентных пациента с оРТПХ и 37 больных с хРТПХ. Было продемонстрировано, что ответ на ЭКФФ при оРТПХ зависел от степени тяжести и от 1-й линии терапии. Ответ на ЭКФФ был хуже при вовлечении в патологический процесс внутренних органов. Общий ответ на терапию ЭКФФ в данной когорте пациентов составил 65 %, при этом среди больных со II степенью оРТПХ – 87 %, с III степенью – 67 %, и ни один пациент с IV степенью не ответил на ЭКФФ. Количество собранных при процедуре афереза клеток, гематологические показатели до процедуры афереза, тип донора и источник гемопоэтических стволовых клеток не влияли на ответ. Выживаемость в группе пациентов с оРТПХ составила 50 %, среди них со II степенью – 81 %, с III степенью – 33 % и с IV степенью – 0 % ($p < 0,0008$). На выживаемость также не влияли количество собранных клеток и гематологические показатели до процедуры афереза.

Частота ответа у пациентов с хРТПХ в проведенном метаанализе составила 81 %. К факторам, ассоциированным с большей частотой ответа на ЭКФФ,

относилось использование в качестве источника гемопоэтических стволовых клеток костного мозга ($p = 0,02$), неродственный донор ($p = 0,006$), женский пол пациента ($p = 0,05$) и лимитированная степень хРТПХ ($p = 0,027$). Количество собранных лимфоцитов на килограмм массы тела в течение первых 8 процедур ЭКФФ было связано с более высокими показателями ответа на его проведение ($p = 0,037$). Десятилетняя выживаемость пациентов с хРТПХ составила 50 %. Две переменные оказывали существенное неблагоприятное воздействие на выживаемость при хРТПХ: мужской пол (25 % против 67 %; $p = 0,01$) и экстенсивная форма течения хРТПХ (20 % против 67 %; $p = 0,003$). Количество собранных клеток не оказывало никакого влияния на выживаемость [2]. Опыт применения ЭКФФ у детей гораздо более ограничен, однако по имеющимся данным можно считать, что его эффективность сопоставима с результатами, полученными у взрослых [24–26].

К настоящему времени в мире выполнено более 500 тыс. процедур ЭКФФ. Частота зарегистрированных побочных эффектов остается крайне низкой ($< 0,003$ %), при этом подавляющее число осложнений было связано с функционированием долгосрочного сосудистого доступа [27]. Не обнаружено никаких различий в количестве бактериальных и грибковых эпизодов при применении ЭКФФ; частота вторичных злокачественных новообразований в группе пациентов, получающих ЭКФФ, не увеличивалась [25, 28]. По мнению Е. Calore и соавт., ЭКФФ эффективен в сдерживании вирусной реактивации, что связано с его иммуномодулирующим действием [25]. Однако у пациентов могут наблюдаться побочные эффекты, ассоциированные с введением в организм фотосенсибилизаторов, поэтому рекомендуется применять стандартные меры предосторожности от избыточного воздействия ультрафиолета [29].

В результате проведенных исследований положительный эффект от использования ЭКФФ при лечении оРТПХ и хРТПХ может считаться доказанным, однако существует ряд нерешенных вопросов, связанных с не до конца изученным механизмом действия фототерапии, влиянием сроков начала и окончания курсов лечения, формированием единых критериев оценки эффективности. Ответы на эти вопросы необходимо получить в ходе будущих рандомизированных исследований.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Hart J.W., Shiue L.H., Shpall E.J., Alousi A.M. Extracorporeal photopheresis in the treatment of graft-versus-host disease: evidence and opinion. *Ther Adv Hematol* 2013;4(5):320–34.

2. Holler E. Risk assessment in haematopoietic stem cell transplantation: GvHD prevention and treatment. *Best Pract Res Clin Haematol* 2007;20(2):281–94.

3. Wörel N., Leitner G. Clinical results of extracorporeal photopheresis. *Transfus Med Hemother* 2012;39(4):254–62.

4. Yoo E.K., Rook A.H., Elenitsas R. et al. Apoptosis induction of ultraviolet light A and

- photochemotherapy in cutaneous T-cell lymphoma: relevance to mechanism of therapeutic action. *J Invest Dermatol* 1996;107(2):235–42.
5. Berger C.L., Xu A.L., Hanlon D. et al. Induction of human tumor-loaded dendritic cells. *Int J Cancer* 2001;91(4):438–47.
6. Knobler R., Berlin G., Calzavara-Pinton P. et al. Guidelines on the use of extracorporeal photopheresis. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2014;28 Suppl 1:1–37.
7. Edelson R.L. Photopheresis: a clinically relevant immunobiologic response modifier. *Ann NY Acad Sci* 1991;636:154–64.
8. Steinman R.M., Turley S., Mellman I., Inaba K. The induction of tolerance by dendritic cells that have captured apoptotic cells. *J Exp Med* 2000;191(3):411–6.
9. Stewart B.L., Storer B., Storek J. et al. Duration of immunosuppressive treatment for chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2004;104(12):3501–6.
10. Lee S.J., Vogelsang G., Flowers M.E. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003;9(4):215–33.
11. Carlsen S., Ringden O., Remberger M. et al. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation: a retrospective single centre analysis. *Bone Marrow Transplant* 1998;22(8):755–61.
12. Anasetti C., Logan B.R., Lee S.J. et al. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med* 2012;367(16):1487–96.
13. Owsianowski M., Gollnick H., Siegert W. et al. Successful treatment of chronic graft-versus-host disease with extracorporeal photopheresis. *Bone Marrow Transplant* 1994;14(5):845–8.
14. Flowers M.E., Inamoto Y., Carpenter P.A. et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood* 2011;117(11):3214–9.
15. Flowers M.E., Apperley J.F., van Besien K. et al. A multicenter prospective phase 2 randomized study of extracorporeal photopheresis for treatment of chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2008;112(7):2667–74.
16. Malik M.I., Litzow M., Hogan W. et al. Extracorporeal photopheresis for chronic graft-versus-host disease: a systematic review and meta-analysis. *Blood Res* 2014;49(2):100–6.
17. Hahn T., McCarthy P.L. Jr, Zhang M.J. et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplants for adults with leukemia. *J Clin Oncol* 2008;26(35):5728–34.
18. Bolaños-Meade J., Vogelsang G.B. Novel strategies for steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Curr Opin Hematol* 2005;12(1):40–4.
19. Wolff D., Ayuk F., Elmaagacli A. et al. Current practice in diagnosis and treatment of acute graft-versus-host disease: results from a survey among German-Austrian-Swiss hematopoietic stem cell transplant centers. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19(5):767–76.
20. Deeg H.J. How I treat refractory acute GVHD. *Blood* 2007;109(10):4119–26.
21. Greinix H.T., Knobler R.M., Worel N. et al. The effect of intensified extracorporeal photochemotherapy on long-term survival in patients with severe acute graft-versus-host disease. *Haematologica* 2006;91(3):405–8.
22. Greinix H.T., Worel N., Knobler R. Role of extracorporeal photopheresis (ECP) in treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16(12):1747–8.
23. Zhang H., Chen R., Cheng J. et al. Systematic review and meta-analysis of prospective studies for ECP treatment in patients with steroid-refractory acute GVHD. *Patient Prefer Adherence* 2015;9:105–11.
24. Kanold J., Merlin E., Halle P. et al. Photopheresis in pediatric graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation: clinical practice guidelines based on field experience and review of the literature. *Transfusion* 2007;47(12):2276–89.
25. Calore E., Calò A., Tridello G. et al. Extracorporeal photochemotherapy may improve outcome in children with acute GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2008;42(6):421–5.
26. Messina C., Locatelli F., Lanino E. et al. Extracorporeal photochemotherapy for paediatric patients with graft-versus-host disease after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2003;122(1):118–27.
27. Klassen J. The role of photopheresis in the treatment of graft-versus-host disease. *Curr Oncol* 2010;17(2):55–8.
28. Couriel D., Hosing C., Saliba R. et al. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of steroid-resistant chronic GVHD. *Blood* 2006;107(8):3074–80.
29. Foss F., Gorgun G., Miller K. Extracorporeal photopheresis in chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2002;29(9):719–25.

Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток для консолидации ремиссии острого миелобластного лейкоза с факторами неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания

Г.Д. Петрова, К.Н. Мелкова, Н.В. Горбунова, Т.З. Чернявская, В.А. Доронин,
В.Н. Кострыкина, О.П. Трофимова, Л.Ю. Гривцова, Н.Н. Тупицын

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23

Контакты: Галина Дмитриевна Петрова galina_petrova@bk.ru

Введение. Роль аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) у взрослых больных острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) с факторами неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания сегодня окончательно не определена.

Цель работы — представить результаты одноцентрового проспективного исследования эффективности аутоТГСК у больных ОМЛ с факторами неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания.

Материалы и методы. С 2007 по 2014 г. в исследование были включены 42 пациента с первичным ОМЛ с 1 или более факторами неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания. АутоТГСК была выполнена 16 пациентам (из них 9 — женщины) в возрасте 20–57 лет (медиана 38 лет) без доступного совместимого аллогенного (родственного или неродственного) донора. В целях выявления роли отдельных прогностических факторов проводили анализ зависимости отдаленных результатов от различных показателей в дебюте ОМЛ и характеристик аутоТГСК.

Результаты. При медиане наблюдения 49 мес (диапазон 5–86 мес) 5-летние показатели общей, бессобытийной и безрецидивной выживаемости составили 47, 47 и 51 % соответственно. Показатели летальности, связанной с трансплантацией, через 100 дней и 2 года после выполнения аутоТГСК составили 0 и 6 % соответственно. Развитие рецидива ОМЛ отмечено у 44 % больных. В ходе поискового анализа выявлено благоприятное прогностическое влияние на общую выживаемость включения тотального терапевтического облучения в состав режима кондиционирования перед аутоТГСК ($p = 0,045$).

Заключение. Проведение аутоТГСК у больных в ремиссии ОМЛ с факторами неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания оказывает длительный противоопухолевый эффект. При отсутствии полностью совместимого аллогенного донора выполнение аутоТГСК можно рассматривать в качестве альтернативного варианта лечения.

Ключевые слова: острый миелобластный лейкоз, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, тотальное терапевтическое облучение, факторы неблагоприятного прогноза

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-52-61

Autologous hematopoietic stem cell transplantation in remission consolidation of acute myeloid leukemia with initially unfavorable prognostic factors

G.D. Petrova, K.N. Melkova, N.V. Gorbunova, T.Z. Chernyavskaya, V.A. Doronin, V.N. Kostrykina,
O.P. Trofimova, L. Yu. Grivtsova, N.N. Tupitsyn

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia

Introduction. The role of autologous hematopoietic stem cell transplantation (autoHSCT) in adult patients with acute myeloid leukemia (AML) with poor prognosis factors is not completely defined.

Purpose: to present the results of a multicenter prospective study of autoHSCT efficacy in AML patients with initially unfavorable prognostic factors.

Materials and methods. From 2007 to 2014, 42 patients with primary AML with one or more poor prognosis factors were included in the study. AutoHSCT was performed in 16 patients (9 women) aged 20–57 years (median 38 years) without available compatible allogeneic (related or unrelated) donor. In order to identify the role of different prognostic factors the long-term results were analyzed.

Results. With a median follow up of 49 months (range 5–86 months) 5-years overall survival, event-free survival and relapse-free survival were 47, 47 and 51 %, respectively. Rate of mortality associated with transplantation in 100 days and 2 years after autoHSCT reached 0 and 6 %, respectively. AML relapse was observed in 44 % of patients. Favorable prognostic influence of total body irradiation in conditioning regimens on the overall survival has been identified ($p = 0.045$).

Conclusion. AutoHSCT in AML patients with initially poor prognosis factors has a long-term anti-tumor effect. In the absence of a fully compatible allogeneic donor, autoHSCT may be considered as an alternative treatment.

Key words: acute myeloid leukemia, autologous hematopoietic stem cells transplantation, total body irradiation, unfavorable prognostic factors

Введение

В ходе многочисленных исследований было показано, что эффективность индукционной химиотерапии (ХТ) и отдаленные результаты лечения больных острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) во многом обусловлены рядом факторов прогноза, начиная с дебюта заболевания, таких как молекулярно-цитогенетические характеристики ОМЛ, число лейкоцитов в периферической крови, возраст пациента, интенсивность ХТ, а также ответ на 1-й курс индукции ремиссии [1].

Одним из важнейших признаков неблагоприятного течения ОМЛ, как для индукции ремиссии, так и для исходов терапии, являются молекулярно-цитогенетические маркеры. Однако даже по данным крупных международных исследований у значительной доли больных молекулярно-цитогенетический профиль в дебюте заболевания неизвестен. В таких случаях могут оказаться полезными другие сведения, например результаты иммунофенотипирования клеток опухоли [2–5].

Сводные данные по признакам прогноза эффективности индукционной ХТ представлены в табл. 1.

Таблица 1. Факторы прогноза в дебюте ОМЛ [1, 6]

Факторы	Прогноз	
	благоприятный	неблагоприятный
ОМЛ	Первичный	Вторичный
Подтип по классификации Всемирной организации здравоохранения	CBF-ОМЛ*	ОМЛ с мультилинейной дисплазией, острый мегакариоцитарный лейкоз, острый эритроцитарный лейкоз, острый базофильный лейкоз
Подтип по классификации FAB	M3, M4эо	M0, M5a, N5b, M6, M7
Молекулярно-цитогенетические признаки	inv(16), t(8;21), t(15;17)	Комплексные (≥ 3) нарушения кариотипа; -5, -7, 5q-, 7q-, Поломки 11q23, t(6;9), FLT3-мутация без NPM1-мутации, высокая экспрессия BAALC
Экстремедулярное поражение, в том числе центральной нервной системы	Нет	Есть
Иммунофенотип	CD13, CD33, CD117, CD65, MPO	CD7, CD11b, CD34, CD56
Лейкоцитоз в дебюте	< 20 тыс./мкл	> 100 тыс./мкл

Примечание. *CBF-ОМЛ – ОМЛ, ассоциированный с нарушением функции CBF (core-binding factor – гетеродимерный транскрипционный комплекс). Больные, которые не соответствуют ни одной группе, относятся к группе промежуточного (стандартного) прогноза.

Ответ на индукционную ХТ и характеристики ХТ также являются важными факторами, влияющими на прогноз течения ОМЛ. Так, необходимость проведения более 1 курса ХТ для достижения 1-й ремиссии рассматривается большинством исследователей как неблагоприятный прогностический признак. В свою очередь, несоблюдение доз препаратов и сроков лечения ухудшает отдаленные результаты терапии и служит причиной исключения пациентов из протоколов лечения [7].

Совокупность прогностических факторов часто влияет на выбор терапевтической тактики, включая показания к выполнению трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Например, в рекомендациях Европейской группы по трансплантации костного мозга (European Group for Blood and Marrow Transplantation, EBMT) 2015 г. (табл. 2) при формировании категорий риска ОМЛ учитываются такие признаки, как лейкоцитоз, молекулярно-цитогенетические характеристики в дебюте заболевания, а также время до достижения ремиссии [8]. В руководстве Национальной онкологической сети (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) США молекулярно-цитогенетические характеристики ОМЛ в дебюте заболевания являются определяющими для выбора типа консолидации ремиссии [9].

Методом выбора консолидации ремиссии ОМЛ является аллогенная ТГСК (аллоТГСК), излечивающий потенциал которой хорошо известен. Так, при выполнении родственной HLA-идентичной трансплантации в 1-й ремиссии выживаемость, свободная от болезни (ВСБ), достигает 50–70 %, а частота развития рецидивов значительно ниже, чем после ХТ и аутологичной ТГСК (аутоТГСК). Однако применение данного эффективного метода резко ограничивается доступностью идентичного донора, отягощенным соматическим статусом больных старшего возраста, а также сравнительно более высокой летальностью, связанной с трансплантацией (ЛСТ) [10]. При редукции интенсивности кондиционирования для снижения ЛСТ в группе реципиентов аллоТГСК старше 50 лет частота рецидива возрастает, что приводит к идентичным с аутоТГСК показателям ВСБ [11]. Более того, по данным ретроспективного анализа Н.М. Lazarus и соавт., показатели бессобытийной выживаемости (БСВ) после выполнения аутоТГСК существенно превосходят таковые у реципиентов неродственной аллоТГСК [12]. Вместе с тем в большинстве крупных исследований 5-летняя общая выживаемость (ОВ) после алло- и аутоТГСК сопоставима и находится на уровне 50 %. Выполнимость и обнадеживающие результаты применения аутоТГСК были показаны еще в ранних исследованиях. Показатели ОВ, БСВ и ВСБ через 5 лет после выполнения аутоТГСК в 1-й ремиссии ОМЛ составляют около 40–50 % вне зависимости от прогноза заболевания [13]. Консолидация ремиссии с аутоТГСК позволяет сократить частоту возникновения рецидивов

Таблица 2. Показания к ТГСК у взрослых больных ОМЛ

Статус заболевания	Тип донора			
	аллоТГСК			аутоТГСК
	HLA-идентичный сиблинг	HLA-идентичный неродственный донор	HLA-неидентичный неродственный донор	
1-я ремиссия (низкий риск)	КО	Д	НР	КО
1-я ремиссия (промежуточный риск)	Ст	КО	Д	Ст
1-я ремиссия (высокий риск)	Ст	Ст	КО	КО
2-я ремиссия	Ст	Ст	КО	КО
3-я ремиссия, нелеченый рецидив	Ст	КО	Д	НР
МЗ, молекулярная персистенция	Ст	КО	НР	НР
МЗ, 2-я молекулярная ремиссия	Ст	КО	НР	Ст
Рецидив или рефрактерность	КО	КО	Д	НР

Примечание. Ст — стандарт лечения; КО — клиническая опция; НР — не рекомендовано; Д — дискутабельно (в рамках клинических исследований); HLA — human leukocyte antigen (система лейкоцитарных антигенов человека).

ОМЛ, а в ряде случаев улучшить безрецидивную выживаемость (БРВ) по сравнению с ХТ [14]. В одном из крупных исследований по сравнению аутоТГСК с ХТ частота рецидива была значимо ниже после аутоТГСК (37 % против 58 %; $p = 0,0007$), а ВСВ — выше (53 % против 40 %; $p = 0,004$) [15]. При этом связанные с аутоТГСК риски, в том числе ЛСТ на уровне 4–15 %, не оказывают значимого отрицательного влияния на отдаленные результаты лечения.

Эффективность трансплантации зависит от многих факторов: состава и степени интенсивности предтрансплантационной ХТ, режима кондиционирования (РК), источника гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), общего статуса больного, степени коморбидности, комплаентности и т. д. В одном из недавних исследований также была показана ассоциация длительного восстановления гемопоэза (нейтрофилов и тромбоцитов) в посттрансплантационном периоде с улучшением отдаленных результатов после аутоТГСК (ОВ и БРВ) [16].

В настоящем сообщении представлены предварительные результаты проспективного исследования эффективности аутоТГСК у взрослых больных в ремиссии ОМЛ с факторами неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания, лечение которых в отсутствие доступного аллогенного донора представляет особо сложную проблему. Мы также проанализировали факторы, которые могут оказывать влияние на ОВ, БРВ и БСВ.

Материалы и методы

Исследование было проведено на базе отделения интенсивной химиотерапии и трансплантации костного мозга РОНЦ им Н.Н. Блохина. В исследование включались взрослые больные моложе 60 лет в ремиссии ОМЛ с факторами неблагоприятного прогноза

в дебюте заболевания, имеющие потенциального родственного донора-сиблинга или не имеющие доступного HLA-идентичного донора (ни родственного, ни неродственного) по результатам поиска, проведенного на этапе индукции ремиссии. Диагноз ОМЛ формулировался в соответствии с классификацией FAB, исключались пациенты с ОМЛ МЗ. Неблагоприятный прогноз для пациентов в 1-й ремиссии ОМЛ определялся по факторам в дебюте заболевания в соответствии с табл. 1, а также в случае, если 1-я ремиссия была достигнута после 2 и более циклов индукционной ХТ. К прогностически неблагоприятной группе были отнесены также больные во 2-й ремиссии ОМЛ. При наличии сиблингов после включения в исследование во всех случаях проводился поиск родственного и при необходимости неродственного донора; отказ от поиска донора служил причиной исключения из исследования. Пациентам, у которых был найден совместимый донор, планировалось проведение аллоТГСК. Больным, не имеющим идентичного донора, предполагалось выполнение аутоТГСК. После включения в исследование проводились заготовка ГСК для аутоТГСК и в обязательном порядке до выполнения аутоТГСК — курс консолидации ремиссии с включением высоких доз цитозин-арабинозида (ВД-ЦА).

Всего с 2006 по 2014 г. были включены 42 пациента (23 женщины и 19 мужчин) в возрасте 15–59 лет. Сиблинги имелись у 26 больных, в 14 случаях они оказались идентичны. Фактически в дальнейшем аллоТГСК была выполнена 11 из 14 больных. Выполнимость программы составила 79 %, основной причиной отказа от проведения аллоТГСК стала тяжелая сопутствующая патология (вторая опухоль, тяжелый острый вирусный гепатит С, рефрактерный мукормикоз). У 28 пациентов, не имеющих доступного родственного или нерод-

ственного донора, предполагалось выполнение ауто-ТГСК. Из 28 больных заготовку ГСК не проводили в 3 случаях (2 — отказ пациента, 1 — острый вирусный гепатит С). Мобилизацию ГСК выполняли у 25 пациентов в стабильной фазе гемопоэза гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ) в дозе 10–16 мкг/кг/день. В качестве источника ГСК для аутоТГСК рассматривали костный мозг (КМ) и/или стволовые клетки периферической крови (СКПК). Сбор СКПК осуществляли с помощью специальной программы для сбора мононуклеаров на сепараторе клеток крови Amicus (Baxter). Эффективность мобилизации оценивали лабораторно по количеству полученных CD34⁺-клеток и ядросодержащих клеток (ЯСК) и клинически — по срокам и стабильности приживления ГСК после аутотрансплантации. Целевое значение ГСК, достаточное для проведения 1 аутоТГСК, определялось для СКПК как содержание CD34⁺-клеток не менее 2×10^6 /кг, для КМ — количество ЯСК не менее 1×10^8 /кг. Приживление нейтрофилов и тромбоцитов определялось в первый из 3 последовательных дней, в который значение нейтрофилов достигало ≥ 500 /мкл, а тромбоцитов ≥ 20 тыс./мкл и было стабильным без необходимости в заместительной терапии. Во всех случаях в заготовленном материале проводили лабораторный контроль для исключения минимальной остаточной болезни. Заготовка ГСК для трансплантации была успешна у 23 из 25 больных, ее эффективность составила 92 %.

Впоследствии аутоТГСК была выполнена 16 пациентам (7 мужчинам и 9 женщинам) в возрасте 20–57 лет (медиана — 38 лет) с первичным ОМЛ неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания. Треть больных ($n = 5$) были старше 45 лет. Характеристика пациентов представлена в табл. 3.

Причинами невыполнения аутоТГСК стали: рецидив лейкоза в 4 случаях, тяжелая сопутствующая патология — в 2 и отказ больного — в 1. Неблагоприятный вариант FAB определялся в 5 случаях (1 — M0, 2 — M5, 2 — M6). Лейкоцитоз в дебюте ОМЛ свыше 25 и 100 тыс./мкл был выявлен у 7 и 3 пациентов соответственно. У 1 из 7 больных, которым была проведена люмбальная пункция, зафиксировано вовлечение центральной нервной системы. Данные цитогенетического исследования доступны у 6 из 16 больных (37,5 %), у 4 из которых была нормальная цитогенетика, у 1 — неблагоприятная цитогенетическая аномалия (множественные аномалии кариотипа), еще у 1 больной с моносомией хромосомы 9 была выявлена мутация *FLT3*-ITD. По результатам иммунофенотипирования неблагоприятный прогноз был определен у 9 больных. В рамках индукционной ХТ обычно использовалась стандартная цитарабин-антрациклиновая схема «7 + 3». На момент выполнения аутоТГСК 15 пациентов находились в 1-й ремиссии, 1 — во 2-й. Для достижения ремиссии в 9 случаях было достаточно проведения 1 курса ХТ, у 7 больных было необходимо выполнение более 1 курса (от 2 до 4). Медиана числа курсов индукции соста-

Таблица 3. Характеристика пациентов, которым была выполнена аутоТГСК

Показатель	Значение
Число больных, <i>n</i>	16
Пол, <i>n</i> :	
мужчины	7
женщины	9
Возраст, лет	20–57
Медиана возраста, лет	38
ОМЛ, <i>n</i> :	
первичный	16
вторичный	0
Подтип по классификации FAB, <i>n</i> :	
M0	1
M1	3
M2	5
M4	3
M5	2
M6	2
Молекулярно-цитогенетический риск в дебюте, <i>n</i> :	
низкий	0
промежуточный	4
высокий	2
данных нет	10
Иммунофенотипирование, <i>n</i> :	
CD34 ⁺ , <i>n</i> = 10	6
CD56 ⁺ , <i>n</i> = 8	4
CD7 ⁺ , <i>n</i> = 10	2
данных нет, <i>n</i> = 16	6
Число лейкоцитов в дебюте заболевания, тыс./мкл, медиана (диапазон)	26 (3,34–257)
Лейкоцитоз свыше 100 тыс./мкл, <i>n</i>	3
Данных нет, <i>n</i>	3
Экстремедуллярное поражение, в том числе центральной нервной системы:	
есть	2
нет	6
данных нет	8

вила 1 (1–4), в том числе 1–2 курса (медиана — 1) ВД-ЦА получили 6 человек. Всего при включении в программу аутоТГСК 9 больных имели 2 и более признаков неблагоприятного прогноза ОМЛ. В рамках консолидации ремиссии все 16 пациентов получили от 1 до 3 (медиана — 2) курсов ВД-ЦА. Всего количество курсов консолидации составило от 1 до 6 (медиана — 2). Медиана общего числа курсов лечения перед выполнением аутоТГСК составила 4 (от 3 до 7). Медиана времени от момента достижения ремиссии до аутоТГСК — 6 мес (диапазон 3–13 мес).

Для кондиционирования применяли 3 режима высокодозной ХТ, обладающие хорошими показателями эффективности, — классические миелоаблативные режимы: фракционированное тотальное терапевтическое облучение — циклофосфамид (фТТО-Су) [17], бусульфан-Су (Бу-Су) [18] и ТТО-мелфалан-вепезид (ТТО-М-VP-16) [19]. В 10 случаях были использованы

ТТО-содержащие РК: в 3 — фТТО-Су и в 7 — ТТО-М-VP-16. У 1 больной доза ТТО была редуцирована до 8 Гр по причине сопутствующей патологии. В 6 случаях был выполнен классический режим Вu-Су. У 11 больных в качестве источника ГСК был использован стимулированный КМ, у 3 — СКПК, у 2 — сочетание КМ + СКПК. Медиана количества перелитых ГСК на 1 трансплантацию составила: при использовании СКПК — содержание CD34⁺-клеток $3,43 \times 10^6/\text{кг}$ (2,64–13,24), КМ — ЯСК $2,8 \times 10^8/\text{кг}$ (2,0–5,6). Характеристика аутоТГСК представлена в табл. 4.

Таблица 4. Характеристика аутоТГСК

Показатель	Значение
Количество аутоТГСК	16
Статус ОМЛ: 1-я ремиссия 2-я ремиссия	15 1
Число курсов индукции 1-й ремиссии: 1 более 1	10 5
РК: ТТО-Су (фТТО 12 Гр + Су 120 мг/кг) ТТО-Су (фТТО 8 Гр + Су 120 мг/кг) ТТО-М-VP-16 (ТТО 5 Гр + М 140 мг/м ² + VP-16 60 мг/кг) Вu-Су (Вu 16 мг/кг + Су 120 мг/кг)	2 1 7 6
Источник ГСК: КМ СКПК КМ + СКПК	12 3 1

Сопроводительную терапию (инфузионную, гемокомпонентную заместительную, профилактику и лечение инфекций) проводили в соответствии с протоколами отделения [20, 21]. Решение о введении Г-КСФ в раннем посттрансплантационном периоде принимали индивидуально в сроки не ранее 21 дня после аутоТГСК в зависимости от темпов восстановления нейтрофилов и наличия инфекционных осложнений. Для оценки побочных эффектов РК после трансплантации использовали шкалу токсичности для аутоТГСК Национального института рака США, разработанную в рамках Программы оценки терапии онкологических заболеваний (Cancer Therapy Evaluation Program, СТЕР), версия 1.0 [22].

Статистический анализ. Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Microsoft Excel, Statistica 10.0. Кривые ОВ, БРВ и БСВ строили методом Каплана–Майера и сравнивали с помощью теста Вилкоксона. ОВ оценивали как время, прошедшее от даты выполнения аутоТГСК до смерти больного по любой причине или до даты последнего наблюдения за пациентом; БРВ — как время, прошедшее от даты аутоТГСК до рецидива заболевания или до даты последнего наблюдения за больным; БСВ — как время, про-

шедшее от даты аутоТГСК до рецидива заболевания, смерти или до даты последнего наблюдения за больным. Медиана периода наблюдения за группой пациентов была определена как медиана временных интервалов от даты трансплантации до даты последнего наблюдения за пациентом; ЛСТ — как смерть от причины, непосредственно связанной с аутоТГСК, за все время наблюдения в трансплантационном центре. Числовые данные сравнивали с помощью U-критерия Манна–Уитни и Т-критерия Вилкоксона. Сравнение номинативных данных выполняли с использованием точного критерия Фишера и метода χ^2 . Оценку зависимости признаков проводили с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали различия при значениях $p < 0,05$. Факторы прогноза эффективности аутоТГСК определяли с помощью регрессионного анализа Кокса. Проводили анализ отдаленных результатов и влияния на них факторов неблагоприятного прогноза ОМЛ (см. табл. 1), пола, количества курсов индукции ремиссии, объема предшествующей ХТ, сроков до выполнения аутоТГСК, РК, источника ГСК, скорости приживления трансплантата и течения посттрансплантационного периода.

Результаты

Частота развития рецидива ОМЛ после аутоТГСК составила 44 % (7 из 16 больных). К моменту анализа (август 2015 г.) известен статус всех 16 пациентов после аутоТГСК. В общей сложности умерли 8 больных, из них 7 — от рецидива лейкоза, 1 — в ремиссии ОМЛ от осложнений острого вирусного гепатита через 5 мес после аутоТГСК. Обращают на себя внимание сроки возникновения рецидива, который во всех случаях произошёл в первые полгода после выполнения аутоТГСК с медианой 5 мес (диапазон 3,0–6,4 мес). Характеристика исходов аутоТГСК представлена в табл. 5.

При медиане наблюдения 49 мес (диапазон 5–86 мес) 5-летние показатели ОВ и БСВ составили по 47 % (рис. 1), БРВ — 51 %. Медиана ОВ составила

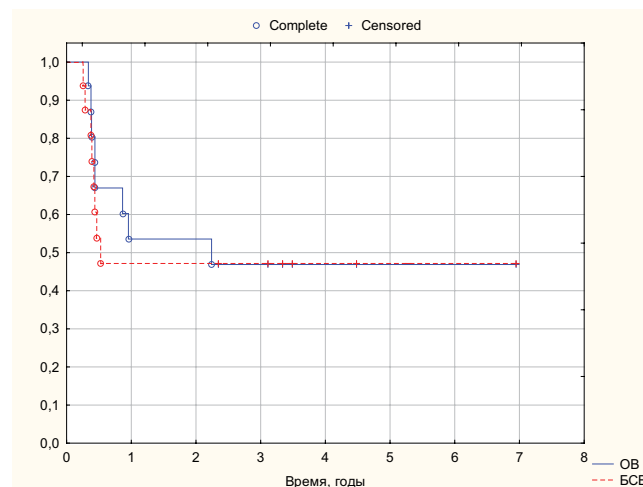


Рис. 1. ОВ и БСВ после аутоТГСК у пациентов с ОМЛ в полной ремиссии

Таблица 5. Характеристика отдаленных результатов аутоТГСК у пациентов в ремиссии ОМЛ неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания

№	Пол	Возраст, лет	РК	Исход, срок после аутоТГСК
1	Ж	57	Bu-Cy	Жива в ремиссии, 37 мес
2	М	53	Bu-Cy	Рецидив, 3 мес. Смерть, 4 мес
3	М	44	Bu-Cy	Рецидив, 5 мес. Смерть, 5 мес
4	Ж	34	Bu-Cy	Рецидив, 5 мес. Смерть, 5 мес
5	М	20	Bu-Cy	Рецидив 6 мес. Смерть, 12 мес
6	М	24	Bu-Cy	Смерть в ремиссии ОМЛ, 5 мес
7	Ж	38	ТТО-М-VP-16	Жива в ремиссии, 4 мес
8	Ж	29	ТТО-М-VP-16	Жива в ремиссии, 28 мес
9	Ж	53	ТТО-М-VP-16	Жива в ремиссии, 35 мес
10	М	50	ТТО-М-VP-16	Жив в ремиссии, 38 мес
11	Ж	28	ТТО-М-VP-16	Жива в ремиссии, 47 мес
12	Ж	38	ТТО-М-VP-16	Жива в ремиссии, 62 мес
13	Ж	23	ТТО-М-VP-16	Рецидив, 4 мес. Смерть, 5 мес
14	М	21	ТТО-Су	Жив в ремиссии, 84 мес
15	М	38	ТТО-Су	Рецидив, 7 мес. Смерть, 27 мес
16	Ж	45	ТТО (8 Гр) – Су	Рецидив, 5 мес. Смерть, 11 мес

2,2 года (95 % доверительный интервал 4,1–5,3), медиана БРВ не достигнута.

При анализе отдаленных результатов в зависимости от пола, возраста, характеристик ОМЛ в дебюте, количества курсов индукции, временного интервала между установлением диагноза и выполнением аутоТГСК, объема предшествующей ХТ, источника ГСК, скорости приживления трансплантата и применения Г-КСФ после аутоТГСК значимые различия выживаемости не выявлены. Нам также не удалось подтвердить связь скорости приживления нейтрофилов и тромбоцитов и продолжительности ОВ, БРВ и БСВ. Вместе с тем включение ТТО в состав РК оказало значимое позитивное влияние на отдаленные результаты. Показатели ОВ и БСВ на 3 года в группе больных с ТТО-содержащим РК составили 67 %, в то время как в группе больных без ТТО медиана выживаемости составила всего полгода, а 3 года пережила только 1 пациентка (рис. 2). Объем выборки был недостаточным для обеспечения необходимой статистической мощности множественного регрессионного анализа. Однако в ходе однофакторного анализа позитивное влияние включения ТТО в состав РК на ОВ было подтверждено (отношение шансов 4,3; 95 % доверительный интервал 1,0–18,5; $p = 0,05$).

При анализе течения посттрансплантационного периода ни в одном случае не было зафиксировано развитие тяжелой негематологической токсичности (III–IV степени). Медиана приживления нейтрофилов

составила 30 (9–46) дней, тромбоцитов – 37 (10–100+) дней. В 9 случаях после аутоТГСК проводилась стимуляция Г-КСФ в дозе 5 мкг/кг/день. При переливании СКПК и КМ медиана приживления нейтрофилов составила 11 (9–13) и 33 (13–46) дня ($p = 0,047$), а тромбоцитов – 12 (10–13) и 37 (28–80) дней ($p = 0,044$) соответственно. Фебрильная температура во время агранулоцитоза развилась у 11 из 16 больных с медианой ее возникновения на 5-й день после аутоТГСК. Потребность в гемотранфузионной поддержке возникла у абсолютного большинства пациентов. Продолжительность госпитализации составила 74 (48–122) дня. ЛСТ через 100 дней, 1 и 2 года после выполнения аутоТГСК составила 0; 6 и 6 % соответственно.

При сравнении отдаленных результатов выполнения ауто- и аллоТГСК у больных в ремиссии ОМЛ неблагоприятного прогноза значимые различия выявлены не были. Так, показатели 5-летней ОВ в группах ауто- и аллоТГСК составили 47 и 36 % соответственно ($p = 0,8$).

Обсуждение

Интенсивная индукционная ХТ при первичном ОМЛ приводит к достижению ремиссии в большинстве (60–80 %) случаев. Однако без адекватной консолидации у большинства больных развивается рецидив в сроки до 2 лет. В последние 2 десятилетия аутоТГСК использовалась для консолидации ремиссии ОМЛ у пациентов, не имеющих HLA-идентично-

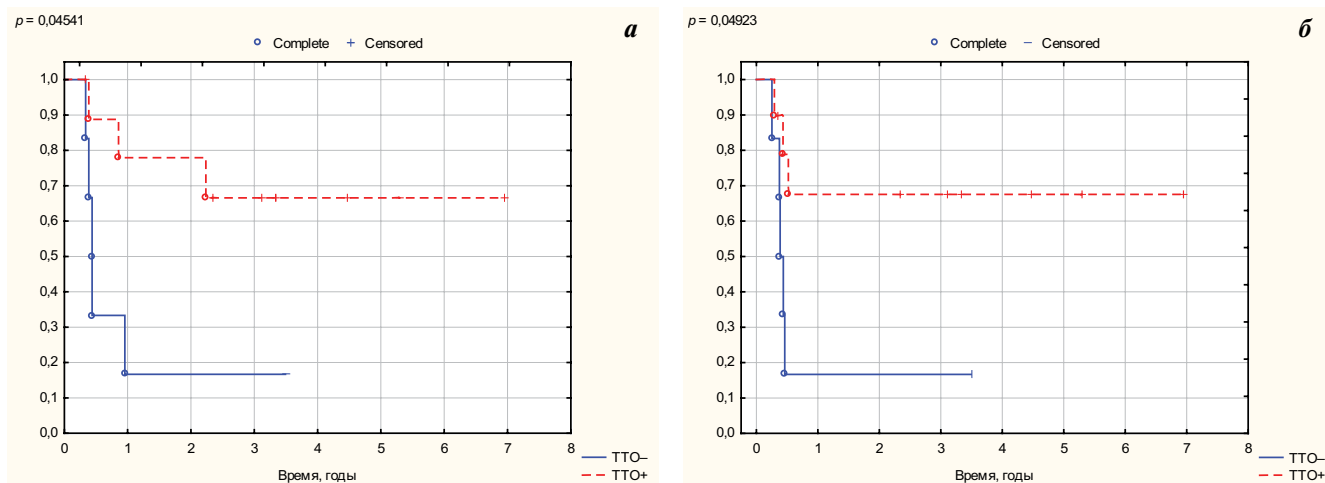


Рис. 2. ОВ (а; $p = 0,045$) и БОВ (б; $p = 0,048$) больных ОМЛ неблагоприятного прогноза после аутоТГСК с ТТО и без ТТО в РК ($n = 16$)

го родственного или неродственного донора. В исследованиях II и III фазы было показано снижение частоты рецидива в группе аутоТГСК по сравнению с обычной ХТ [14]. В свою очередь, развитие осложнений неродственной аллоТГСК приводит к сопоставимым с аутоТГСК отдаленным результатам у пациентов в ремиссии ОМЛ [12]. Важным аспектом выполнения аутоТГСК является хорошее качество жизни после завершения лечения, которое существенно превосходит аналогичный показатель у реципиентов аллогенных ГСК как через 1 год, так и через 8 лет после трансплантации [23].

В соответствии с последней версией показаний ЕВМТ к ТГСК при гематологических заболеваниях, солидных опухолях и патологиях иммунной системы проведение аутоТГСК у взрослых больных ОМЛ группы высокого риска является клинической опцией, т. е. рекомендации такого уровня подкреплены результатами небольших нерандомизированных исследований, в ходе которых была показана эффективность и приемлемая токсичность этой процедуры [6]. Анализ и интерпретация получаемых в подобных исследованиях данных осложняются обилием применяемых сегодня методов трансплантации в сочетании с разнообразием характеристик пациентов, что еще раз подтверждает необходимость увеличения доказательной базы и продолжения изучения эффективности аутоТГСК у больных ОМЛ. Более того, использование строгой системы отбора больных приводит к формированию однородной и не всегда воспроизводимой выборки, что ограничивает экстраполяцию полученных результатов на пациентов с отличающимися характеристиками, как у детей, так и у взрослых, и рассматривается большинством специалистов как недостаток экспериментальных исследований [24]. Вместе с тем эксперты ЕВМТ рекомендуют эту опцию для отдельных пациентов с ОМЛ после взвешенного обсуждения соотношения польза/риск [6]. Немногочисленность наблюдений наряду со строгой процедурой отбора

больных является очевидным ограничением и настоящим исследованием. Малое число выполненных аутоТГСК вызвано как общей тенденцией к предпочтению аллоТГСК при наличии совместимого донора у пациентов с ОМЛ высокого риска, так и низкой обращаемостью в трансплантационные центры больных в ремиссии ОМЛ без доступного донора. Продолжительное наблюдение в ходе текущего исследования позволило нам оценить отдаленные результаты аутоТГСК, полученные показатели свидетельствуют о высокой вероятности излечения у пациентов, у которых за время наблюдения не было развития рецидива. В табл. 6 представлены собственные результаты в контексте данных литературы, в том числе ЕВМТ-реестра [25], 3 крупных рандомизированных исследований III фазы [10, 15, 26] и 4 одноцентровых долгосрочных исследований [19, 27–29].

Несмотря на важное отличие нашего исследования в плане селекции пациентов с ОМЛ по принципу наличия факторов неблагоприятного прогноза в дебюте заболевания, 5-летние показатели ОВ и БОВ составили 47 %, что хорошо согласуется с данными литературы по аутоТГСК в общей группе больных ОМЛ. Так, по результатам различных исследований значения ОВ и БОВ у пациентов с ОМЛ через 4–7 лет после выполнения аутоТГСК в 1-й ремиссии варьируют от 45 до 55 %. Это может свидетельствовать в пользу целесообразности применения аутоТГСК для консолидации ремиссии при плохом прогнозе ОМЛ в отсутствие идентичного аллогенного донора. Опасения нивелировать общее преимущество аутоТГСК повышением риска развития фатальных осложнений по сравнению с ХТ, с нашей точки зрения, неоправданны из-за неутешительных результатов ХТ в этой когорте пациентов, а также возможности снижения ЛСТ за счет оптимизации сопроводительной терапии, что и было реализовано в нашем исследовании. Проведение аутоТГСК может являться альтернативной возможностью при лечении пациентов старшей возрастной группы

(более 50 лет) и с осложненным соматическим статусом, выполнение аллотГСК у которых проблематично.

В ходе поискового анализа было выявлено благоприятное прогностическое влияние на исход аутоТГСК включения ТТО в состав РК ($p = 0,045$). При проведении ТТО показатели ОВ и БСВ на 5 лет составили по 67 %, а частота рецидива — 30 %, что сопоставимо с данными литературы по результатам аллотГСК. В одном из аналогичных исследований результаты аутоТГСК после ТТО-содержащего РК также были сопоставимы с родственной аллотГСК: ОВ и БСВ на 8 лет в группе больных ОМЛ в 1-й ремиссии составили 62 и 55 % соответственно [19]. В единственном рандомизированном сравнении ТТО-содержащего РК при аутоТГСК (ТТО-Су) с Ви-Су было показано преимущество ТТО-содержащего РК как по частоте рецидива (43 % против 70 %), так и по ВСБ (50 % против 24 %) [30], что хорошо согласуется с полученными нами результатами. При использовании пероральной формы Ви необходимо отметить существенно более высокие

риски развития тяжелого геморрагического цистита и гепатотоксичности, что в ряде случаев может иметь решающее значение, например, для пациентов с острыми вирусными гепатитами. Учитывая уникальные свойства ТТО, несмотря на появление новых препаратов, не следует недооценивать этот эффективный классический метод лечения больных ОМЛ [31].

В представленном исследовании у подавляющего большинства пациентов в качестве источника ГСК был использован КМ, несмотря на то, что наибольшее распространение для аутоТГСК сегодня получили СКПК. Переливание СКПК существенно сокращает сроки приживления трансплантата по сравнению с КМ, в нашем исследовании при применении СКПК и КМ медиана приживления нейтрофилов составила 11 (9–13) и 33 (13–46) дня ($p = 0,047$), а тромбоцитов — 12 (10–13) и 37 (28–80) дней ($p = 0,044$) соответственно. Однако, по мнению ряда специалистов, мобилизация опухолевых клеток наряду с $CD34^+$ -ГСК в процессе заготовки трансплантата может провоцировать развитие рецидива и негативно сказываться на общей эффективности лечения [32–35]. В ходе ретроспективного регистрового анализа экспертов ЕВМТ было показано значимое негативное влияние на отдаленные результаты аутоТГСК использования СКПК в качестве источника ГСК у больных в ремиссии ОМЛ. Так, частота развития рецидива при трансплантации СКПК (ранняя 56 %, поздняя 46 %) была выше, чем при использовании КМ (39 %) ($p < 0,05$) [34].

Заключение

Роль аутоТГСК у больных ОМЛ до настоящего времени остается неоднозначной, а для пациентов неблагоприятного прогноза — недостаточно изученной. В сравнении с консолидацией ремиссии высокодозной ХТ проведение аутоТГСК позволяет не только уменьшить количество курсов консолидации и общую продолжительность лечения, но и сократить частоту возникновения рецидивов ОМЛ, а в ряде случаев улучшить БРВ. Объективность оценки роли аутоТГСК вне рандомизированных исследований весьма ограничена. Вместе с тем, учитывая низкую ЛСТ в сочетании с длительным противоопухолевым эффектом, становится очевидно, что аутоТГСК обладает значительным терапевтическим потенциалом у взрослых больных в ремиссии ОМЛ неблагоприятного прогноза, особенно в случаях отсутствия идентичного аллогенного донора, когда выполнение аутоТГСК может стать достойным альтернативным вариантом лечения. Изучение эффективности аутоТГСК у больных ОМЛ нуждается в продолжении в рамках клинических исследований.

Таблица 6. Результаты исследований эффективности аутоТГСК у больных в ремиссии ОМЛ

Автор, год	Число пациентов	ОВ, %	БСВ, %	Частота рецидивов	ЛСТ
Apperley J. и соавт., 2008 [25]	2100	51	43	53	9
Burnett A.K. и соавт., 1998 [15]	126	57	54	35	12
Isidori A. и соавт., 2005 [27]	118	54 ²	50 ²	46 ²	1,7
Mollee P. и соавт., 2004 [19]	117	62 ¹	55 ¹	Нет данных	6,4
Zittoun R.A. и соавт., 1995 [26]	98	56	48	41	9
Sabty F.A. и соавт., 2013 [28]	63	55 ²	51 ²	38	6
Cassileth P.A. и соавт., 1998 [10]	63	43	35	48	14
Martins C. и соавт., 2005 [29]	42	52	40	48	14
Собственные результаты ТТО-содержащие РК	16	47	47	44	0
	10	68	68	30	0

Примечание. ¹Данные приведены на 8 лет; ²данные приведены на 10 лет.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Miller K.B., Pihan G. et al. Clinical manifestations of acute myeloid leukemia. In: Hematology. Basic Principles and Practice. 5th edn. Ed. by R. Hoffman, E.J. Benz, J.S. Shattil et al. New York: Churchill Livingstone, 2009. Pp. 933–63.
2. Meshinchi S., Appelbaum F.R. Structural and functional alterations of FLT3 in acute myeloid leukemia. Clin Cancer Res 2009;15(13):4263–9.
3. Sitnicka E., Buza-Vidas N., Larsson S. et al. Human CD34⁺ hematopoietic stem cells capable of multilineage engrafting NOD/SCID mice express flt3: distinct flt3 and c-kit expression and response patterns on mouse and candidate human hematopoietic stem cells. Blood 2003;102(3):881–6.
4. Маркина И.Г., Тупицын Н.Н., Волкова М.А., Френкель М.А. Влияние иммунофенотипа бластных клеток на прогноз острого нелимфобластного лейкоза. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2000;2(11):30–6. [Markina I.G., Tupitsyn N.N., Volkova M.A., Frenkel' M.A. Influence of immunophenotype of blast cells on the prognosis of acute nonlymphoblastic leukemia. Vestnik RONC im. N.N. Blokhina RAMN = Bulletin of N.N. Blokhin RCRC of RAMS 2000;2(11):30–6. (In Russ.)].
5. Тупицын Н.Н., Попа А.В., Маркина И.Г. Клиническое значение иммунофенотипа острых миелобластных лейкозов. Гематология и трансфузиология 1999;(3):3–8. [Tupitsyn N.N., Popa A.V., Markina I.G. The clinical significance of immunophenotype in acute myeloid leukemia. Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology 1999;(3):3–8. (In Russ.)].
6. Munker R., Hildebrandt G.C., Atkinson K. Therapeutic decision making in BMT/SCT for acute myeloid leukemia. In: The BMT data book. Including cellular therapy. 3rd edn. Ed. by R. Munker, G.C. Hildebrandt, H.M. Lazarus, K. Atkinson. New York: Cambridge University Press, 2013. Pp. 25–40.
7. Программное лечение заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2012. С. 153–207. [Protocol treatment of blood diseases. Ed. by V.G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2012. Pp. 153–207. (In Russ.)].
8. Sureda A., Bader P., Cesaro S. et al. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. Bone Marrow Transplant 2015;50(8):1037–56.
9. NCCN. Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines). Acute Myeloid Leukemia. v. 1.2015.
10. Cassileth P.A., Harrington D.P., Appelbaum F.R. et al. Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. N Engl J Med 1998;339(23):1649–56.
11. Munker R., Lazarus H.M., Atkinson K. The BMT data book. 2nd edn. 2009. 32 p.
12. Lazarus H.M., Pérez W.S., Klein J.P. et al. Autotransplantation versus HLA-matched unrelated donor transplantation for acute myeloid leukaemia: a retrospective analysis from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. Br J Haematol 2006;132(6):755–69.
13. Munker R., Hildebrandt G.C., Lazarus H.M. The BMT data book. 3rd edn. 2013. 37 p.
14. Vellenga E., van Putten W., Ossenkoppele G.J. et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation for acute myeloid leukemia. Blood 2011;118(23):6037–42.
15. Burnett A.K., Goldstone A.H., Stevens R.M. et al. Randomised comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. UK Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. Lancet 1998;351(9104):700–8.
16. Wetzel D., Mueller B.U., Mansouri Taleghani B. et al. Delayed haematological recovery after autologous stem cell transplantation is associated with favorable outcome in acute myeloid leukaemia. Br J Haematol 2015;168(2):268–73.
17. Thomas E.D., Clift R.A., Hersman J. et al. Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission using fractionated or single-dose irradiation. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1982;8(5):817–21.
18. Tutschka P.J., Copelan E.A., Klein J.P. Bone marrow transplantation for leukemia following a new busulfan and cyclophosphamide regimen. Blood 1987;70(5):1382–8.
19. Mollee P., Gupta V., Song K. Long-term outcome after intensive therapy with etoposide, melphalan, total body irradiation and autotransplant for acute myeloid leukemia. Bone Marrow Transplant 2004;33(12):1201–8.
20. Абдусаламов С.Н., Мелкова К.Н., Чернявская Т.З. и др. Градация интенсивности и подходы к оптимизации сопроводительной терапии при трансплантации костного мозга. Клиническая онкогематология 2009;2(4):334–42. [Abdusalamov S.N., Melkova K.N., Chernyavskaya T.Z. et al. Gradation of intensity and approaches to optimizing supportive care in bone marrow transplantation. Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology 2009;2(4):334–42. (In Russ.)].
21. Абдусаламов С.Н., Мелкова К.Н., Горбунова Н.В. и др. Профилактические режимы ведения больных и подходы к оптимизации сопроводительной терапии при трансплантации костного мозга. Клиническая онкогематология 2010;3(1):21–9. [Abdusalamov S.N., Melkova K.N., Gorbunova N.V. et al. Prophylactic patient management and approaches to optimizing supportive care in bone marrow transplantation. Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology 2010;3(1):21–9. (In Russ.)].
22. Wilson W.H., Jain V., Bryant G. et al. Phase I and II study of high-dose ifosfamide, carboplatin, and etoposide with autologous bone marrow rescue in lymphomas and solid tumors. J Clin Oncol 1992;10(11):1712–22.
23. Мелкова К.Н., Петрова Г.Д. Материалы 41-го конгресса Европейского общества по трансплантации костного мозга. Клиническая онкогематология 2015;8(3):343–52. [Melkova K.N., Petrova G.D. Proceedings of the 41st Congress of the European Society of Bone Marrow Transplantation. Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology 2015;8(3):343–52. (In Russ.)].
24. Румянцев А.Г., Варфоломеева С.Р., Грачев Н.С. и др. Принципы и инструменты доказательной медицины в детской гематологии/онкологии. Доктор.Ру 2015;10(111):6–13. [Rumyantsev A.G., Varfolomeeva S.R., Grachev N.S. et al. The principles of evidence-based medicine in pediatric hematology/oncology. Doctor.Ru 2015;10(111):6–13. (In Russ.)].
25. Apperley J., Carreras E., Gluckman E. et al. Haematopoietic stem cell transplantation. The EBMT Handbook. 5th edn. 2008.
26. Zittoun R.A., Mandelli F., Willemze R. et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. N Engl J Med 1995;332(4):217–23.
27. Isidori A., Bonifazi F., Visani G. et al. Autologous stem cell transplantation for acute myeloid leukemia patients in first complete remission: a 10-year follow-up study of 118 patients. Haematologica 2005;90(1):139–41.
28. Sabty F.A., Demeckova E., Bojtarova E. et al. Is there still a role for autologous stem cell transplantation in acute myeloid leukemia? Neoplasma 2013;60(2):167–73.
29. Martins C., Lacerda J.F., Lourenço F. et al. Autologous stem cell transplantation in acute myeloid leukemia. Factors influencing outcome. A 13 year single institution experience. Acta Med Port 2005;18(5):329–37.

30. Dusenbery K.E., Daniels K.A., McClure J.S. et al. Randomized comparison of cyclophosphamide-total body irradiation versus busulfan-cyclophosphamide conditioning in autologous bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;31(1):119–28.
31. Мелкова К.Н., Горбунова Н.В., Чернявская Т.З. и др. Тотальное облучение организма человека при трансплантации костного мозга. Клиническая онкогематология 2012;5(2):96–114. [Melkova K.N., Gorbunova N.V., Chernyavskaya T.Z. et al. The total body irradiation in bone marrow transplantation. *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology* 2012;5(2):96–114. (In Russ.)].
32. Hengeveld M., Suciu S., Chelgoum Y. High numbers of mobilized CD34⁺ cells collected in AML in first remission are associated with high relapse risk irrespective of treatment with autologous peripheral blood SCT or autologous BMT. *Bone Marrow Transplant* 2015;50(3):341–7.
33. Vellenga E., van Putten W.L., Boogaerts M.A. Peripheral blood stem cell transplantation as an alternative to autologous marrow transplantation in the treatment of acute myeloid leukemia? *Bone Marrow Transplant* 1999;23(12):1279–82.
34. Gorin N.C., Labopin M., Blaise D. Higher incidence of relapse with peripheral blood rather than marrow as a source of stem cells in adults with acute myelocytic leukemia autografted during the first remission. *J Clin Oncol* 2009;27(24):3987–93.
35. Gorin N.C., Labopin M., Reiffers J. Higher incidence of relapse in patients with acute myelocytic leukemia infused with higher doses of CD34⁺ cells from leukapheresis products autografted during the first remission. *Blood* 2010;116(17):3157–62.

Методические основы диагностики и мониторинга минимальной остаточной болезни при острых лейкозах у детей первого года жизни

Г.А. Цаур¹⁻³, А.М. Попов⁴, Л.Г. Фечина¹, С.А. Румянцев^{4,5}

¹ГБУЗ СО ОДКБ № 1; Россия, 620149, Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 32;

²ГАОУ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

³ФГАОУ ВПО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»; Россия, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19;

⁴ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117998, Москва, ул. Саморы Машела, 1;

⁵ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Контакты: Григорий Анатольевич Цаур tsaur@mail.ru

В статье представлены методические основы и показана прогностическая ценность определения минимальной остаточной болезни (МОБ) у детей первого года жизни с острыми лейкозами, ассоциированными с перестройками 11q23/MLL. На основании этого сформулирован алгоритм определения МОБ. Показано, что сопоставимость выявления МОБ методами проточной цитометрии и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени составляет 87,0 %. Конкордантность результатов заметно снижалась на этапе индукции по сравнению с консолидацией/интенсификацией, а также терапией рецидива (78,6; 90,4 и 93,4 % соответственно; $p = 0,002$). В то же время она не зависела от наличия В-линейных предшественников в образце. Сопоставимость результатов качественного выявления МОБ в костном мозге и периферической крови составила 84,5 %. При этом во всех 22 (15,5 %) дискордантных образцах МОБ была выявлена в костном мозге, но не в периферической крови. Несмотря на высокий уровень сопоставимости результатов, наличие МОБ в периферической крови на различных этапах терапии не показало самостоятельной прогностической значимости. В то же время при проведении многофакторного анализа только сохранение МОБ в точке наблюдения 4 в костном мозге являлось независимым прогностически неблагоприятным фактором при лечении острого лимфобластного лейкоза у детей первого года жизни по протоколу MLL-Baby (отношение опасности 7,326; 95 % доверительный интервал 2,378–22,565).

Ключевые слова: перестройки 11q23/MLL, острые лейкозы у детей первого года жизни, минимальная остаточная болезнь

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-62-74

Methodological aspects of diagnostics and minimal residual disease monitoring in infant acute leukemias

G.A. Tsaur¹⁻³, A.M. Popov⁴, L.G. Fechina¹, S.A. Rumyantsev^{4,5}

¹Regional Children Clinical Hospital No 1; 32 S. Deryabinoy St., Ekaterinburg, 620149, Russia;

²Institute of Medical Cell Technologies; 22a Karla Marksa St., Ekaterinburg, 620026, Russia;

³Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yel'tsin; 19 Mira St., Ekaterinburg, 620002, Russia;

⁴Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitriy Rogachev,

Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117998, Russia;

⁵N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russia

Hereby we present methodological aspects and prognostic significance of minimal residual disease (MRD) monitoring in infant acute leukemias. Based on our own experience we made algorithm for detection of MRD in this group of patients. We conclude that general concordance between MRD detection by flow cytometry and real-time polymerase chain reaction (PCR) for fusion gene transcripts achieved 87.0 %. Concordance was significantly lower during induction in comparison to consolidation/intensification and relapse treatment (78.6; 90.4 and 93.4 %, correspondingly; $p = 0.002$). It was not dependent on presence of normal B-cell precursors. Concordance between MRD results obtained by qualitative real-time PCR in bone marrow and peripheral blood samples was 84.5 %. Interestingly, all discrepant results (22 samples 15.5 %) were MRD-positive in bone marrow, but negative in peripheral blood. Despite high qualitative concordance rate between MRD detection in bone marrow and peripheral blood samples we could not show prognostic value of MRD monitoring in peripheral blood by fusion gene transcripts. Multivariate analysis revealed that MRD-positivity at time-point 4 in bone marrow was the only significant and independent prognostic factor of unfavorable outcome in the observed group of patients (hazard ratio 7.326; 95 % confidence interval 2.378–22.565).

Key words: 11q23/MLL rearrangements, infant acute leukemias, minimal residual disease

Введение

Острые лейкозы (ОЛ), ассоциированные с перестройками гена *MLL* (myeloid-lymphoid leukemia, mixed-lineage leukemia), расположенного в хромосомном регионе 11q23 [1–3], наиболее часто встречаются у де-

тей первого года жизни, поэтому в рамках данной работы мы остановимся только на этой возрастной группе.

В настоящее время достигнуты значительные успехи в лечении острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей старше 1 года: неуклонно повышаются общая

и бессобытийная выживаемость (БСВ) пациентов, снижается частота развития рецидивов. В то же время результаты терапии ОЛЛ у детей первого года жизни остаются неудовлетворительными: БСВ редко превышает 45 %, а основной причиной неудачи терапии являются рецидивы [4–14]. На сегодняшний день наиболее эффективным способом прогнозирования развития рецидивов считается определение минимальной остаточной болезни (МОБ). Для этой цели применяются такие высокочувствительные методы клинической лабораторной диагностики, как многоцветная проточная цитометрия и различные варианты полимеразной цепной реакции (ПЦР). Однако биологические особенности ОЛ у детей первого года жизни требуют разработки специальных методов выявления МОБ с последующим сравнительным анализом полученных результатов между ними и оценкой вероятности развития рецидивов.

При использовании метода проточной цитометрии для мониторинга МОБ у детей первого года жизни с ОЛЛ основными сложностями являются особенности иммунофенотипа опухолевых клеток при наличии перестроек гена *MLL*, а также нестабильность экспрессии антигенов во время терапии [15, 16]. Кроме того, чаще всего описываются только алгоритмы оценки МОБ у детей с CD10-позитивными В-линейными ОЛЛ, в то время как у детей первого года жизни преобладают CD10-негативные варианты. Несмотря на то, что при CD10-позитивном и CD10-негативном вариантах ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) применяется одинаковая панель антигенов, отдельные маркеры используются в различных целях (табл. 1). Исходя из этого, нами было сформулировано 2 различных алгоритма анализа данных (рис. 1). Для

успешного определения МОБ нужно также учитывать, что фенотип опухолевых клеток может существенно меняться во время терапии [17, 18].

Еще одним способом мониторинга МОБ, использовавшимся нами, является обнаружение химерных транскриптов с участием *MLL* методами качественной обратной-транскриптазной ПЦР (ОТ-ПЦР) и/или количественной ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) для выявления химерных транскриптов. Этот метод дает хорошую возможность контролировать МОБ у пациентов первого года жизни, так как перестройки 11q23/*MLL* встречаются у большинства из них [4, 5, 10, 19–21], а данный метод молекулярной диагностики является стандартизованным, легко воспроизводимым и относительно быстро выполнимым [22–24]. Более того, ОТ-ПЦР позволяет получать результаты определения МОБ, сопоставимые с результатами выявления перестроек генов *Ig/TCR* [25, 26] и проточной цитометрии [27].

Сравнительная характеристика различных методов определения МОБ приведена в табл. 2.

Актуальность создания системы мониторинга МОБ у детей первого года жизни обусловлена еще и тем, что в нашей стране Л.Г. Фечиной разработан оригинальный отечественный протокол *MLL-Baby* для терапии ОЛЛ у детей этой возрастной группы [30], который предусматривает многократное определение МОБ (рис. 2). Это, в свою очередь, обуславливает необходимость установления роли наличия и величины МОБ в различные точки наблюдения для прогнозирования исходов терапии.

Определение МОБ невозможно без всесторонней оценки инициальных характеристик лейкозных клеток, включая наличие и тип перестройки 11q23/*MLL*, а также иммунофенотипа опухолевых бластов с использованием стандартного цитогенетического исследования, флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization, FISH), ПЦР, проточной цитометрии. Более того, считается, что целый ряд объективных факторов затрудняют диагностику ОЛ у детей первого года жизни: криптические варианты транслокаций, большое разнообразие перестроек 11q23/*MLL*, существование различных типов химерных транскриптов с участием гена *MLL*, нестабильность иммунофенотипа опухолевых бластов [16, 31–38].

Показано, что клинические особенности ОЛ и чувствительность к терапии зависят не только от наличия перестройки 11q23/*MLL per se*, но и от типа гена-партнера [39, 40], которых на сегодняшний день известно 79 [41]. Наиболее частыми партнерами *MLL* являются гены *AF4*, *MLLT1*, *MLLT3*, *MLLT10*, *MLLT4*, *ELL*, на долю которых суммарно приходится около 85 % всех случаев *MLL*-позитивных ОЛ как у детей, так и у взрослых [31, 41, 42]. За счет оставшихся 15 % и достигается большое разнообразие химерных генов с участием *MLL*, и именно их биологические особенности и клинические характеристики ОЛ, ассоцииро-

Таблица 1. Задачи применения различных антигенов для определения МОБ при CD10-позитивном и CD10-негативном ВП-ОЛЛ

Маркер	CD10-позитивный ВП-ОЛЛ	CD10-негативный ВП-ОЛЛ
CD19	Выделение всех клеток В-линии	Выделение всех клеток В-линии
CD10	Выделение опухолевых клеток	Исключение из анализа нормальных ВП
CD20	Выделение опухолевых клеток, исключение из анализа В-лимфоцитов	Исключение из анализа нормальных ВП и В-лимфоцитов
CD34	Выделение опухолевых клеток	Выделение опухолевых клеток
CD58	Выделение опухолевых клеток	Выделение опухолевых клеток
CD38	Дифференцирование опухолевых клеток от нормальных ВП	Дифференцирование опухолевых клеток от периферической крови
CD45	Выделение опухолевых клеток	Выделение опухолевых клеток

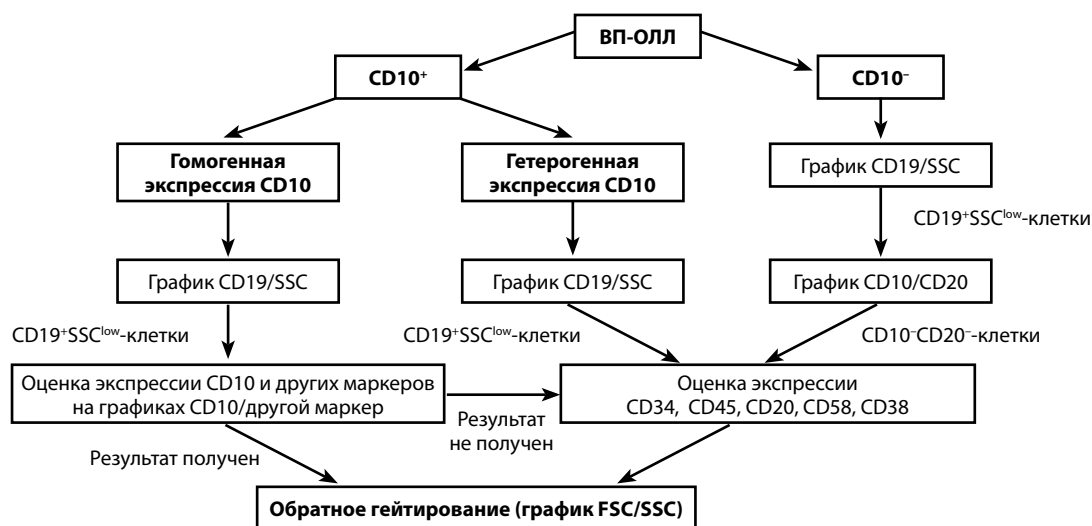


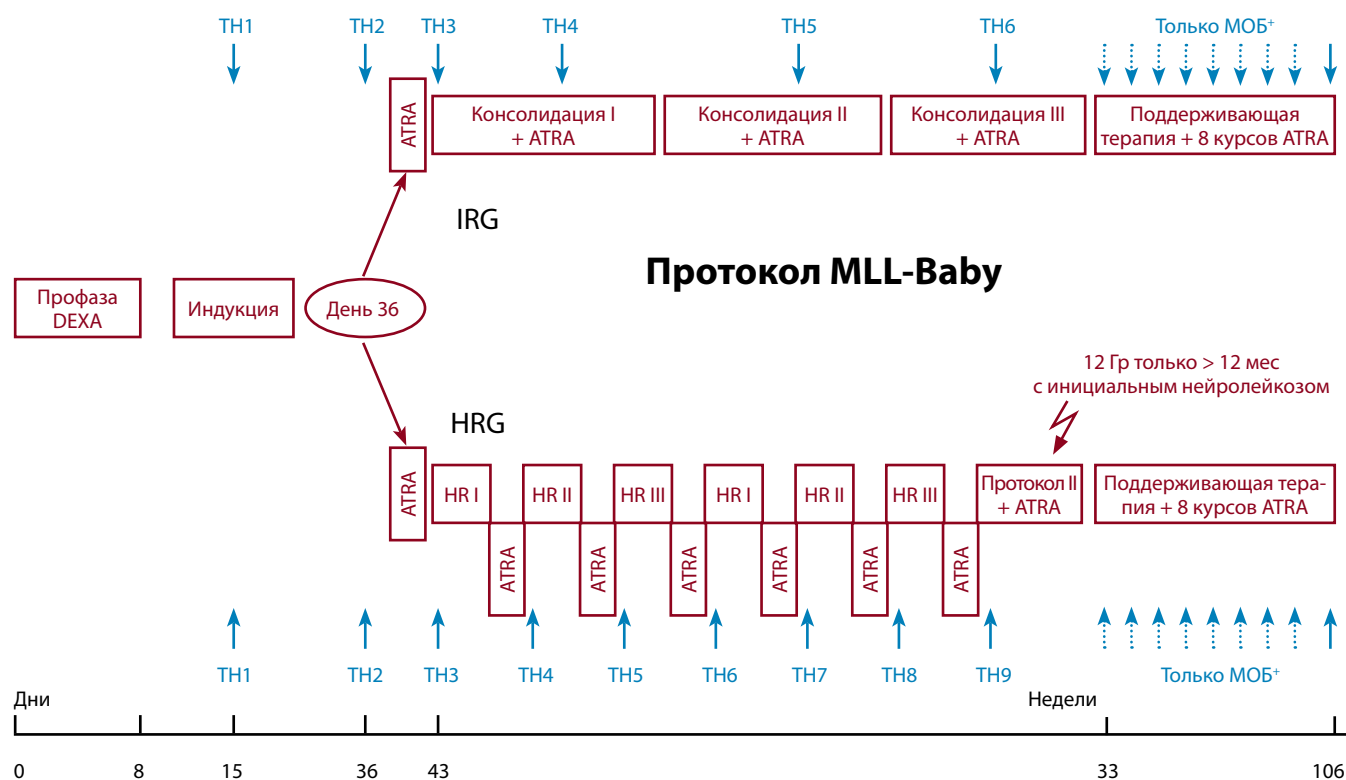
Рис. 1. Алгоритм анализа данных проточной цитометрии для мониторинга МОБ при CD10-позитивном и CD10-негативном вариантах ВП-ОЛЛ

Таблица 2. Характеристика различных методов, применяемых для определения МОБ у пациентов с ОЛЛ (приводится по [28, 29] с дополнениями)

Показатель	Метод		
	определение перестроек генов <i>Ig</i> и <i>TCR</i> методом ПЦР-РВ	определение химерных транскриптов методом ПЦР-РВ	многоцветная проточная цитометрия
Чувствительность	10^{-4} – 10^{-5}	10^{-4} – 10^{-6}	10^{-4} – 10^{-5} (зависит от количества вносимых клеток)
Количественный диапазон	10^{-2} – 10^{-4}	10^{-4} – 10^{-5}	Варьирует в различных исследованиях
Преимущества	• Применимость для подавляющего большинства пациентов с ОЛЛ; • высокая чувствительность; • высокая степень стандартизации; • доказанная надежность при использовании в качестве стратификационного критерия; • исходный материал (ДНК) стабилен при транспортировке	• Высокая чувствительность; • стабильность мишени во время курса терапии; • быстрота; • относительная простота выполнения; • для наиболее частых химерных транскриптов имеется стандартизованная методика	• Применимость для подавляющего большинства пациентов с ОЛЛ; • быстрота; • возможность количественной оценки результата; • источник дополнительной информации о нормальных и опухолевых клетках; • стандартизация в рамках проводимых протоколов терапии
Недостатки	• Большая длительность; • возможная нестабильность выбранных маркеров (феномен клональной эволюции); • для проведения теста требуется высокий уровень знаний и опыта	• Применимо только у части пациентов (40–45 %); • полная стандартизация проведена только для <i>BCR-ABL</i>; для остальных химерных генов разработаны только условия проведения ОТ-ПЦР; • существует риск ложнопозитивных результатов вследствие контаминации; • исходный материал (РНК) малостабилен при транспортировке	• Изменение иммунофенотипа во время терапии; • В-линейная регенерация может затруднять проведение анализа; • низкая клеточность во время и после индукции может затруднять проведение анализа; • для проведения теста требуется высокий уровень знаний и опыта
Применимость	90–95 %	• <i>BCR-ABL</i> (5–8 % детей и 30–35 % взрослых с ВП-ОЛЛ); • <i>TCF3-PBX1</i> (1–2 % детей и взрослых); • перестройки <i>MLL</i> (70–80 % детей младше 1 года; 3–5 % детей старше 1 года; 5–7 % взрослых); • <i>ETV6-RUNX1</i> (20–25 % детей)	> 95 % (зависит от количества одновременно определяемых маркеров)

ванных с редкими перестройками гена *MLL*, наименее изучены. Традиционно считается, что наиболее неблагоприятной при ОЛЛ является транслокация *t(4;11)/MLL-AF4*, в то время как прогноз для пациентов

с *t(11;19)/MLL-MLLT1* и *t(9;11)/MLL-MLLT3* несколько лучше [40]. С другой стороны, в рамках проспективного исследования Interfant-99 пациенты с любой из вышеперечисленных транслокаций имели сходную

**Критерии стратификации:**

- HRG – t(4;11)(q21;q23)/*MLL-AF4* или день 36/43 nonresponder;
- IRG – любые другие перестройки 11q23/*MLL* или отсутствие перестроек 11q23/*MLL* в случае достижения клинко-гематологической ремиссии на 36-й день.

Рис. 2. Схема протокола *MLL-Baby* с указанием точек наблюдения (TH), в которые проводилась оценка МОВ

величину БСВ [5]. Наиболее неблагоприятными транс-локациями при остром миелобластном лейкозе (ОМЛ) являются t(10;11)(p12;q23)/*MLL-MLLT10* и t(6;11)(q27;q23)/*MLL-MLLT4* [39].

Таким образом, оценка МОВ на основе анализа инициальных цитогенетических, молекулярно-генетических и иммунофенотипических свойств опухолевых бластов при ОЛ у детей первого года жизни является актуальным вопросом детской гематологии/онкологии.

Материалы и методы

Для сравнения методов выявления МОВ – проточной цитометрии и ОТ-ПЦР – в анализ был включен 401 образец костного мозга (КМ), полученный от 65 пациентов первого года жизни с ОЛЛ. МОВ методом проточной цитометрии определяли на приборах FACS Canto, FACS Canto II и FACS Aria (Becton Dickinson, США) с использованием программного обеспечения FACS Diva 4.0–6.1 (Becton Dickinson, США). Результат определения МОВ рассчитывали в виде процентного содержания опухолевых клеток среди всех ядросодержащих клеток КМ. Образцы КМ считали МОВ-позитивными при величине МОВ > 0,01 %. При этом для большинства образцов удалось достичь аналитической чувствительности в 0,001 %. Методические осо-

бенности технологии проточной цитометрии для мониторинга МОВ были описаны нами ранее [17, 43].

Перестройки 11q23/*MLL* выявляли методами стандартной цитогенетики, FISH, ОТ-ПЦР по ранее описанным протоколам [35, 36, 44]. Для исключения образцов низкого качества из анализа перед проведением ОТ-ПЦР и ПЦР-РВ выполняли оценку качества РНК с использованием микроструйных чипов RNA 6000 Nano LabChip (Caliper Technologies, США) на биоанализаторе Agilent 2100 (Agilent, Германия) согласно инструкции производителя. В дальнейшую работу брали образцы, в которых показатель целостности РНК превышал 4,2 [45].

В исследование по оценке прогностической значимости выявления МОВ методом ПЦР-РВ было включено 53 пациента с ОЛЛ и установленным типом перестроек гена *MLL*, получавших лечение по протоколу *MLL-Baby*. В исследуемой группе было 20 (37,7 %) мальчиков и 33 (62,3 %) девочки, медиана возраста составила 5,3 (0,03–11,80) месяца. У 25 (47,2 %) пациентов был выявлен химерный транскрипт *MLL-AF4*, у 10 (18,9 %) – *MLL-MLLT3*, у 9 (17,0 %) – *MLL-MLLT1*, у 5 (9,4 %) – *MLL-MLLT10*, у 4 (7,5 %) – *MLL-EPS15*. МОВ определяли в 142 парных образцах КМ и периферической крови. Количественную ПЦР-РВ с чувствительностью не ниже 10^{-4} проводили согласно реко-

мендациям международного протокола «Европа против рака» [22, 23].

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение SPSS 18.0, Statistica 8.0, R-statistics. При сравнении 2 групп пациентов по количественным признакам использовали критерий Манна–Уитни. Результаты терапии оценивали по кривым БСВ, построенным по методу Каплана–Майера, а также по кумулятивной вероятности развития рецидива. Для сравнения кривых использовали непараметрические log-rank критерий и критерий Грея соответственно. Стандартную ошибку рассчитывали по формуле Гринвуда. Расчет отношения опасности (ОО) с 95 % доверительным интервалом (ДИ) был проведен по методу Кокса в однофакторной и многофакторной моделях. Параметры сравнивали с использованием теста Вальда. Все различия считали достоверными при $p < 0,05$. Информированное согласие на проведение диагностических и лечебных процедур было получено во всех случаях.

Результаты

Качественная сопоставимость результатов проточной цитометрии и ОТ-ПЦР в 401 образце КМ составила 87,0 %. При этом в 50 образцах МОБ была обна-

ружена только в ходе ПЦР, и лишь в 2 — только при проточной цитометрии. Сопоставимость результатов была достоверно ниже в образцах, взятых на этапе индукционной терапии ($n = 131$; 78,6 %) по сравнению с образцами этапов консолидации/интенсификации ($n = 209$; 90,4 %) и терапии рецидива ($n = 61$; 93,4 %) ($p = 0,002$). В то же время не выявлено значимых различий между 3 точками наблюдения (15-й, 36-й и 43-й дни) во время индукционной терапии ($p = 0,098$) (рис. 3).

Образцы пациентов с наличием химерного транскрипта *MLL-MLLT3* имели наименьшие показатели сопоставимости данных проточной цитометрии и ОТ-ПЦР по сравнению с теми, у которых выявлялись *MLL-AF4*, *MLL-MLLT1*, *MLL-EPS15* ($p < 0,001$) (рис. 4). Наличие в образце нормальных ВП не влияло на сопоставимость результатов обнаружения МОБ ($p = 0,838$).

Несмотря на то, что прямое количественное сопоставление результатов определения МОБ двумя данными методами невозможно, кинетика величины МОБ во время терапии сходна для проточной цитометрии и ПЦР-РВ (рис. 5). Вследствие этого у пациентов, у которых определяется химерный транскрипт с вовлечением *MLL*, возможно одновременное применение данных методов. Во время индукционной терапии и в начале консолидации/интенсификации, когда

Все образцы (n = 401)		Индукция ремиссии (n = 131)		Консолидация/ интенсификация (n = 209)		Терапия рецидива (n = 61)			
ОТ-ПЦР	обнаружено	223	50	обнаружено	100	19	обнаружено	37	4
	не обнаружено	2	126	не обнаружено	1	89	не обнаружено	0	20
		обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено
Проточная цитометрия									
Сопоставимость 87,0 %		Сопоставимость 78,6 %		Сопоставимость 90,4 %		Сопоставимость 93,4 %			

День 15 (n = 45)		День 36 (n = 52)		День 43 (n = 34)					
ОТ-ПЦР	обнаружено	36	5	обнаружено	32	14	обнаружено	18	8
	не обнаружено	0	4	не обнаружено	1	5	не обнаружено	0	8
		обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено
Проточная цитометрия									
Сопоставимость 88,9 %		Сопоставимость 71,1 %		Сопоставимость 76,5 %					

Рис. 3. Сопоставимость выявления МОБ на разных этапах терапии

		MLL-AF4 (n = 230)		MLL-MLLT1 (n = 76)		MLL-MLLT3 (n = 73)		MLL-EP515 (n = 22)	
ОТ-ПЦР	обнаружено	154	12	37	10	24	25	8	3
	не обнаружено	2	62	0	29	0	24	0	11
		обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено
		Проточная цитометрия		Проточная цитометрия		Проточная цитометрия		Проточная цитометрия	
		Сопоставимость 93,9 %		Сопоставимость 86,8 %		Сопоставимость 65,7 %		Сопоставимость 86,4 %	

		Наличие ВП (n = 271)		Отсутствие ВП (n = 130)	
ОТ-ПЦР	обнаружено	137	32	86	18
	не обнаружено	2	100	0	26
		обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено
		Проточная цитометрия		Проточная цитометрия	
		Сопоставимость 87,4 %		Сопоставимость 86,1 %	

Рис. 4. Сопоставимость выявления МОБ у пациентов с различными типами химерных транскриптов, а также в зависимости от наличия нормальных ВП

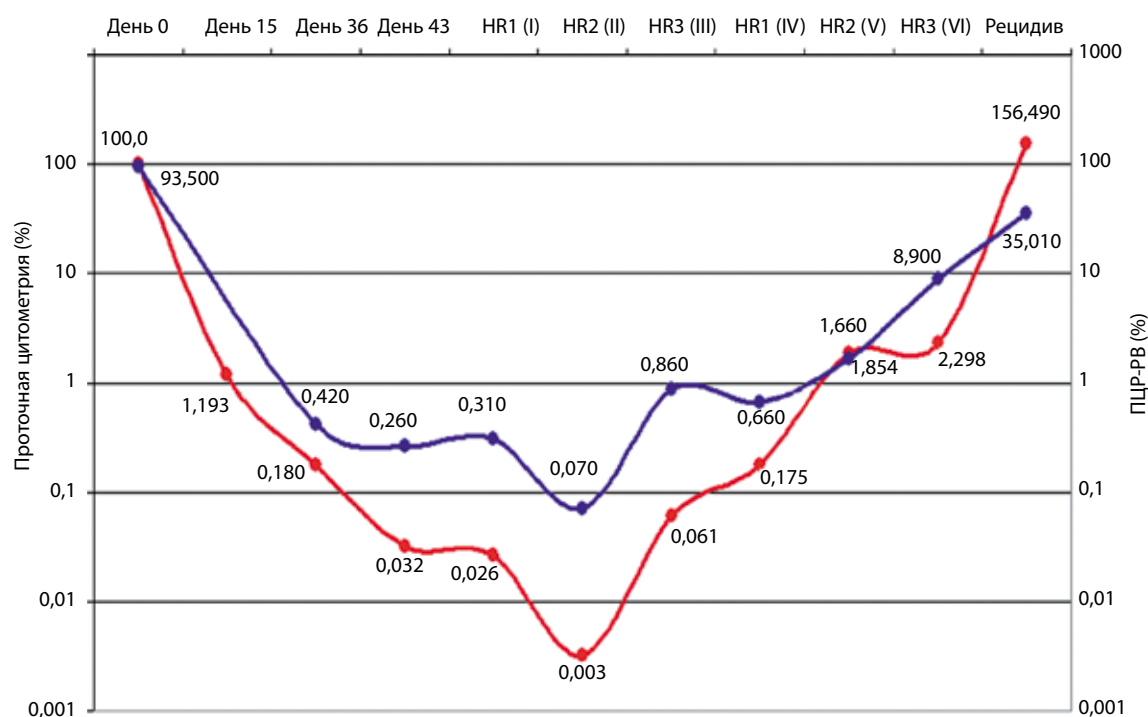


Рис. 5. Динамика выявления МОБ методами проточной цитометрии (синяя кривая) и ПЦР-РВ (красная кривая) у пациентки с наличием химерного транскрипта MLL-AF4

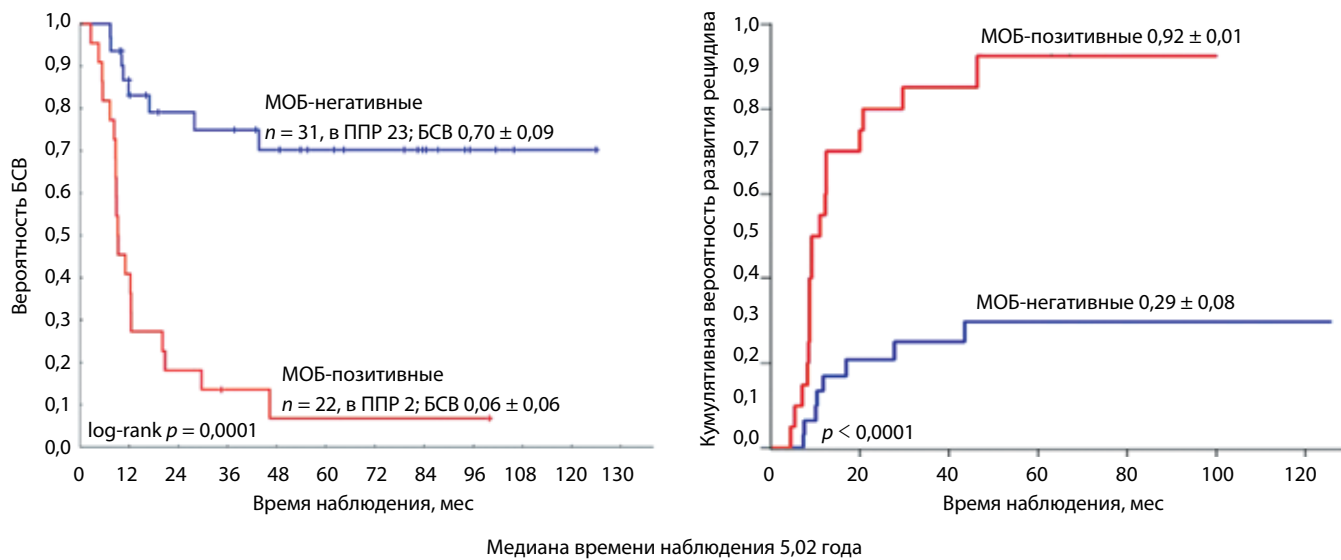


Рис. 6. БСВ и кумулятивная вероятность развития рецидива у МОБ-позитивных и МОБ-негативных пациентов в зависимости от выявления МОБ в точке наблюдения 4 в КМ. Здесь и на рис. 7: ППР — полная продолжительная ремиссия

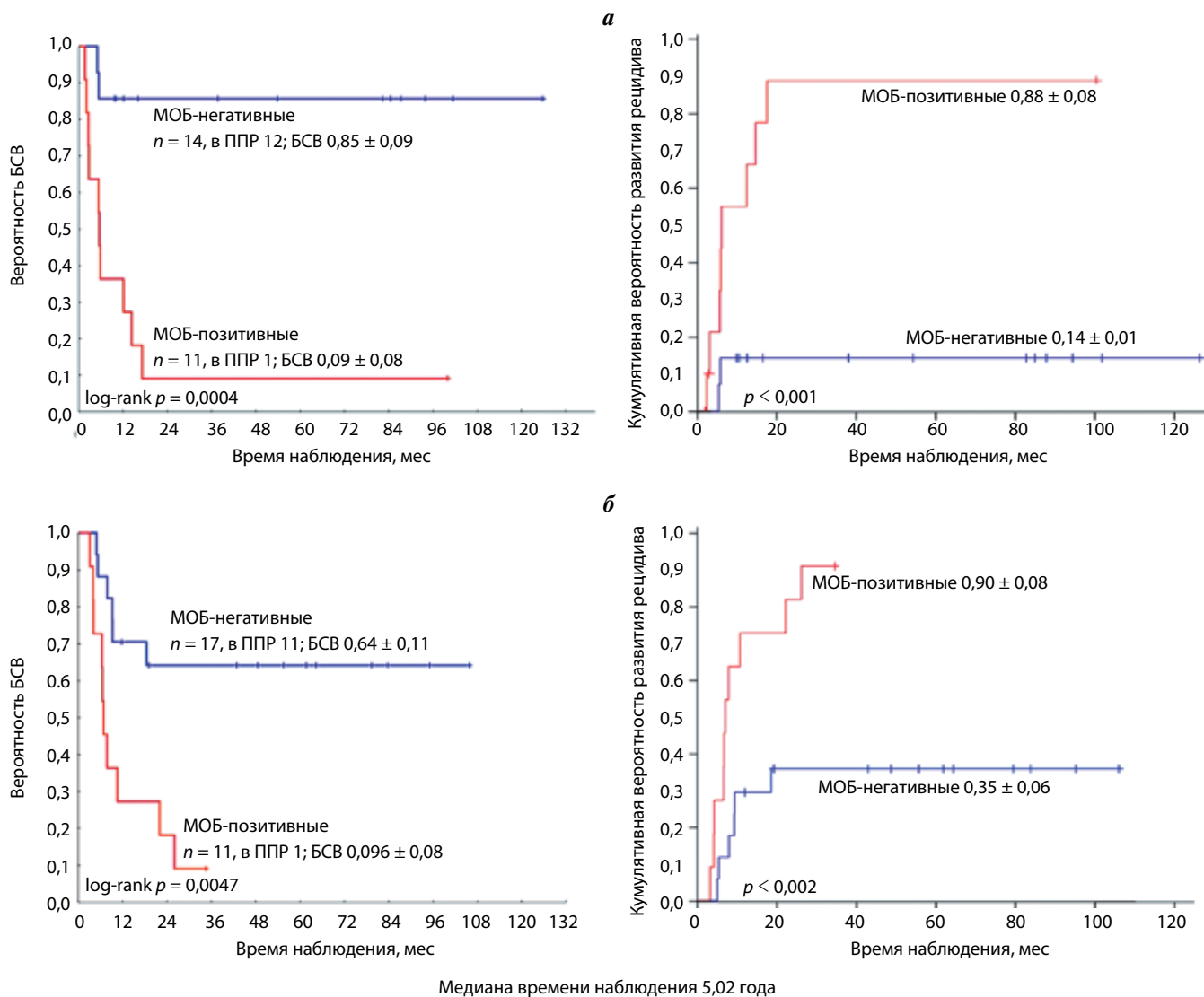


Рис. 7. БСВ и кумулятивная вероятность развития рецидива у 25 пациентов группы высокого риска (с наличием MLL-AF4) (а) и 28 пациентов группы промежуточного риска (все остальные перестройки гена MLL) (б) в зависимости от обнаружения МОБ в точке наблюдения 4 в КМ

необходимо количественное определение МОБ, предпочтительнее использовать данные проточной цитометрии. Но в последующих точках наблюдения достаточно только качественного определения МОБ, поэтому целесообразнее использовать результаты ОТ-ПЦР/ПЦР-PV вследствие более высокой чувствительности метода.

Оценка прогностической роли выявления МОБ в ходе лечения по протоколу MLL-Baby показала, что наличие МОБ в точке наблюдения 4 в КМ ведет к достоверному снижению БСВ и повышению кумулятивной вероятности развития рецидива (рис. 6). При разделении пациентов по группам риска протокола MLL-Baby сохранялись достоверные различия в величинах БСВ и кумулятивной вероятности развития рецидива между МОБ-положительными и МОБ-негативными больными в точке наблюдения 4 в КМ (рис. 7). В то же время использование периферической крови

для выявления МОБ у данной группы пациентов себя не оправдало. Технически это выполнимо, однако значимой прогностической роли выявление МОБ в периферической крови не имело. При проведении многофакторного анализа единственным значимым фактором являлось сохранение МОБ в точке наблюдения 4 в КМ (ОО 7,326; 95 % ДИ 2,378–22,565) (табл. 3).

Сходные данные получены и для ОМЛ у детей первого года жизни. Длительное сохранение МОБ при ОМЛ, даже в условиях клинико-гематологической ремиссии, неизбежно приводит к рецидиву (рис. 8).

Обсуждение

МОБ, как уже отмечалось ранее, — это сохранение в организме пациента опухолевых клеток в количествах, не распознаваемых стандартными цитологическими методами. Но даже в том случае, если в образцах КМ, взятых во время терапии, количество опухолевых

Таблица 3. Анализ прогностических показателей, влияющих на возникновение рецидивов у пациентов первого года жизни с ОЛЛ, получающих терапию по протоколу MLL-Baby, с учетом МОБ в точке наблюдения 4 в КМ

Показатель	Пациенты	События	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
			ОО	95 % ДИ	<i>p</i>	ОО	95 % ДИ	<i>p</i>
Возраст								
Старше 6 месяцев	22	8	Референтное	—	0,059	Референтное	—	0,513
Младше 6 месяцев	31	19	2,179	0,949—5,005		1,393	0,515—3,765	
Иммунофенотип								
VI-ОЛЛ	36	16	0,746	0,346—1,610	0,623	1,611	0,405—6,416	0,499
ВП-ОЛЛ	8	7	2,136	0,899—5,077	0,079	1,225	0,274—5,469	0,790
ВПП-ОЛЛ	9	4	0,703	0,242—2,041	0,514	1	—	—
Наличие MLL-AF4								
Нет	28	4	Референтное	—	0,685	Референтное	—	0,529
Есть	25	8	0,853	0,396—1,840		0,752	0,311—1,821	
Инициальный лейкоцитоз, × 10 ⁹ /л								
< 100	29	11	Референтное	—	0,019	Референтное	—	0,995
≥ 100	24	16	2,443	1,129—5,285		0,996	0,338—2,934	
Инициальное поражение центральной нервной системы								
Нет	33	12	Референтное	—	0,004	Референтное	—	0,071
Есть	19	15	2,995	1,382—6,493		2,187	0,936—5,114	
Количество бластов в 1 мкл крови на 8-й день терапии дексаметазоном								
< 1000	46	21	Референтное	—	0,096	Референтное	—	0,993
≥ 1000	7	6	2,131	0,856—5,304		0,996	0,364—2,722	
МОБ в точке наблюдения 4								
Отсутствие	31	7	Референтное	—	0,001	Референтное	—	0,001
Наличие	22	20	7,181	3,002—17,177		7,326	2,378—22,565	

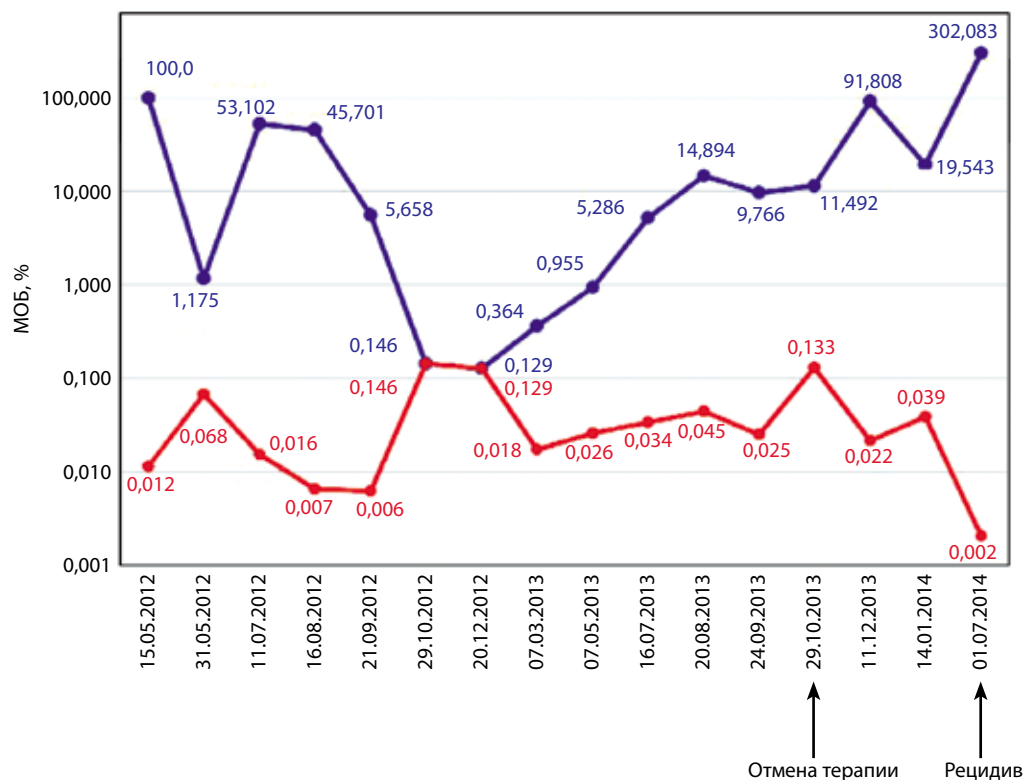


Рис. 8. Мониторинг МОБ у пациента с ОМЛ и наличием химерного транскрипта *MLL-MLLT11* методом ПЦР-РВ. Синяя кривая — величина МОБ, красная — чувствительность, рассчитанная согласно рекомендациям консорциума «Европа против рака» [22]

клеток ниже уровня чувствительности цитологического метода ($< 1\%$), они вносят существенный вклад в неблагоприятный исход заболевания [46–51]. Определение МОБ — это один из современных вариантов оценки ответа опухоли на химиотерапию, и оно находит свое применение при лечении не только ОЛ, но и ряда солидных опухолей, лимфом, множественной миеломы.

Большие усилия были приложены для стандартизации всех этапов количественного анализа при определении специфических для каждого больного перестроек генов иммуноглобулинов (*Ig*) и Т-клеточных рецепторов (*TCR*) методом ПЦР. Это дало возможность определить требования к количеству вносимого в реакцию материала, сформулировать основные понятия и принципы, разработать алгоритмы данного вида лабораторной диагностики в условиях проведения многоцентровых исследований [52, 53]. Данный метод широко применяется при мониторинге МОБ у детей и взрослых с ОЛЛ в европейских странах [28, 46, 49, 54]. На основании результатов мониторинга МОБ уже сегодня проводится стратификация пациентов с ОЛЛ, получающих терапию по многим современным протоколам [50, 54–56]. Метод хорошо себя зарекомендовал не только при *de novo* ОЛЛ, но и при рецидивах [57, 58].

Из недостатков определения МОБ методом выявления индивидуальных перестроек *Ig/TCR* следует отметить то, что проведение такого исследования техни-

чески сложно, растянуто во времени и относительно дорого [28, 29, 48]. Это затрудняет его использование для решения клинических задач в условиях нашей страны.

Еще одним подходом для мониторинга МОБ является использование сиквенса зоны разрыва в *MLL* и гене-партнере [59] для создания пациент-специфичной тест-системы с оценкой методом ПЦР-РВ [54, 60, 61]. К преимуществам данного метода следует отнести возможность абсолютного подсчета МОБ (по сравнению с использованием РНК/кДНК), а также прямую взаимосвязь между количеством химерного гена с участием *MLL* и опухолевых клеток лейкозного клона (по сравнению с перестройками *Ig/TCR*). В целом последовательность выполнения и интерпретации результатов очень близка к тому, что было предложено Европейской рабочей группой по изучению МОБ при ОЛЛ (ESG-MRD-ALL, в настоящее время — EuroMRD) для перестроек *Ig/TCR* [52]. Данный подход технически выполним и позволил с успехом проводить мониторинг МОБ как у детей первого года жизни [54], так и у взрослых [60] с наличием перестроек *MLL*. Сравнительный анализ определения МОБ по перестройкам *Ig/TCR* и индивидуальной структуре зоны разрыва в ДНК при образовании химерного гена с участием *MLL* показал хорошую степень сопоставимости двух методов [54].

Третьим из существующих способов мониторинга МОБ является применение ОТ-ПЦР и/или ПЦР-РВ для обнаружения химерных транскриптов. Химерные

транскрипты, выявляемые методом ОТ-ПЦР, или величина МОБ, определяемая при проведении ПЦР-РВ, используются в качестве фактора ответа на терапию относительно редко. Одной из причин этого является то, что химерные гены встречаются в среднем только у 40 % пациентов с ОЛЛ. Однако в случае обнаружения химерных транскриптов они являются высокочувствительными (10^{-4} – 10^{-6}) и стабильными маркерами [28, 29]. Поэтому данный вариант мониторинга МОБ нашел свое применение в группах, выделенных именно по наличию конкретного химерного гена. Так, в работе L. Elia и соавт. при выявлении химерных транскриптов *MLL-AF4* методами ОТ-ПЦР и ПЦР-РВ

у 17 взрослых пациентов с ОЛЛ было показано, что у больных, достигших МОБ-негативности, кумулятивная вероятность развития рецидива была ниже, чем у оставшихся *MLL-AF4*-позитивными (44 и 88 % соответственно) [61]. Позднее этой же группой исследователей был проведен анализ 12 случаев ОЛЛ, включая 1 пациента младше 1 года и 3 – старше 1 года с наличием химерного транскрипта *MLL-MLLT1*. Интересно, что у 5 больных в этой группе, включая пациента первого года жизни, получавшего терапию по протоколу Interfant-99, было отмечено длительное персистирование химерного транскрипта *MLL-MLLT1*, а также повторное его выявление после достижения МОБ-не-

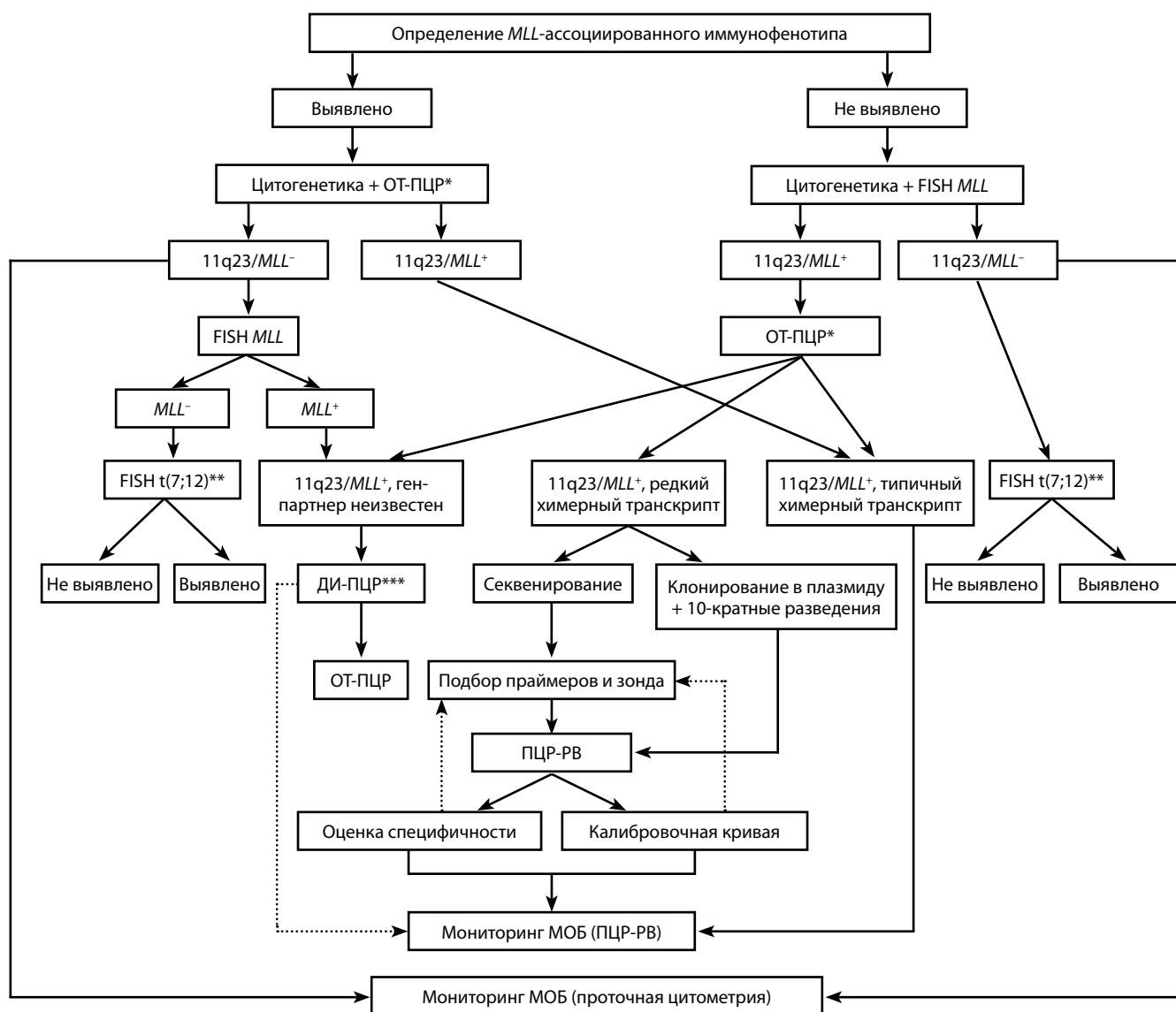


Рис. 9. Алгоритм комплексной лабораторной диагностики и мониторинга МОБ при ОЛ у детей первого года жизни на основании инициальных характеристик опухолевых бластов. Под MLL-ассоциированным иммунофенотипом понимали наличие экспрессии NG2 на CD45⁺-клетках при отсутствии экспрессии CD10 и CD20 у пациентов с ОЛЛ, а также наличие экспрессии CD11b, NG2, CD99, CD15, CD65 при ОМЛ.

*ОТ-ПЦР проводится в 2 этапа в зависимости от частоты встречаемости отдельных перестроек гена MLL. У пациентов с ОЛЛ 1-й этап: *MLL-AF4*, *MLL-MLLT1*, *MLL-MLLT3*; 2-й этап: *MLL-EPS15*, *MLL-MLLT10*. У пациентов с ОМЛ 1-й этап: *MLL-MLLT1*, *MLL-MLLT10*, *MLL-MLLT11*, *MLL-ELL*; 2-й этап: *MLL-AF4*, *MLL-MLLT4*, *MLL-MYO1F*, *MLL-FOXO4*, *MLL-SEPT6*, *MLL-SEPT9*.

FISH для выявления транслокации t(7;12) проводится пациентам с ОМЛ. *ДИ-ПЦР – длинная инвертированная ПЦР

гивности без последующего развития клинко-гематологического рецидива [62]. Все это свидетельствует в пользу того, что определение МОБ путем выявления химерных транскриптов с участием *MLL* должно применяться в таргетных группах, каковой являются дети первого года жизни, как для получения новых данных о биологии опухоли, так и для оценки клинической значимости этого метода, что и было продемонстрировано нами.

Четвертым методом определения МОБ является многоцветная проточная цитометрия. При оценке МОБ этим способом позитивными считаются образцы, в которых на точечных графиках определяется группа из 10 и более клеток, имеющих лейкоз-ассоциированный иммунофенотип и значения параметров светорассеяния, соответствующие лимфоцитам/лимфобластам. Максимальная чувствительность метода (анализ 1 000 000 клеток) составляет 0,001 %, т. е. возможно выявить 1 опухолевую клетку среди 100 000 нормальных. В то же время далеко не во всех случаях клеток в образце достаточно для достижения такой чувствительности. Поэтому минимально достаточной рутинной чувствительностью обычно принято считать 0,01 %, для достижения которой необходим анализ 100 000 клеток. Если по тем или иным причинам не удается собрать достаточное количество клеток, а опухо-

левые клетки не выявляются, исследование считается не выполненным.

Результаты определения МОБ методом проточной цитометрии при ОЛЛ у детей первого года жизни на данный момент представлены лишь в 1 публикации группы Interfant, в которой исследовался 51 пациент, получавший терапию по протоколам Interfant-99 и Interfant-06 в рамках итальянской группы AIEOP. МОБ определяли на 15-й и 33-й дни индукционной терапии. Авторами работы был сделан вывод о том, что определение МОБ методом проточной цитометрии на 15-й день терапии может быть с успехом использовано в комбинации с другими прогностическими факторами для стратификации пациентов [63].

Исходя из собственных данных, представленных здесь и опубликованных ранее [17, 27, 35–38, 43], мы сформулировали алгоритм комплексной диагностики и мониторинга МОБ при ОЛ у детей первого года жизни на основании сочетанного применения различных методов клинической лабораторной диагностики (рис. 9).

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 14-35-00105, а также постановлением № 211 Правительства Российской Федерации, контракт № 02.A03.21.0006.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Cimino G., Moir D.T., Canaani O. et al. Cloning of ALL-1, the locus involved in leukemias with the t(4;11)(q21;q23), t(9;11)(p22;q23), and t(11;19)(q23;p13) chromosome translocations. *Cancer Res* 1991;51(24):6712–4.
2. Ziemins-van der Poel S., McCabe N., Gill H.J. et al. Identification of a gene, *MLL*, that spans the breakpoint in 11q23 translocations associated with human leukemias. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88(23):10735–9.
3. Tkachuk D., Kohler S., Cleary M. Involvement of a homolog of *Drosophila tritorax* by 11q23 chromosomal translocations in acute leukemias. *Cell* 1992;71(4):691–700.
4. Шориков Е.В. Результаты программного лечения острого лимфобластного лейкоза у детей первого года жизни. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2005. 34 с. [Shorikov E.V. Treatment results of acute lymphoblastic leukemia in infants. Author's abstract of thesis ... of candidate of medicine. Moscow, 2005. 34 p. (In Russ.)].
5. Pieters R., Schrappe M., De Lorenzo P. et al. A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial. *Lancet* 2007;370(9583):240–50.
6. Hilden J., Dinndorf P., Meerbaum S. et al. Analysis of prognostic factors of acute lymphoblastic leukemia in infants: report on CCG 1953 from the Children's Oncology Group. *Blood* 2006;108(2):441–51.
7. Ferster A., Bertrand Y., Benoit Y. et al. Improved survival for acute lymphoblastic leukaemia in infancy: the experience of EORTC-Childhood Leukaemia Cooperative Group. *Br J Haematol* 1994;86(2):284–90.
8. Silverman L., McLean T., Gelber R. et al. Intensified therapy for infants with acute lymphoblastic leukemia: results from the Dana-Farber Cancer Institute Consortium. *Cancer* 1997;80(12):2285–95.
9. Lauer S., Camitta B., Leventhal B. et al. Intensive alternating drug pairs after remission induction for treatment of infants with acute lymphoblastic leukemia: A Pediatric Oncology Group pilot study. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998;20(3):229–33.
10. Tomizawa D., Koh K., Sato T. et al. Outcome of risk-based therapy for infant acute lymphoblastic leukemia with or without an *MLL* gene rearrangement, with emphasis on late effects: a final report of two consecutive studies, MLL96 and MLL98, of the Japan Infant Leukemia Study Group. *Leukemia* 2007;22(11):2258–63.
11. Dördelmann M., Reiter A., Borkhardt A. et al. Prednisone response is the strongest predictor of treatment outcome in infant acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999;94(4):1209–17.
12. Biondi A., Rizzari C., Valsecchi M.G. et al. Role of treatment intensification in infants with acute lymphoblastic leukemia: results of two consecutive AIEOP studies. *Haematologica* 2006;91(4):534–7.
13. Frankel L., Ochs J., Shuster J.J. et al. Therapeutic trial for infant acute lymphoblastic leukemia: the Pediatric Oncology Group experience (POG 8493). *J Pediatr Hematol Oncol* 1997;19(1):35–42.
14. Chessells J., Harrison C., Watson S. et al. Treatment of infants with lymphoblastic leukaemia: results of the UK Infant Protocols 1987–1999. *Br J Haematol* 2002;117(2):306–14.
15. de Zen L., Bicciato S., te Kronnie G. et al. Computational analysis of flow cytometry antigen expression profiles in childhood acute lymphoblastic leukemia: an *MLL*/AF4 identification. *Leukemia* 2003;17(8):1557–65.
16. Borkhardt A., Wuchter C., Viehmann S. et al. Infant acute lymphoblastic leukemia –

- combined cytogenetic, immunophenotypical and molecular analysis of 77 cases. *Leukemia* 2002;16(9):1685–90.
17. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А. и др. Алгоритм применения проточной цитометрии для мониторинга минимальной остаточной болезни при CD10-негативном остром лимфобластном лейкозе из В-линейных предшественников. Вопросы диагностики в педиатрии 2012;(5):31–6. [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Tsaur G.A. et al. Methodology of flow cytometry application for minimal residual disease monitoring in childhood CD10-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Voprosy diagnostiki v pediatrii* = Diagnostic Issues in Pediatrics 2012;(5):31–6. (In Russ.)].
18. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А. и др. Изменения иммунофенотипа опухолевых blastov при CD10-позитивном остром лимфобластном лейкозе у детей к 15-му дню индукционной терапии по протоколу ALL-MB-2008. Иммунология 2010;(2):60–4. [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Tsaur G.A. et al. Changes in blasts immunophenotype in CD10-positive children acute lymphoblastic leukemia by 15th day of induction therapy according ALL-MB-2008 protocol. *Immunologiya* = Immunology 2010;(2):60–4. (In Russ.)].
19. Pui C.H., Carroll W., Meshinchi S. et al. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *J Clin Oncol* 2011;29(5):551–65.
20. Biondi A., Cimino G., Pieters R. et al. Biological and therapeutic aspects of infant leukemia. *Blood* 2000;96(1):24–33.
21. Chen C.S., Sorensen P., Domer P. et al. Molecular rearrangements on chromosome 11q23 predominate in infant acute lymphoblastic leukemia and are associated with specific biologic variables and poor outcome. *Blood* 1993;81(9):2386–93.
22. Beillard E., Pallisaard N., van der Velden V. et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using “real-time” quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) – a Europe Against Cancer Program. *Leukemia* 2003;17(12):2474–86.
23. Gabert J., Beillard E., van der Velden V. et al. Standardization and quality control studies of “real-time” quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – a Europe Against Cancer Program. *Leukemia* 2003;17(12):2318–57.
24. van Dongen J., Macintyre E., Gabert J. et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia* 1999;13(12):1901–18.
25. Zaliouva M., Fronkova E., Krejciakova K. et al. Quantification of fusion transcript reveals a subgroup with distinct biological properties and predicts relapse in BCR/ABL-positive ALL: implications for residual disease monitoring. *Leukemia* 2009;23(5):944–51.
26. Taube T., Eckert C., Körner G. et al. Real-time quantification of TEL-AML1 fusion transcripts for MRD detection in relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. Comparison with antigen receptor-based MRD quantification methods. *Leuk Res* 2004;28(7):699–706.
27. Попов А.М., Цаур Г.А., Вержбицкая Т.Ю. и др. Сравнение результатов определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии и выявления химерного транскрипта полимеразной цепной реакцией у детей, больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Гематология и трансфузиология 2010;55(2):3–9. [Popov A.M., Tsaur G.A., Verzhbitskaya T.Yu. et al. Comparison of the results of evaluating the minimal residual disease by flow cytometry and by detecting of chimeric transcript by the polymerase chain reaction in children with B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Gematologiya i transfuziologiya* = Hematology and Transfusiology 2010;55(2):3–9. (In Russ.)].
28. Brüggemann M., Schrauder A., Raff T. et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the second international symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18–20 September 2008. *Leukemia* 2010;24(3):521–35.
29. Szczepanski T. Why and how to quantify minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia. *Leukemia* 2007;21(4):622–6.
30. Fechina L., Shorikov E., Tsaur G. et al. Contribution of all-trans retinoic acid to improved early relapse-free outcome in infant acute lymphoblastic leukemia comparing to the chemotherapy alone. *Blood* 2007;110(11):832A, abstract 2828.
31. Meyer C., Kowarz E., Hofmann J. et al. New insights to the *MLL* recombinome of acute leukemias. *Leukemia* 2009;23(8):1490–9.
32. Pieters R. Biology and treatment of infant leukemias. In: *Treatment of acute leukemias: new directions for clinical research*. Ed. by C.H. Pui. Totowa: Humana Press, 2003. Pp. 61–73.
33. Reaman G. Biology and treatment of infant leukemias. In: *Treatment of acute leukemias: new directions for clinical research*. Ed C.H. Pui. Totowa: Humana Press, 2003. Pp. 75–83.
34. Цаур Г.А., Флейшман Е.В., Попов А.М. и др. Цитогенетическая и молекулярно-генетическая характеристика острых лейкозов у детей первого года жизни. Клиническая онкогематология 2011;4(2):134–41. [Tsaur G.A.,
- Fleyshman E.V., Popov A.M. et al. Cytogenetics and molecular genetics of infant acute leukemias. *Klinicheskaya onkogematologiya* = Clinical Oncohematology 2011;4(2):134–41. (In Russ.)].
35. Цаур Г.А., Попов А.М., Алейникова О.В. и др. Характеристика перестроек 11q23(*MLL*) у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом. Онкогематология 2011;(3):57–64. [Tsaur G.A., Popov A.M., Aleynikova O.V. et al. Detection of 11q23(*MLL*) rearrangements in infant acute lymphoblastic leukemia. *Onkogematologiya* = Oncohematology 2011;(3):57–64. (In Russ.)].
36. Цаур Г.А., Плеханова О.М., Гиндина Т.Л. и др. Применение метода флуоресцентной гибридизации *in situ* для выявления перестроек гена *MLL* при острых лейкозах у детей первого года жизни. Медицинская генетика 2012;(7):35–45. [Tsaur G.A., Plekhanova O.M., Gindina T.L. et al. Detection of *MLL* gene rearrangements in infants under 12 month of age with acute leukemias by fluorescence *in situ* hybridization. *Meditsinskaya genetika* = Medical Genetics 2012;(7):35–45. (In Russ.)].
37. Цаур Г.А., Флейшман Е.В., Гиндина Т.Л. и др. Характеристика перестроек 11q23/*MLL* при остром миелоидном лейкозе у детей первого года жизни. Клиническая онкогематология 2012;5(4):365–70. [Tsaur G.A., Fleyshman E.V., Gindina T.L. et al. Detection of 11q23(*MLL*) rearrangements in infant acute myeloid leukemia. *Klinicheskaya onkogematologiya* = Clinical Oncohematology 2012;5(4):365–70. (In Russ.)].
38. Цаур Г.А., Флейшман Е.В., Плеханова О.М. и др. Редкие перестройки хромосомного района 11q23 и гена *MLL* при острых лейкозах у детей первого года жизни. Вопросы диагностики в педиатрии 2012;(6):16–24. [Tsaur G.A., Fleyshman E.V., Plekhanova O.M. et al. Rare 11q23/*MLL* rearrangements in infant acute leukemia. *Voprosy diagnostiki v pediatrii* = Diagnostic Issues in Pediatrics 2012;(6):16–24. (In Russ.)].
39. Balgobind B., Raimondi S., Harbott J. et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/*MLL*-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study. *Blood* 2009;114(12):2489–96.
40. Pui C.H., Gaynon P., Boyett J. et al. Outcome of treatment in childhood acute lymphoblastic leukaemia with rearrangements of the 11q23 chromosomal region. *Lancet* 2002;359(9321):1909–15.
41. Meyer C., Hofmann J., Burmeister T. et al. The *MLL* recombinome of acute leukemias in 2013. *Leukemia* 2013;27(11):2165–76.
42. Felix C., Hosler M., Slater D. et al. *MLL* genomic breakpoint distribution within

- the breakpoint cluster region in *de novo* leukemia in children. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998;20(4):299–308.
43. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А. и др. Особенности мониторинга минимальной остаточной болезни при В-линейных острых лимфобластных лейкозах методом проточной цитометрии у детей первого года жизни. *Детская онкология* 2008;(2):32–5. [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Tsaur G.A. et al. Peculiarities of minimal residual disease monitoring by flow cytometry in infants with B-lineage acute lymphoblastic leukemia *Detskaya onkologiya* = *Pediatric Oncology* 2008;(2):32–5. (In Russ.)].
44. Цаур Г.А., Наседкина Т.В., Попов А.М. и др. Время достижения молекулярной ремиссии как фактор прогноза у детей первого года жизни острым лимфобластным лейкозом. *Онкогематология* 2010;(2):46–54. [Tsaur G.A., Nasedkina T.V., Popov A.M. et al. Time to molecular remission as prognostic factor in infant acute lymphoblastic leukemia. *Onkogematologiya* = *Oncohematology* 2010;(2):46–54. (In Russ.)].
45. Цаур Г.А., Друй А.Е., Попов А.М. и др. Возможность использования микроструйных биочипов для оценки качества и количества РНК у пациентов с онкологическими и онкогематологическими заболеваниями. *Вестник уральской медицинской академической науки* 2011;(4):107–11. [Tsaur G.A., Druy A.E., Popov A.M. et al. Microfluidic biochips for RNA quantity and quality evaluation in patients with oncological disorders. *Vestnik ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki* = *Bulletin of the Ural Medical Academic Research* 2011;(4):107–11. (In Russ.)].
46. van Dongen J.J., Seriu T., Panzer-Grumayer R. et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Lancet* 1998;352(9142):1731–8.
47. Dworzak M.N., Froschl G., Printz D. et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;99(6):1952–8.
48. Campana D. Minimal residual disease studies in acute leukaemia. *Am J Clin Pathol* 2004;122:S47–57.
49. Flohr T., Schrauder A., Cazzaniga G. et al. Minimal residual disease-directed risk stratification using real-time quantitative PCR analysis of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in the international multicenter trial AIEOP-BFM ALL 2000 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2008;22(4):771–82.
50. Borowitz M., Devidas M., Hunger S. et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood* 2008;111(12):5477–85.
51. Цаур Г.А., Попов А.М., Наседкина Т.В. и др. Прогностическое значение минимальной остаточной болезни, определенной путем выявления химерных транскриптов у детей первого года жизни, больных острым лимфобластным лейкозом, получающих терапию по протоколу MLL-Baby. *Гематология и трансфузиология* 2012;57(4):12–22. [Tsaur G.A., Popov A.M., Nasedkina T.V. et al. Prognostic significance of minimal residual disease detected by PCR for fusion gene transcripts in infant acute lymphoblastic leukemia treated by MLL-baby protocol. *Gematologiya i transfuziologiya* = *Hematology and Transfusiology* 2012;57(4):12–22. (In Russ.)].
52. van der Velden V., Cazzaniga G., Schrauder A. et al. Analysis of minimal residual disease by *Ig/TCR* gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. *Leukemia* 2007;21(4):604–11.
53. van der Velden V., Panzer-Grumayer E.R., Cazzaniga G. et al. Optimization of PCR-based minimal residual disease diagnostics for childhood acute lymphoblastic leukemia in a multi-center setting. *Leukemia* 2007;21(4):706–13.
54. van der Velden V., Corral L., Valsecchi M.G. et al. Prognostic significance of minimal residual disease in infants with acute lymphoblastic leukemia treated within the Interfant-99 protocol. *Leukemia* 2009;23(6):1073–9.
55. Garand R., Beldjord K., Cavé H. et al. Flow cytometry and IgH/TCR quantitative PCR for minimal residual disease quantitation in acute lymphoblastic leukemia: a French multicenter prospective study on behalf of the FRALLE, EORTC and GRAALL. *Leukemia* 2013;27(2):370–6.
56. Schrappe M., Valsecchi M.G., Bartram C. et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study. *Blood* 2011;118(8):2077–84.
57. Eckert C., Biondi A., Seeger K. et al. Prognostic value of minimal residual disease in relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 2001;358(9289):1239–41.
58. Bader P., Kreyenberg H., Henze G. et al. Prognostic value of minimal residual disease quantification before allogeneic stem-cell transplantation in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia: the ALL-REZ BFM Study Group. *J Clin Oncol* 2009;27(3):377–84.
59. Meyer C., Schneider B., Reichel M. et al. Diagnostic tool for the identification of MLL rearrangements including unknown partner genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(2):449–54.
60. Burmeister T., Meyer C., Schwartz S. et al. Monitoring minimal residual disease by quantification of genomic chromosomal breakpoint sequences in acute leukemias with MLL aberrations. *Leukemia* 2006;20(3):451–7.
61. Elia L., Gottardi E., Floriddia G. et al. Retrospective comparison of qualitative and quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction in diagnosing and monitoring the ALL1-AF4 fusion transcript in patients with acute lymphoblastic leukaemia. *Leukemia* 2004;18(11):1824–30.
62. Elia L., Grammatico S., Paoloni F. et al. Clinical outcome and monitoring of minimal residual disease in patients with acute lymphoblastic leukemia expressing the MLL/ENL fusion gene. *Am J Hematol* 2011;86(12):993–7.
63. Popov A., Buldini B., de Lorenzo P. et al. Identification of low risk group in infants with acute lymphoblastic leukemia by flow cytometric minimal residual disease measurement at day 15 of Interfant-99 and Interfant-06 protocols treatment. *Blood* 2013;122(21):abstract 1333.

ОТ РЕДАКЦИИ



Учитывая важность заявленной проблемы обнаружения единичных опухолевых клеток при злокачественных опухолях, редакция сочла возможным публикацию статьи С.А. Кузнецова и соавт. «Методы идентификации микрометастазов при злокачественных новообразованиях», несмотря на неоднозначность оценки рецензентами данного материала, с надеждой на активное участие читателей в обсуждении данной тематики. Мы ждем ваших писем и отзывов и будем рады представить читателям ваши оригинальные статьи и обзоры.

Методы идентификации микрометастазов при злокачественных новообразованиях

С.А. Кузнецов, И.Ж. Шубина, Л.Т. Мамедова, А.Н. Грицай, М.В. Киселевский

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23

Контакты: Станислав Андреевич Кузнецов stas3011992@mail.ru

Проанализированы данные литературы, касающиеся методов, применяемых для обнаружения единичных опухолевых клеток в костном мозге, лимфатических узлах и периферической крови. Рассмотрен уровень чувствительности современных методов детекции. Несмотря на успехи в развитии молекулярной биологии и цитологии, до сих пор не существует универсального подхода к идентификации микрометастазов и рекомендуется оптимизация существующих методик.

Ключевые слова: рак молочной железы, проточная цитометрия, иммуногистохимия, микрометастазы

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-75-79

Micrometastases identification in malignant tumors

S.A. Kuznetsov, I.Zh. Shubina, L. T. Mamedova, A.N. Gritsay, M. V. Kiselevskiy

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia

The article reviewed literature data relating to the methods used for detection of single tumor cells in bone marrow, lymph nodes, and peripheral blood. Sensitivity of modern detection methods is analyzed. Despite advances in the development of molecular biology and cytology, until now there is no universal approach to the micrometastases identification, and existing methods optimization are recommended.

Key words: breast cancer, flow cytometry, immunohistochemistry, micrometastases

Введение

Проблема идентификации микрометастазов в костном мозге, лимфатических узлах (ЛУ) и крови является одной из важных задач современной онкологии. Микрометастазами обычно называют единичные опухолевые клетки или небольшие клеточные конгломераты, обнаруживаемые вне локализации основной опухоли. В зависимости от места обнаружения таких

клеток их разделяют на циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) и диссеминированные опухолевые клетки (ДОК). К ЦОК относят те, которые обнаруживают в периферической крови пациентов, а к ДОК — те, которые выявляют в тканях и органах [1].

До сих пор не существует единого мнения среди исследователей относительно прогностического значения наличия ЦОК и ДОК. По данным различных

исследований, микрометастазы выявляются в лимфе, ЛУ и костном мозге в послеоперационном периоде [2, 3]. В настоящее время утвердилось мнение, что наличие более 7–8 опухолевых клеток среди нескольких миллионов клеток лимфы уже является неблагоприятным прогнозом [4, 5]. Одна из задач при изучении роли микрометастазов — адекватный способ идентификации этих клеток. В настоящее время существует несколько методов, которые с разной точностью позволяют определить наличие опухолевых клеток в крови и костном мозге:

- 1) проточная цитометрия;
- 2) световая микроскопия;
- 3) полимеразная цепная реакция (ПЦР);
- 4) иммуномагнитная сепарация;
- 5) иммуноферментный анализ (система EPISPOT);
- 6) иммуногистохимия и иммуноцитохимия;
- 7) метод клеточных культур;
- 8) система избирательного определения опухолевых клеток CellSearch.

Проточная цитометрия

Метод проточной цитометрии основан на лазерной идентификации клеток, которые окрашены специфическими моноклональными антителами (МКА), конъюгированными с флуоресцентными красителями. Данный метод позволяет обнаружить 1 трансформированную клетку на 10^4 – 10^6 нормальных клеток.

Для проточной цитометрии используют такие флуорохромы, как, например, флуоресцеин изотиоцианат (FITC), фикоэритрин (PE), аллофикоцианин (APC) и др., конъюгированные с МКА. Для обнаружения эпителиальных клеток используют МКА против цитокератина-19 (СК19), СК18 и др., а также молекулы адгезии эпителиальных клеток (ЕpCAM) и другие рецепторы эпителиальных клеток. Проточная цитометрия позволяет определять микрометастазы в периферической крови, лимфе, костном мозге, при этом объем пунктата костного мозга обычно не превышает 0,5 мл, так как при большем объеме возможно разбавление образца периферической кровью [6]. К достоинствам данного метода можно отнести относительную простоту исполнения (в отличие, например, от иммуногистохимии), а также высокую точность подсчета клеток. Однако существует вероятность обнаружения ложноположительных клеток в пробе. В работе О.Б. Бжадуг [3] определение опухолевых клеток в периферической крови у больных раком молочной железы (РМЖ) проводили с помощью проточной цитометрии. Забор крови осуществляли в объеме 10 мл. Полученные клетки окрашивали антителами к общему лейкоцитарному антигену CD45 и к эпителиальному антигену Еp34 (HEA125). В исследование были включены 65 больных РМЖ. Частота выявления ЦОК в периферической крови составила 41,3 % [7]. В исследовании L. Wang и соавт. [5] изучаемые образцы готовили из смешанной суспензии клеток линии A431 (эпидермоидная карцинома чело-

века). Исследовали 73 образца периферической крови, включавших 48 пациенток с РМЖ различных стадий и 25 здоровых доноров. Предварительно количество клеток A431 было подсчитано с помощью флуоресцентной микроскопии. Изучаемые образцы окрашивали МКА против СК19 (FITC). Микрометастазами считали наличие окрашенных клеток, количество которых выходило за пределы предварительно подсчитанного числа клеток A431. В образцах 27 % пациенток с РМЖ были найдены микрометастазы. В образцах контрольной группы окрашенных клеток не обнаружено. Авторы отмечают, что количество микрометастазов коррелировало со стадией заболевания: чем выше стадия, тем больше опухолевых клеток было выявлено. По утверждению авторов, чувствительность метода проточной цитометрии составляет 1 опухолевую клетку на 10^4 нормальных [5].

Световая микроскопия

Анализ цитологического препарата, приготовленного стандартным образом, позволяет отличать трансформированные клетки от нетрансформированных по морфологическим признакам. Световая микроскопия используется при рутинных диагностических мероприятиях, однако для выявления единичных клеток при изучении большого количества материала такой подход становится трудновыполнимым.

В работе Е.В. Чигриновой и соавт. [8] при стандартном цитологическом и гистологическом исследовании трепанобиоптатов костного мозга и мазков аспирата не было обнаружено патологических элементов, при этом цитокератин-положительные клетки были обнаружены при иммуногистохимическом окрашивании.

Полимеразная цепная реакция

ПЦР основана на способности ДНК к репликации. Благодаря этому методу стало возможным обнаружение даже незначительного количества генетического материала в пробе [9]. В течение нескольких часов можно получить до 10^{10} копий одной молекулы ДНК (или ее фрагмента). Цикл ПЦР состоит из нескольких стадий. Сначала происходит денатурация двухцепочечной молекулы ДНК, затем следует процесс гибридизации, для которого используются праймеры — специальные фрагменты матричной РНК (мРНК). Для поиска микрометастазов используют мРНК антигенов, которые экспрессируются клетками злокачественных новообразований. Следующим этапом является достраивание полной двухцепочечной молекулы ДНК или ее фрагмента. Идентификация фрагментов проводится с помощью электрофореза в агарозном геле. Помимо этого, можно использовать праймеры к генам, в которых могут быть мутации при злокачественных новообразованиях (*p53*, *KRAS*) [10]. ПЦР обладает очень высокой чувствительностью (1 трансформированная на 10^6 нетрансформированных клеток).

Кроме того, ДНК является более удобным субстратом для исследования, чем клетки, и легко переносит неблагоприятные условия окружающей среды.

Существует возможность исследовать ДНК из парафиновых срезов, что позволяет увеличить точность исследования благодаря комбинации нескольких методов [3]. В работе К. Uzawa и соавт. [11] производилась детекция ЦОК с помощью метода ПЦР в реальном времени. Исследователи обнаруживали мутантные митохондриальные ДНК (мут-мтДНК), ассоциированные с опухолью, при плоскоклеточном раке полости рта. Были приготовлены праймеры к 3 последовательностям: 12S-rРНК, 16S-rРНК, D-петле (фрагмент ДНК, участвующий в репликации генетического материала митохондрий и хлоропластов). Были проведены исследования 240 клинических образцов *in vitro* и *in vivo*. В клетках полученных линий плоскоклеточного рака полости рта была обнаружена одна из приведенных выше последовательностей, в то время как в клетках нормальных тканей они не выявлялись. В послеоперационном периоде наличие мут-мтДНК в сыворотке крови четко коррелировало с плохим прогнозом течения заболевания. Авторы предполагают, что описанный метод может стать новым подходом в определении микрометастазов, где молекулярным маркером является циркулирующая мут-мтДНК. В работе N. Xenidis и соавт. [12] исследовалось наличие клеток, в которых присутствовали мРНК, кодирующие СК19, у больных РМЖ на ранней стадии при лечении тамоксифеном. Были исследованы образцы периферической крови 119 больных РМЖ с рецепторами прогестерона или эстрогенов. Детекцию мРНК осуществляли с помощью ПЦР в реальном времени. У 22 (18,5 %) пациентов были обнаружены клетки с кодирующей СК19 мРНК. Авторы отметили, что наличие таких клеток является прогностически неблагоприятным фактором.

Иммуномагнитная сепарация

Иммуномагнитная сепарация является одним из новых методов выявления цитокератин-положительных клеток. Показана эффективность метода для пациентов с остеосаркомой, злокачественной меланомой, РМЖ и др. [13]. Данный метод может использоваться для определения наличия микрометастазов в интраоперационном периоде, в целях уточнения стадии заболевания и необходимого объема хирургического вмешательства [14]. В методике используется принцип обогащения пула цитокератин-положительных клеток с помощью магнитных микрошариков, конъюгированных с различными антителами к цитокератинам (например, СК19, СК20, СК7/8). Суспензию клеток, инкубированных с магнитными шариками с цитокератинами, пропускают через колонку, которая прикреплена к магниту. После того как суспензия прошла через колонку, ее отсоединяют от магнита и смывают оставшиеся клетки буфером, таким образом получая клеточную суспензию, обогащенную цитокератин-

положительными клетками. Для уточнения цитологической характеристики обогащенных магнитной сепарацией клеток их окрашивают гематоксилином и эозином для последующего морфологического анализа. В работе И.С. Стилиди и соавт. [14] методом магнитной сепарации клеток костного мозга у 15 из 25 больных раком пищевода и легких II–III стадии в образцах костного мозга, полученного интраоперационно, были обнаружены от 2 до 15 клеток, конъюгированных с магнитными шариками (СК7/8). Иммуноцитохимическим методом было подтверждено наличие цитокератин-положительных клеток.

Иммуноферментный анализ (система EPISPOT)

Система EPISPOT (EPithelial ImmunoSPOT) является разновидностью иммуноферментного анализа, которая позволяет проводить прижизненное изучение трансформированных клеток. Благодаря этому методу можно определять белки, которые выделяют опухолевые клетки в процессе своей жизнедеятельности [15]. В основе метода лежит реакция клеток (или продуктов их жизнедеятельности) с МКА. В основном этот метод используется для детекции ЦОК. Клетки культивируются на мембране, на которую предварительно были нанесены антитела. Эти антитела «захватывают» белки, которые продуцируются опухолевыми клетками, а затем их определяют с помощью вторичных антител, конъюгированных с флуорохромами. Используемые маркеры имеют опухолевую специфичность, например для РМЖ – СК19 и муцин-1 (MUC1) [15]. При раке предстательной железы в качестве маркера используют секрецию простатспецифического антигена. Показано, что значительная часть ЦОК секретируют фактор роста фибробластов (FGF2) [15], что позволяет использовать антитела к этому фактору роста как маркер для детекции опухолевых клеток.

Помимо культивирования клеток на мембране можно использовать жидкие среды, как, например, сыворотку крови при детекции ЦОК. Данный метод позволяет проводить биохимический анализ молекул, секретируемых опухолевыми клетками. Однако концентрация факторов, продуцируемых опухолевыми клетками, будет низкой, если количественно самих клеток было мало. А в случае идентификации микрометастазов можно говорить об 1–7 трансформированных клетках на сотни тысяч нетрансформированных. В исследовании S. P. Leong и соавт. [16] приняли участие 68 больных меланомой. Клетки для идентификации выделяли из сторожевых ЛУ. Использовали следующие маркеры: интерферон- γ (ИФН- γ), интерлейкин-2 (ИЛ-2), гранулоцитарно-макрофагальный колоние-стимулирующий фактор (ГМ-КСФ), ИЛ-10. Контролем служили клетки, выделенные из близлежащих несторожевых ЛУ. В целом разницы в уровне ИЛ-10 в клетках сторожевых и несторожевых ЛУ обнаружено не было, однако отмечено значительное увеличение продукции ИФН- γ , ИЛ-2 и ГМ-КСФ в сторожевых

ЛУ по сравнению с уровнем секреции этих цитокинов в ЛУ, не дренирующих опухоль. По данным авторов, микрометастазы были определены в сторожевых ЛУ у 8 пациентов из 68. Повышенный уровень цитокинов в сторожевых ЛУ зарегистрирован у больных без микрометастазов ($n = 60$), в то время как у пациентов с микрометастазами ($n = 8$) уровень цитокинов не превышал параметров в образцах сравнения [16].

Иммуногистохимия и иммуноцитохимия

Эти два метода в настоящее время наиболее широко применяются при определении микрометастазов в костном мозге и ЛУ. Данный метод основан на специфическом окрашивании определенных фрагментов клеток, что облегчает их визуальное определение с помощью светового микроскопа.

В случае, когда иммуноцитохимия используется для определения микрометастазов в костном мозге, основой служат МКА к антигенам, не характерным для гемопоэтической ткани [17], но экспрессирующимся опухолевыми клетками. Как правило, используют антитела к эпителиальному мембранному антигену (ЕМА), цитокератинам, опухоль-ассоциированному гликопротеину 12 (TAG12). Иммуноцитохимия позволяет определить 1–2 опухолевые клетки на 1 млн нетрансформированных. Таким образом, это один из самых точных методов идентификации микрометастазов.

К недостаткам данного метода можно отнести вероятность получения ложноположительных результатов, так как известно, что некоторые ранние миелоидные клетки и некоторые лимфоидные клетки костного мозга несут на себе ЕМА. Помимо этого, в костном мозге здоровых людей встречаются единичные клетки, несущие СК18 [17]. Иммуногистохимия сходна с иммуноцитохимией, но в данной методике происходит окрашивание тканей, а не отдельных клеток. Однако гистологическое окрашивание более трудоемко и требует более длительного времени, вследствие чего данная методика не подходит для экспресс-диагностики единичных опухолевых клеток.

В исследование В.В. Родионова и соавт. [6] были включены 50 больных РМЖ. Метастатический процесс отмечен у 37 из них, у 19 обнаружены микрометастазы в костном мозге. С использованием гистологического метода микрометастазы в костный мозг выявлены у 10 больных, а с помощью цитологического — у 5. Авторы отмечают, что наибольшую чувствительность показал именно метод иммуноцитохимии, с его помощью в 12 из 19 образцов были обнаружены единичные опухолевые клетки. Положительными считались образцы при наличии 1 опухолевой клетки на 1 млн миелокариоцитов [17].

Метод клеточных культур

При данной методике в питательную среду помещают образцы, полученные с помощью биопсии. Нетрансформированные клетки костного мозга не будут делиться в непривычных для себя условиях. Поэтому получение вторичных колоний позволяет говорить о наличии в образце опухолевых клеток [17].

Метод CellSearch

Одним из наиболее современных методов диагностики ЦОК является система CellSearch. Метод активно используется для обнаружения ЦОК в периферической крови во время лечения (он позволяет идентифицировать 5 опухолевых клеток в 7,5 мл цельной крови, что свидетельствует о высокой чувствительности). Определение микрометастазов с помощью метода CellSearch выполняется в 2 этапа: обогащение клеток магнитными наночастицами, конъюгированными со специфическими антителами, и детекция этих клеток на специальном приборе или на флуоресцентном микроскопе. Для определения клеток эпителиального происхождения используют СК8, СК18, СК19 и ЕрСАН. После связывания клеток с наночастицами их окрашивают 4,6-диамидино-2-фенилиндол дигидрохлоридом (DAPI). Идентификацию клеток проводят на приборе CellTracks Analyzer II, который представляет собой флуоресцентный микроскоп, способный к воссозданию изображений клеток. Опухолевыми клетками принято считать клетки, которые несут на себе СК8, СК18, СК19 и ЕрСАН, но не несут CD45 [18]. В настоящее время получены данные об идентификации трансформированных клеток при метастатическом раке предстательной железы, метастатическом РМЖ, метастатическом колоректальном раке. Результаты проведенных исследований [18, 19] показали, что наличие микрометастазов в периферической крови является прогностически неблагоприятным фактором [19].

Заключение

Сегодня существует несколько различных методов идентификации микрометастазов в костном мозге и периферической крови. При этом наиболее часто используемыми, несмотря на их трудоемкость, остаются иммуноцитохимия и иммуногистохимия. Тем не менее продолжают поиск, разработка и совершенствование методов идентификации микрометастазов, поскольку их роль в течении заболевания до сих пор не однозначна, и в настоящее время проводятся интенсивные исследования по определению микрометастазов и изучению их прогностической значимости.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Тупицын Н.Н. Циркулирующие и диссеминированные раковые клетки при раке молочной железы и раке яичников. Онкогинекология 2013;(1):12–8. [Tupitsyn N.N. Circulating and disseminated tumor cells in breast cancer and ovarian cancer. Onkoginekologiya = Oncogynecology 2013;(1):12–8. (In Russ.)].
2. Balbi G., Manganaro M.A., Monteverde A. et al. Ovarian cancer: lymph node metastases. Eur J Gynaecol Oncol 2009;30(3):289–91.
3. Бжадуг О.Б. Рак молочной железы. Значение выявления микрометастазов в периферической крови и костном мозге. Иммунология гемопоэза 2005;(4):48–59. [Bzhadug O.B. Breast cancer. The value of micrometastases detection in peripheral blood and bone marrow. Immunologiya gemopoeza = Hematopoiesis Immunology 2005;(4):48–59. (In Russ.)].
4. Hwang K.Y., Yoon Y.I., Hwang S. et al. Survival analysis following resection of AJCC stage III gallbladder carcinoma based on different combinations of T and N stages. Korean J Hepatobiliary Pancreat Surg 2015;19(1):11–6.
5. Wang L., Wang Y., Liu Y. et al. Flow cytometric analysis of CK19 expression in the peripheral blood of breast carcinoma patients: relevance for circulating tumor cell detection. J Exp Clin Cancer Res 2009;28:57.
6. Родионов В.В., Тупицын Н.Н., Богомолова О.А. и др. Диагностика диссеминированных опухолевых клеток рака молочной железы в костном мозге с помощью метода проточной цитометрии. Фундаментальные исследования 2013;(3):147–51. [Rodionov V.V., Tupitsyn N.N., Bogomolova O.A. et al. Diagnosis of disseminated breast cancer tumor cells in bone marrow by flow cytometry. Fundamental'nye issledovaniya = Basic Research 2013;(3):147–51. (In Russ.)].
7. Бжадуг О.Б., Тюляндин С.А., Привцова Л.Ю. и др. Клиническое значение определения циркулирующих опухолевых клеток в крови больных распространенным раком молочной железы. Иммунология гемопоэза 2007;(2):72–102. [Bzhadug O.B., Tyulyandin S.A., Grivtsova L.Yu. et al. Clinical significance of circulating tumor cells in patients with advanced breast cancer. Immunologiya gemopoeza = Hematopoiesis Immunology 2007;(2):72–102. (In Russ.)].
8. Чигринова Е.В., Бокин И.И., Жордания К.И. и др. Микрометастазы в костном мозге у больных раком яичников – новая проблема? Опухоли женской репродуктивной системы 2007;(1–2):59–63. [Chigrinova E.V., Bokin I.I., Zhordaniya K.I. et al. Micrometastases in bone marrow of patients with ovarian cancer – a new problem? Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy = Tumors of the Female Reproductive System 2007;(1–2):59–63. (In Russ.)].
9. Ghossein R., Bhattacharya S., Rosai J. Molecular detection of micrometastases and circulating tumor cells in solid tumors. Clin Cancer Res 1999;5(8):1950–60.
10. Aerts J., Wynendaele W., Paridaens R. et al. A real-time quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) to detect breast carcinoma cells in peripheral blood. Ann Oncol 2003;12(1):39–46.
11. Uzawa K., Kasamatsu A., Baba T. et al. Quantitative detection of circulating tumor-derived mitochondrial NADH subunit variants as a potential prognostic biomarker for oral cancer. Int J Oncol 2015;47(3):1077–83.
12. Xenidis N., Markos V., Apostolaki S. et al. Clinical relevance of circulating CK-19 mRNA-positive cells detected during the adjuvant tamoxifen treatment in patients with early breast cancer. Ann Oncol 2007;18(10):1623–31.
13. Wang G.Y., Wang S.J., Li Y. et al. Detecting bone marrow micrometastasis of gastric cancer by magnetic activated cell sorting combined with fluorescent activated cell sorting. Ai Zheng 2005;24(5):605–10.
14. Стилиди И.С., Лебединская О.В., Шубина И.Ж. и др. Выявление микрометастазов в костном мозге и лимфатических узлах онкологических больных с использованием метода иммуномагнитной сепарации. Сибирский онкологический журнал 2007;(1):44–8. [Stilidi I.S., Lebedinskaya O.V., Shubina I.Zh. et al. Detection of micrometastasis in the bone marrow and lymph nodes of cancer patients using immunomagnetic separation method. Sibirskiy onkologicheskij zhurnal = Siberian Journal of Oncology 2007;(1):44–8. (In Russ.)].
15. Alix-Panabieres C., Pantel K. Detection and characterization of disseminating cancer cells in patients with solid epithelial malignancies. Haematopoiesis Immunology 2012;(1):78–93.
16. Leong S.P., Peng M., Zhou Y.M. et al. Cytokine profiles of sentinel lymph nodes draining the primary melanoma. Ann Surg Oncol 2002;9(1):82–7.
17. Родионов В.В., Петров С.В. Проблемы костномозгового метастазирования у больных раком молочной железы. Иммунология гемопоэза 2008;(1):38–53. [Rodionov V.V., Petrov S.V. Problems of bone marrow metastasis in patients with breast cancer. Immunologiya gemopoeza = Hematopoiesis Immunology 2008;(1):38–53. (In Russ.)].
18. Cristofanilli M., Budd G.T., Ellis M.J. et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. N Engl J Med 2004;351(8):781–91.
19. Miller M.C., Doyle G.V., Terstappen L.W. Significance of circulating tumor cells detected by the CellSearch system in patients with metastatic breast, colorectal and prostate cancer. J Oncol 2010;2010:617421.

Уважаемые читатели!

К сожалению, в № 4 журнала «Онкогематология» за 2015 г. была допущена ошибка на стр. 15. Редакция приносит свои извинения и публикует правильное название и список авторов статьи:

Лечение зрелоклеточных В-клеточных неходжкинских лимфом у детей и подростков с использованием комбинированной иммунохимиотерапии: возможности оптимизации терапевтической стратегии.

Авторы: Н.В. Смирнова¹, Н.В. Мякова¹, М.Б. Белогурова², О.В. Рыскаль³, О.Е. Никонова³, О.П. Хлебникова⁴, Г.Р. Шарাপова⁵, А.С. Федорова⁶, Н.А. Григорьева⁷, А.В. Шамардина⁸, Н.И. Пономарева⁹, Д.С. Абрамов¹, Д.М. Коновалов¹, М.Э. Дубровина¹, А.А. Масчан¹, Е.В. Самочатова¹.

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1; ²СПб ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31»; Россия, 197110, Санкт-Петербург, пр-т Динамо, 3; ³ГБУЗ ПК «Пермская краевая детская клиническая больница»; Россия, 614066, Пермь, ул. Баумана, 22; ⁴ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149, Екатеринбург, ул. С. Дербяиной, 32; ⁵БУ ХМАО – Югры «Нижевартовская окружная клиническая детская больница»; Россия, 628609, Нижневартовск, ул. Северная, 30; ⁶ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» Минздрава Республики Беларусь; Республика Беларусь, 223053, Минская область, дер. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43; ⁷ГБУЗ АО «Архангельская областная детская клиническая больница им. П.Г. Выжлецова»; Россия, 163002, Архангельск, пр-т Обводный канал, 7; ⁸ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница»; Россия, 603136, Нижний Новгород, ул. Ванеева, 211; ⁹ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России; Россия, 117513, Москва, Ленинский пр-т, 117.

ПОЗДРАВЛЯЕМ!



Дорогие друзья!

Сегодня со страниц журнала «Онкогематология» нам выпала честь поздравить Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева (ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева) с 25-летием. Мы, детские гематологи-онкологи России, как ученики основателя и генерального директора Центра Александра Григорьевича Румянцева, преисполнены гордостью, что нам выпала честь быть частью команды, в авангарде которой уже четверть века находится Центр, начинавший свою историю как Научно-исследовательский институт детской гематологии (НИИ ДГ).

За эти годы прожито много славных страниц истории, связанных со становлением как самого Центра, так и службы детской гематологии-онкологии в Российской Федерации. И эти процессы неразрывно связаны между собой. По инициативе ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева было создано Национальное общество детских гематологов и онкологов (НОДГО), которое сегодня объединяет большинство детских гематологов и онкологов России.

14 января 1991 г. на базе Республиканской детской клинической больницы был открыт НИИ ДГ, первыми его сотрудниками стали А.Г. Румянцев, Е.В. Самочатова, Е.Б. Владимирская, А.А. Масчан, О.И. Крыжановский, Л.В. Байдун, Н.В. Замараева. Они были основоположниками работы, позволившей сегодня добиться выдающихся успехов, главным из которых стала возможность излечения до 80 % детей с онкологическими заболеваниями. Успех стал возможен только благодаря активной работе коллектива единомышленников. Первое в России многоцентровое исследование, первая трансплантация гемопоэтических стволовых клеток от неродственного донора, первый опыт применения иммунотерапии для лечения онкологических заболеваний — все это началось с Центра.

Центр стал не только «проводником» технологий, но и научной базой и кузницей кадров. Многие врачи проходили здесь ординатуру, повышали квалификацию и были участниками программ стажировок на рабочем месте. Именно такой подход помог решить одну из важнейших задач – оказывать одинаково качественную помощь детям на территории всей Российской Федерации. Сегодня с этой целью на базе Центра и НОДГО ведутся многоцентровые исследования, готовятся клинические рекомендации и стандарты. Сотрудники Центра не только принимают коллег у себя, но и едут в регионы России, чтобы на месте рассказать о последних достижениях в области детской гематологии-онкологии, проконсультировать больных, определить организационные потребности и пригласить коллег к активному сотрудничеству.

Благодаря этой работе стало возможным не просто успешно лечить детей, но и транслировать этот опыт за пределы нашей страны. Наряду с приглашением на работу ведущих специалистов из других стран, это делает уникальной и международную деятельность Центра. Важными вехами работы стало участие в саммите Всемирной организации здравоохранения по детской онкологии в качестве представителей Российской Федерации, а также в Конгрессе Азиатского подразделения Международного общества детской онкологии (SIOP Asia), который состоится в конце мая 2016 г.

Центр под руководством директората смотрит в будущее, где открываются потрясающие перспективы клеточной терапии, внедрения новых методов лучевой терапии, многоцентровых взаимодействий и многое другое. Сегодня ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева является во всех смыслах национальным лидером.

***Мы желаем от всего сердца дальнейшего развития, новых свершений
и выдающихся достижений!***

От Национального общества детских гематологов и онкологов (НОДГО)

С.Р. Варфоломеева, исполнительный директор

К.И. Киргизов, ответственный секретарь

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 – не более 2000 знаков с пробелами. Количество **ключевых слов** должно составлять от 3 до 10.

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 желательное **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: antonina@abvpress.ru с обязательным указанием названия журнала.