

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

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

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ONCOHEMATOLOGY

**Фолликулярная лимфома:
результаты многоцентрового
исследования**

**Современные представления
о патогенезе грибвидного микоза**

**Инфекционные осложнения
в онкогематологии**

**Физиологические и патологические
аспекты активации тромбоцитов**

3

ТОМ 13
2018

Журнал «Онкогематология» 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 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.

Электронная версия журнала представлена в ведущих российских и мировых электронных библиотеках, в том числе EBSCO и DOAJ.

В апреле 2017 г. принято решение о включении журнала в базу данных Scopus.

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

<http://oncohematology.abvpress.ru>

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Самочатова Елена Владимировна, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, главный научный сотрудник отдела депрессий кроветворения, миелоидных лейкозов, редких и наследственных болезней ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Зейналова Первин Айдыновна, д.м.н., заведующая отделом гематологии и трансплантации костного мозга НИИ клинической онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

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 ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Путешкин 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 «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

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

ПОМОЩНИК ОТВЕТСТВЕННОГО СЕКРЕТАРЯ

Петрова Галина Дмитриевна, к.м.н., научный сотрудник отделения интенсивной химиотерапии и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

3 ^{ТОМ 13}
'18

О С Н О В А Н В 2005 Г.

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 Е.П. Врублевская
Корректор Т.Н. Помидуйко
Дизайн Е.В. Степанова
Верстка Е.А. Прокофьева

Служба подписки и распространения
И.В. Шургаева, +7 (499) 929-96-19,
base@abvpress.ru
Руководитель проекта
А.Г. Прилепская, +7 (965) 319-10-53,
alla@abvpress.ru

Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций
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. 2018. Том 13.
№ 3. 1–104
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2018
Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» — 42167
Отпечатано в типографии
ООО ООО «Медиаколор»
Тираж 3000 экз.

<http://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» Минздрава 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)

Дубровин Михаил Михайлович, д.м.н., профессор, отдел ядерной медицины Детского исследовательского госпиталя св. Иуды (Мемфис, США)

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

Криволапов Юрий Александрович, д.м.н., профессор, член панели патологов Европейской сети исследования лимфом, член Европейской рабочей группы исследования костного мозга, заведующий патологоанатомическим отделением клинической молекулярной морфологии Клиники им. Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО «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 «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Минков М.Л., д.м.н., доцент, заведующий Клиникой педиатрии и подростковой медицины с отделением неонатологии больницы Rudolfstiftung (Вена, Австрия)

Мякова Наталья Валерьевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением онкогематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский 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 «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Пономарев Владимир Борисович, д.м.н., отдел радиологии Мемориального онкологического центра Слоана-Кеттеринга (Нью-Йорк, США)

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

Снеговой Антон Владимирович, д.м.н., заведующий отделением амбулаторной химиотерапии (дневной стационар) НИИ клинической онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Усс Анатолий Леонидович, д.м.н., профессор, главный гематолог Минздрава 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 ГБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница № 1», руководитель Центра детской онкологии и гематологии (Екатеринбург, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Крыжановский Олег Игоревич, к.м.н., руководитель программы лечения злокачественных гематологических заболеваний медицинского 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 «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Поддубная Ирина Владимировна, д.м.н., профессор, академик РАН, проректор по учебной работе и международному сотрудничеству, заведующая кафедрой онкологии и паллиативной медицины Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава России, председатель Российского общества онкогематологов (Москва, Россия)

Россиев Виктор Анатольевич, к.м.н., врач высшей категории, заведующий гематологическим отделением ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. М.И. Калинина» (Самара, Россия)

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

Румянцев Сергей Александрович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, проректор по стратегическому развитию, заведующий кафедрой онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, заведующий кафедрой трансляционной и регенеративной медицины ФГАОУ ВПО «Московский физико-технический институт (государственный университет)» Минобрнауки России (Москва, Россия)

Талалаев Александр Гаврилович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Российский национальный 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 "Oncohematology" 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 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).

The journal's electronic version has been available in the leading Russian and international electronic libraries, including EBSCO and DOAJ.

In April 2017, the decision was made to include the journal in the Scopus database.

ONCOHEMATOLOGY

QUARTERLY PEER-REVIEWED SCIENTIFIC-AND-PRACTICAL JOURNAL

<http://oncohematology.abvpress.ru>

EDITOR-IN-CHIEF

Samochatova Elena V., MD, PhD, Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Chief Researcher of Hematopoiesis depressions, myeloid leukemia, rare and hereditary diseases department in Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

DEPUTIES OF EDITOR-IN-CHIEF

Zeynalova Pervin Aydynovna, MD, Head of the Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation at the N.N. Blokhin National Medical Research Oncology Center at the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

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 Hematology, 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 Healthcare Department; Head of Department of Cooperated Research in Adolescents / Adults Hematology / Oncology Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology 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 Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology 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 OF EXECUTIVE SECRETARY

Petrova Galina D., MD, PhD, Research Fellow in Department of Intensive Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

FOUNDED IN 2005

3 Vol. 13
'18

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 **E.P. Vrublevskaya**
Proofreader **T.N. Pomiluyko**
Designer **E.V. Stepanova**
Maker-up **E.A. Prokofieva**

Subscription & Distribution Service

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

The journal was registered at the Federal Service for Surveillance of Communications, Information Technologies, and Mass Media (PI No. FS77-36928 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. 2018.
Volume 13. No. 3. 1–104
© PH "ABV-Press", 2018

Pressa Rossii catalogue
index: 42167
Printed at the Mediicolor LLC
3,000 copies

<http://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)

Dobrovinn Mikhail M., MD, PhD, Nuclear Medicine Division, St. Jude Children's Research Hospital (Memphis, USA)

Karachunsky Alexander I., MD, PhD, Professor, Deputy General Director – Director of the Institute of Oncology, Radiology and Nuclear Medicine of Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology 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)

Krivolapov Yuri A., MD, PhD, Professor, Member of Pathologists Panel of European Lymphomas Research Group, Member of European Bone Marrow Research Group, Head of Anatomic-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 National Research Center for Hematology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Minkov M.L., MD, PhD, Vienna Hospital Association Rudolfstiftung Hospital, Clinic of Pediatrics and Adolescent Medicine with Department for Neonatology (Vienna, Austria)

Myakova Natalya V., MD, PhD, Professor, Head of Oncohematology Department of Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology 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 Healthcare Department (Moscow, Russia)

Parovichnikova Elena N., MD, PhD, Head of Department of Chemotherapy of Hematological Malignancy, Hematopoiesis Depression and Bone Marrow Transplantation in National Research Center for Hematology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Ponomarev Vladimir B., MD, PhD, Department of Radiology of Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (New York, USA)

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

Snegovoy Anton Vladimirovich, MD, Head of the Department of Outpatient Chemotherapy (day patient facility) at the N.N. Blokhin National Medical Research Oncology Center at the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Uss Anatoly L., MD, PhD, Professor, Chief Hematologist of Ministry of Health of the Republic of Belarus, Member of Transplantation 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 No. 1, Head of Center of Children's Oncology and Hematology (Yekaterinburg, Russia)

EDITORIAL COUNCIL

Krijanovski Oleg I., MD, PhD, Director of Malignant Hematology Program "Alta Bates" Summit Medical Center (Berkeley, California, 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 National Research Center for Hematology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Poddubnaya Irina V., MD, PhD, Professor, Academician of Russian Academy of Sciences, Vice-Rector for Academic Affairs and International Cooperation, Head of Oncology and Palliative Medicine Department of Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of Ministry of Health of Russia, Chairman of the Russian Society of Oncohematology (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 Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology 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, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Vice-Rector for Strategic Development, Head of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in N.I. 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 N.I. 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)

Ж У Р Н А Л Ы

Scopus

ОНКОУРОЛОГИЯ

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Онкологическая КОЛОПРОКТОЛОГИЯ

ИЗДАНИЕ
для специалистов в области
онкологии и лечения
кишечного рака

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

КЛИНИЦИСТ

АНДРОЛОГИЯ И ГЕНИТАЛЬНАЯ ХИРУРГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Scopus

РУССКИЙ ЖУРНАЛ ДЕТСКОЙ НЕВРОЛОГИИ

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

НЕЙРОХИРУРГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Scopus Нервно-мышечные БОЛЕЗНИ

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ



МЕДИЦИНСКИЙ ТУРИЗМ

ЖУРНАЛ О ДОСТИЖЕНИЯХ МИРОВОЙ МЕДИЦИНЫ
И ЛОГИСТИКЕ ЛЕЧЕНИЯ

Опухоли ГОЛОВЫ и ШЕИ

ежеквартальный
научно-практический
рецензируемый
журнал

Scopus

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

Онлайн-версия журнала
доступна по адресу:
<http://emo.abvpress.ru/jour>

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ОНКО ПАТОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ОПУХОЛИ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Российский Биотерапевтический Журнал

Rossiyskiy Bioterapevticheskiy Zhurnal

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Г А З Е Т Ы

Онкология Сегодня

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЕ ИЗДАНИЕ ДЛЯ ОНКОЛОГОВ

Урология сегодня

специализированное издание для урологов

www.urologia.ru
Издаётся с 2011 года

СОВРЕМЕННАЯ КАРДИОЛОГИЯ

www.cardioexpert.ru

НЕВРОЛОГИЯ СЕГОДНЯ

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ГАЗЕТА
ДЛЯ НЕВРОЛОГОВ

ГЕМОБЛАСТОЗЫ: ЛЕЧЕНИЕ, СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

<i>Е.С. Нестерова, С.К. Кравченко, А.М. Ковригина, Э.Г. Гемджян, Л.В. Пластинина, Я.К. Мангасарова, Ф.Э. Бабаева, А.Е. Мисюрина, О.В. Марголин, А.У. Магомедова, В.И. Воробьев, Д.С. Марьин, Е.А. Барях, Ю.Ю. Поляков, П.А. Зейналова, Е.М. Володичева, Н.Н. Глонина, Н.В. Минаева, Ж.А. Давыдова, В.Г. Савченко</i>	
Фолликулярная лимфома: результаты многоцентрового исследования терапии первой линии препаратами бендамустина и ритуксимаб, факторы риска неблагоприятных событий (протокол FL-RUS-2013).	10
<i>О.М. Демина, О.Е. Акилов, А.Г. Румянцев</i>	
Т-клеточные лимфомы кожи: современные данные патогенеза, клиники и терапии	25
<i>А.А. Воронцова, А.Э. Карамова, Л.Ф. Знаменская</i>	
Современные представления о патогенезе грибвидного микоза	39
<i>Е.В. Волчков, П.А. Жарков, М.А. Пантелеев</i>	
Подходы к профилактике и терапии ибрутинибассоциированных кровотечений у взрослых пациентов	47

ПРОБЛЕМЫ ИНФЕКЦИЙ В ОНКОГЕМАТОЛОГИИ

<i>В.А. Охмат, Г.А. Клясова, Е.Н. Паровичникова, В.Н. Девирнык, В.В. Троицкая, Е.О. Грибанова, В.Г. Савченко</i>	
Инфекционные осложнения у больных острыми лейкозами в зависимости от длительности гранулоцитопении	55
<i>А.А. Новикова, Г.А. Клясова, Е.О. Грибанова, В.А. Охмат, В.В. Рыжко, В.Г. Савченко</i>	
Инфекционные осложнения у больных множественной миеломой в период первого курса химиотерапии	63

ТРУДНЫЙ ДИАГНОЗ

<i>И.А. Демина, О.И. Илларионова, Т.Ю. Вержбицкая, Г.А. Цаур, Е.Б. Русанова, М.В. Горчакова, Е.Е. Зуева, М.Б. Белогурова, Г.И. Улейская, Л.А. Щекина, А.Н. Казакова, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Ольшанская, Ю.Г. Абугова, Л.Г. Фечина, Н.В. Мякова, Е.В. Самочатова, А.А. Масчан, А.М. Попов</i>	
Редкие случаи расхождения лабораторных признаков при диагностике лимфомы Беркитта у детей.	76

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

<i>А.А. Мартыанов, В.Н. Канева, М.А. Пантелеев, А.Н. Свешникова</i>	
Физиологические и патофизиологические аспекты активации тромбоцитов крови через рецептор CLEC-2	83
<i>Д.В. Борсакова, М.Е. Плахотник, Л.Д. Колева, Е.А. Бовт, Ю.Г. Александрович, Ф.И. Атауллаханов, Е.И. Синауридзе</i>	
Сравнительные методологические исследования включения L-аспарагиназы в эритроциты	91

ПРЕСС-РЕЛИЗ 102

HEMATOLOGIC MALIGNANCIES: TREATMENT, SUPPORTIVE CARE

- E.S. Nesterova, S.K. Kravchenko, A.M. Kovrigina, E.G. Gemdzhian, L.V. Platinina, Ya.K. Mangasarova, F.E. Babaeva, A.E. Misyurina, O.V. Margolin, A.U. Magomedova, V.I. Vorobiev, D.S. Maryin, E.A. Baryakh, Yu. Yu. Polyakov, P.A. Zeynalova, E.M. Volodicheva, N.N. Glonina, N.V. Minaeva, G.A. Davydova, V.G. Savchenko*
Follicular lymphoma: results of multicenter study of first-line therapy with bendamustine and rituximab, risk factors for adverse events (FL-RUS-2013 protocol). 11
- O.M. Demina, O.E. Akilov, A.G. Rumyantsev*
Cutaneous T-cell lymphomas: modern data of pathogenesis, clinics and therapy. 25
- A.A. Vorontsova, A.E. Karamova, L.F. Znamenskaya*
Modern concepts of the mycosis fungoides pathogenesis. 39
- E.V. Volchkov, P.A. Zharkov, M.A. Pantelev*
Approaches to the prevention and therapy of ibrutinib-associated bleeding in adult patients 47

INFECTION PROBLEMS IN ONCOHEMATOLOGY

- V.A. Okhmat, G.A. Klyasova, E.N. Parovichnikova, V.N. Dvirnik, V.V. Troitskaya, E.O. Gribanova, V.G. Savchenko*
Infectious complications in patients with acute leukemia according to the duration of neutropenia 55
- A.A. Novikova, G.A. Klyasova, E.O. Gribanova, V.A. Okhmat, V.V. Ryzhko, V.G. Savchenko*
Infectious complications in patients with multiple myeloma on first chemotherapy cycle 63

DIFFICULT DIAGNOSIS

- I.A. Demina, O.I. Illarionova, T.Yu. Verzhbitskaya, G.A. Tsaur, E.B. Rusanova, M.V. Gorchakova, E.E. Zueva, M.B. Belogurova, G.I. Uleiskaya, L.A. Shchekina, A.N. Kazakova, E.A. Zerkalenskaya, Yu.V. Olshanskaya, Yu.G. Abugova, L.G. Fechina, N.V. Miakova, E.V. Samochatova, A.A. Maschan, A.M. Popov*
Rare cases of laboratory tests discrepancies in diagnostics of pediatric Burkitt lymphoma/leukemia 76

CURRENT BASIC RESEARCH IN PRACTICAL MEDICINE

- A.A. Martyanov, V.N. Kaneva, M.A. Pantelev, A.N. Sveshnikova*
Physiological and pathophysiological aspects of blood platelet activation through CLEC-2 receptor 83
- D.V. Borsakova, M.E. Plakhotnik, L.D. Koleva, E.A. Bovt, Yu.G. Alexandrovich, F.I. Ataullakhanov, E.I. Sinauridze*
Comparative methodological studies of L-asparaginase encapsulation into erythrocytes. 91

PRESS RELEASE 102

Фолликулярная лимфома: результаты многоцентрового исследования терапии первой линии препаратами бендамустин и ритуксимаб, факторы риска неблагоприятных событий (протокол FL-RUS-2013)

Е.С. Нестерова¹, С.К. Кравченко¹, А.М. Ковригина¹, Э.Г. Гемджян¹, Л.В. Пластинина¹,
Я.К. Мангасарова¹, Ф.Э. Бабаева¹, А.Е. Мисюрина¹, О.В. Марголин¹, А.У. Магомедова¹,
В.И. Воробьев², Д.С. Марьин³, Е.А. Барях³, Ю.Ю. Поляков³, П.А. Зейналова⁴, Е.М. Володичева⁵,
Н.Н. Глониная⁶, Н.В. Минаева⁷, Ж.А. Давыдова⁸, В.Г. Савченко¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России;
Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4;

²ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ»; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский пр-д, 5;

³ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 52 ДЗМ»; Россия, 123182 Москва, ул. Пехотная, 3;

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

⁵ГУЗ ТО «Тульская областная клиническая больница»; Россия, 300053 Тула, ул. Яблочкова, 1а;

⁶КГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.И. Сергеева» Министерства здравоохранения Хабаровского края;
Россия, 680009 Хабаровск, ул. Краснодарская, 9;

⁷ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России;
Россия, 610027 Киров, ул. Красноармейская, 72;

⁸НУЗ «Отделенческая больница на ст. Смоленск ОАО «РЖД»; Россия, 214025 Смоленск, 1-й Краснофлотский пер., 15

Контакты: Екатерина Сергеевна Нестерова nest.ek@yandex.ru

Введение. Фолликулярная лимфома (ФЛ) является наиболее распространенным типом индолентных лимфом и составляет 20–30 % всех впервые диагностированных неходжкинских лимфом. Высокий риск рецидива и пожилой возраст больных обуславливают сложность выбора индукционной терапии при ФЛ. В ряде исследований было показано, что курс ритуксимаб – бендамустин (R–B) в сравнении с курсом R–СНОР увеличивает беспрогрессирующую выживаемость (БПВ) больных ФЛ и обладает меньшей токсичностью, однако в этих исследованиях не изучались эффективность и токсичность курса R–B в зависимости от различных цитологических типов ФЛ.

Цель исследования – оценка эффективности и токсичности курса R–B (с поддержкой R) в целом и в зависимости от различных цитологических типов ФЛ, оценка общей выживаемости (ОВ) и БПВ (неблагоприятные события: прогрессия, рецидив, смерть); определение факторов риска неблагоприятного события в целом и летального исхода в частности. Основной конечной точкой данного исследования выбрана БПВ.

Материалы и методы. Данное проспективное многоцентровое исследование проведено с июня 2013 по июнь 2018 г., в нем приняли участие 74 пациента с ФЛ. Проанализированы данные 66 пациентов, у которых лечение было проведено в полном объеме: мужчин – 23/66 (35 %) (медиана и средний возраст соответственно 57 и 55 лет) и женщин – 43/66 (65 %) (медиана и средний возраст: 59 и 57 лет), 32/66 больных были старше 60 лет.

У 49/66 (74 %) пациентов диагностирован цитологический тип ФЛ I, у 10/66 (15 %) – тип 2, у 7/66 (11 %) – тип 3А. По характеру роста опухоли распределение оказалось следующим: нодулярный характер роста у 34/66 (52 %) больных, нодулярно-диффузный – у 28/66 (42 %), диффузный – у 4/66 (6 %). Индекс пролиферативной активности составил 27 % (1–70 %). В случаях ФЛ цитологического типа 3А значения Ki-67 были в интервале от 50 до 70 %, что свидетельствует об агрессивности опухоли. У 26/66 (39 %) пациентов наблюдались экстранодальные очаги: в 4/66 случаях – орбита и слезный аппарат, в 2/66 – околоушная железа, в 5/66 – легкие, в 4/66 – кишечник, в 2/66 – желудок, в 2/66 – поджелудочная железа, в 2/66 – матка, в 2/66 – кожа, в 1/66 – подкожная клетчатка, в 3/66 – позвонки, в 1/66 – решетчатый лабиринт и носовые ходы, в 1/66 – почки, в 1/66 – корень языка. В 23/26 (88 %) случаях экстранодального поражения наблюдалось генерализованное поражение лимфатических узлов, экстранодальных очагов и костного мозга. Анализ ассоциации цитологического типа с клиническими особенностями опухоли показал, что при цитологическом типе 1–2 экстранодальные очаги встречались в 37 % случаев (у 22/59 пациентов), при типе 3А – в 57 % (у 4/7 пациентов). Наличие bulky при цитологическом типе 3А отмечалось чаще, чем при типе 1–2: 3/7 (43 %) против 20/59 (34 %). У 37/66 (56 %) пациентов определялось поражение костного мозга, при этом у 38/59 (64 %) из них был цитологический тип опухоли 1–2 и только в 1 случае – 3А (1/7 (14 %)). По критериям FLIPI пациенты разделились следующим образом: в I группе риска – 15/66 (23 %) больных, во II – 20/66 (30 %), в III–IV – 17/66 (26 %), в группе крайне высокого риска (5 баллов) – 14/66 (21 %). В группе высокого и крайне высокого риска по FLIPI в 25/59 (42 %) случаях диагностирован цитологический тип опухоли 1–2, в 7/7 (100 %) – цитологический тип 3А. Более чем у половины пациентов наблюдалось наличие В-симптомов (37/66) (56 %). Из 7 пациентов (7/66), имеющих цитологический тип 3А, В-симптомы были в 5 случаях (5/7 (71 %)), при цитологическом типе 1–2 – в 32/59 (54 %). Иммунохимическое исследование белков сыворотки крови и мочи проведено в 38/66 (57 %) случаях (при цитологическом типе 1–2 исследование проведено у 31/59 пациентов, при типе 3А – у всех пациентов (7/7)).

Повышение концентрации сывороточного $\beta 2$ -микроглобулина отмечалось у 21/31 (68 %) больного с цитологическим типом опухоли 1–2 и во всех 7 случаях цитологического типа 3А (100 %). Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) превышала нормальное значение у 35/66 (53 %) пациентов (274–2754 Ед/л), из них только у одного пациента – выше 1000 Ед/л (2754 Ед/л). У 33/59 (56 %) при цитологическом типе 1–2, у 6/7 (86 %) пациентов с цитологическим типом 3А активность ЛДГ была выше нормальных значений. (В данном исследовании факторы риска неблагоприятного события одновременно являются и его предикторами.)

Результаты. Полная ремиссия заболевания достигнута у 40/66 (61 %) пациентов, причем в 3 случаях развился рецидив заболевания. Частичная ремиссия достигнута у 13/66 (19 %) пациентов. В 11/66 (17 %) случаях была зафиксирована прогрессия опухоли (у 6/7 пациентов диагностирован цитологический тип 3А). У 2/66 (3 %) пациентов после 4 курсов R–В отмечен минимальный противоопухолевый ответ (опухоль сократилась менее чем на 50 %). Им была продолжена высокодозная химиотерапия. Медиана наблюдения (на момент анализа) – 34 мес.

Пятилетняя (а также 3-летняя) ОВ всех пациентов ($n = 66$) на фоне терапии R–В (с поддержкой R) составила 90 % (95 % доверительный интервал (ДИ) 78–96), 5-летняя и 3-летняя БПВ (неблагоприятные события: смерть, прогрессия и рецидив) равны: 70 % (95 % ДИ 55–85) и 75 % (95 % ДИ 60–89) соответственно. Кумулятивная частота рецидива (с учетом конкурирующих рисков прогрессии и летального исхода) к 3 годам после начала лечения составила 11 % (95 % ДИ 3–19).

Определены (в результате пошагового многофакторного регрессионного анализа Кокса) следующие независимые статистически значимые ($p \leq 0,05$) предикторы БПВ (измерены в дебюте заболевания):

- 1) цитологический тип опухоли (тип 3А);
- 2) поражение нодальных зон (>4);
- 3) наличие конгломерата опухолевых лимфатических узлов размером более 6 см (bulky);
- 4) экспрессия белка Ki-67 (>35 %).

Первые 3 характеристики (а также близкий к уровню значимости признак «наличие экстра nodальных очагов») являются независимыми статистически значимыми предикторами также и ОВ.

В однофакторном анализе статистически значимыми предикторами БПВ оказались (помимо вышеперечисленных) следующие характеристики: поражение костного мозга, $\beta 2$ -микроглобулин ($>2,2$ мг/л), возраст (старше 68 лет), гемоглобин (<110 г/л), международный прогностический индекс FLIPI (5 баллов), ЛДГ (>540 Ед/л) и интервал времени между началом заболевания и началом лечения (>22 мес).

Заключение

1. Определены независимые отрицательные предикторы ОВ и БПВ при ФЛ.
2. Из выявленных предикторов неблагоприятного события больший риск (по результатам многофакторного анализа) ассоциирован с цитологическим типом опухоли 3А.
3. Индекс FLIPI обладает прогностической ценностью для определения не только ОВ, но и БПВ (причем в редуцированном дихотомическом виде: 5 баллов против всех остальных вместе взятых).
4. Увеличение интервала времени между первыми проявлениями фолликулярной лимфомы (увеличение лимфатического узла/появление опухолевого образования) и началом терапии свыше некой пороговой величины (оценочно равной примерно 22 мес) ассоциировано (по результатам однофакторного анализа) с ростом риска неблагоприятного события. Одна из причин увеличения этого интервала времени связана с выжидательной врачебной тактикой, принятой при медленном разворачивании клинической картины заболевания. Полученный результат показывает, что низкая скорость развития клинической картины заболевания не коррелирует с низким риском неблагоприятных событий и, следовательно, не может быть определяющим фактором при принятии решения о начале терапии.
5. В выборе индукционной терапии решающим фактором является морфология опухоли.
6. После достижения полной/частичной ремиссии ФЛ существует постоянный риск рецидива заболевания (к 3 годам от окончания ПХТ риск рецидива составляет 11 % (95 % ДИ 3–19)).
7. Курс R–В эффективно saniрует костный мозг.
8. После 4 курсов R–В возможна успешная мобилизация стволовых клеток для проведения трансплантации аутологичных стволовых клеток крови.
9. Схема лечения R–В эффективна и имеет сравнительно низкую токсичность, поэтому целесообразна в терапии пожилых больных.

Ключевые слова: фолликулярная лимфома, первая линия терапии, бендамустин, ритуксимаб, проспективное исследование, анализ выживаемости, многофакторный анализ, регрессия Кокса, кумулятивная частота, конкурирующие риски

Для цитирования: Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Ковригина А.М. и др. Фолликулярная лимфома: результаты многоцентрового исследования терапии первой линии препаратами бендамустин и ритуксимаб; факторы риска неблагоприятных событий (протокол FL-RUS-2013). Онкогематология 2018;13(3):10–24

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-10-24

Follicular lymphoma: results of multicenter study of first-line therapy with bendamustine and rituximab, risk factors for adverse events (FL-RUS-2013 protocol)

E.S. Nesterova¹, S.K. Kravchenko¹, A.M. Kovrigina¹, E.G. Gemdzian¹, L.V. Plastinina¹, Ya.K. Mangasarova¹, F.E. Babaeva¹, A.E. Misyurina¹, O.V. Margolin¹, A.U. Magomedova¹, V.I. Vorobiev², D.S. Maryin³, E.A. Baryakh³, Yu. Yu. Polyakov³, P.A. Zeynalova⁴, E.M. Volodicheva⁵, N.N. Glonina⁶, N.V. Minaeva⁷, G.A. Davydova⁸, V.G. Savchenko¹

¹National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyi Zыkovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia;

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

³City Clinical Hospital No. 52. 3 Pekhotnaya St., Moscow 123182, Russia;

⁴N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24, Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

⁵Tula Regional Clinical Hospital; 1a Yablochkova St., Tula 300053, Russia;

⁶S.I. Sergeev Regional Clinical Hospital No. 1. Ministry of Health of Khabarovsk Krai; 9 Krasnodarskaya St., Khabarovsk 680009, Russia;

⁷Kirov Scientific Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical and Biological Agency; 72

Krasnoarmeyskaya St., Kirov 610027, Russia;

⁸Railway Hospital at Smolensk station; 15 1st Krasnoflotskiy Pereulok, Smolensk 214025, Russia

Background. Follicular lymphoma (FL) is the most common type of indolent lymphomas and accounts for 20–30 % of all non-Hodgkin's lymphomas detected. High risk of recurrence and elderly patients make it difficult to choose induction therapy for FL. The R–B course in comparison with the R–CHOP course increases the progressive free survival (PFS) of FL patients and is less toxic. International studies have not studied the efficacy and toxicity of the R–B course due to various cytological types of FL.

Aim of the study – assessment of the effectiveness and toxicity of the R–B course (with R support) in general and depending on the different cytological types of FL, the assessment of overall survival (OS) and PFS (adverse events: progression, relapse, death); identification of risk factors for an adverse event in general and death, in particular. The main endpoint of this study is selected BPV.

Materials and methods. We performed a prospective, multicenter, open-label trial in Russia since June 1, 2013 till June 1, 2018. The study included 74 patients with FL. Median age of patients was 59 years (from 30 to 78 years). Treatment was completed in 66 patients, so this group of patients was analyzed. Ratio between men and women was 1:2. 32/66 of patients (48 %) were older than 60 years old. Patients received rituximab 375 mg/m² on day 1 and bendamustine 90 mg/m² on days 1 and 2 of a 4-week cycle (6 cycles). 49/66 (74 %) of patients were diagnosed with FL grade 1, 10/66 (15 %) – grade 2, 7/66 (11 %) – grade 3A. 34/66 (52 %) patients had nodular tumor growth type, 28/66 (42 %) – nodular-diffuse, 4/66 (6 %) – diffuse. High risk according to FLIPI had 25/59 (42 %) of patients with cytologic grade of FL 1–2 and 7/7 (100 %) of patients with FL grade 3A. Extranodal lesions were revealed in 26/66 (39 %) of cases: in 4/66 of cases – orbit, in 2/66 – parotid gland, in 5/66 – lungs, in 4/66 – intestines, in 2/66 – stomach, 2/66 – pancreas, 2/66 – uterus, 2/66 – skin, 1/66 – subcutaneous tissue, 3/66 – vertebrae, in 1/66 – latticed maze and nasal passages, 1/66 – kidneys, 1/66 – root of the tongue. In 23/26 (88 %) of cases extranodal lesion was revealed in generalized stage of FL (including lymph nodes and bone marrow). Extranodal lesions were found in 37 % of patients with FL grade 1–2, and 57 % with FL grade 3A. Bulky also was observed more frequently in pts with FL grade 3 3/7 (43 %) than in patients with FL grade 1–2 20/59 (34 %). (The risk factors of an adverse event are also its predictors in this study.)

Results. Complete remission of disease was achieved in 40/66 (61 %) patients, partial remission – 13/66 (19 %) patients. Tumor progression observed in 11/66 (17 %) cases, patients were withdrawn from the protocol. A partial tumor response was achieved in 2/66 cases (3 %) and patients received high-dose therapy after 4 courses of R–B.

Five-year (as well as the 3-year) overall survival (OS) of all patients ($n = 66$) in R–B was 90 % (95 % confidence interval (CI) 78–96), 5-year PFS – 70 % (95 % CI 55–85) and a 3-year PFS – 75 % (95 % CI 60–89). The cumulative incidence of relapse (considering competing risks of progression and death) at the 3rd year after initiation of treatment was 11 % (95 % CI 3–19).

The following independent statistically significant ($p \leq 0.05$) predictors of PFS (measured in the onset of the disease) were determined (as a result of a stepwise multivariate cox regression analysis):

- 1) cytological type of tumor (only type 3A is significant);
- 2) involvement of nodal zones (more than 4);
- 3) presence of a conglomerate of tumor lymph nodes larger than 6 cm (bulky);
- 4) Ki-67 protein expression (more than 35 %).

The first 3 characteristics (as well as the sign «presence of extranodal foci», close to the level of significance) are independent statistically significant predictors of OS.

In the single factor analysis the following characteristics (besides the above) were significant: index FLIPI (significant only 5 points against all others), bone marrow damage, β_2 -microglobulin (more than 2.2 mg/L), age (over 68 years) and hemoglobin (less than 110 g/dL).

Conclusion

1. The independent negative predictors of OS and PFS in follicular lymphoma were determined.
2. Of the predictors of an adverse event identified, the greatest risk (as a result of a multivariate analysis) is associated with a 3A cytological type of tumor.
3. The FLIPI index has a predictive value not only for the determination of OS, but also for the PFS (moreover, in reduced dichotomous form: 5 points against all the others combined).
4. An increase in the time interval between the first manifestations of follicular lymphoma (lymph node enlargement / appearance of a tumor formation) and the start of therapy beyond a certain threshold value (estimated to be approximately 22 months) is associated (according to the results of univariate analysis) with an increased risk of an adverse event. One of the reasons for the increase in this time interval is associated with expectant medical tactics adopted during the slow development of the clinical picture of the disease. The obtained result shows that the low rate of development of the clinical picture of the disease does not correlate with the low risk of adverse events, and, therefore, cannot be a determining factor when deciding whether to start treatment.
5. The morphology of the tumor is the determining factor in the choice of induction therapy.
6. After achieving full/partial remission of FL, there is a constant risk of recurrence of the disease (by the age of 3 from the termination of treatment, the risk is 11 % (95 % CI 3–19)).
7. The R–B course effectively sanitizes the bone marrow.
8. The R–B allows performing stem cells mobilization and autoSCT that is actual in FL patients with bone marrow involvement.

9. The treatment regimen of R–B is effective and has a relatively low toxicity, so it is advisable in the treatment of elderly patients.

Key words: follicular lymphoma, first line therapy, bendamustine, rituximab, prospective study, survival analysis, multivariate analysis, cumulative incidence, competing risks

For citation: Nesterova E.S., Kravchenko S.K., Kovrigina A.M. et al. Follicular lymphoma: results of multicenter study of first-line therapy with bendamustine and rituximab; risk factors for adverse events (FL-RUS-2013 protocol). *Onkogematologiya = Oncohematology* 2018;13(3):10–24

Фолликулярная лимфома (ФЛ) является наиболее распространенным типом индолентных лимфом и составляет от 20 до 30 % от всех впервые диагностированных неходжкинских лимфом (НХЛ) [1]. Медиана возраста больных ФЛ — 65 лет. Заболеваемость ФЛ в европейских странах составляет 1,6–3,1 на 100 тыс. населения. У больных старше 75 лет заболеваемость выше [2, 3].

В большинстве случаев опухоль обладает высокой химиочувствительностью, но вместе с тем высока и вероятность рецидива заболевания: 5-летняя беспрогрессивная выживаемость (БПВ) больных на фоне стандартной терапии по программе СНОР с ритуксимабом (R) составляет 40 % [4]. В течение 10 лет от окончания химиотерапии 15–28 % случаев трансформируются в диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВККЛ) [5, 6].

Для определения характера течения опухоли при ФЛ используется ряд прогностических индексов. Согласно активно применяемому в клинической практике международному прогностическому индексу для ФЛ FLIPI [7, 8] пациенты подразделяются на 3 группы риска в соответствии с пятью параметрами, включающими: возраст старше 60 лет, стадию по классификации Ann Arbor III–IV, концентрацию гемоглобина менее 120 г/л, поражение более 4 нодальных зон и повышение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Индекс FLIPI, созданный (в 2004 г.) до эпохи ритуксимаба и основанный на ретроспективных данных, в 2009 г. был пересмотрен: новый индекс FLIPI-2, включающий концентрацию сывороточного β_2 -микроглобулина, диаметр самого большого лимфатического узла и поражение костного мозга, становится более актуальным. Появление новых знаний в области биологии опухоли привело к оценке клинико-генетического риска ФЛ и созданию еще не стандартизованного прогностического индекса m7-FLIPI, учитывающего статус мутаций 7 наиболее важных генов [9, 10]. Постоянные попытки создания новых прогностических индексов и выделения новых прогностически значимых параметров предпринимаются с целью оптимизации выбора индукционной терапии.

Заболевание гетерогенно не только по клиническому течению, но и по морфологии опухоли, характеру пролиферации опухолевых клеток, наличию дополнительных генетических нарушений. Пятилетняя общая выживаемость (ОВ) больных ФЛ составляет 60 %. У 80 % пациентов наблюдается, как правило,

длительное, но часто рецидивирующее течение с медианой ОВ более 10 лет [11]. В 20 % случаев заболевание протекает агрессивно с медианой ОВ от 1 до 2 лет [12–14]. Гетерогенность ФЛ отражена в новой классификации ВОЗ от 2016 г., где впервые ФЛ с агрессивным течением отнесена к ДВККЛ с реаранжировкой гена *IRF4* [15].

В лечении ФЛ применяют лучевую терапию, иммунотерапию, радиоиммунотерапию, моно- и полихимиотерапию (ПХТ), высокодозную терапию с последующей трансплантацией аутологичных стволовых клеток периферической крови или аутологичного костного мозга [16, 17].

Несмотря на наличие нескольких прогностических моделей, надежных критериев прогноза нет, следовательно, и нет стандартов лечения. Выбор клинициста опирается на российские и международные клинические рекомендации с учетом возраста и соматического статуса пациента. Проведение химиотерапии показано при большой массе опухоли, признаках прогрессии, наличии В-симптомов, снижении показателей периферической крови, угрозе или наличии нарушений жизненно важных функций (критерии начала терапии).

В качестве терапии 1-й линии наиболее часто применяются курсы R–СНОР и R–В [18]. До появления бендамустина использовались схемы терапии больных ФЛ R–СНОР (частота применения 60 %), R-CVP (частота применения 27 %) и R-FMC (частота применения 13 %). Сравнение эффективности курсов в рандомизированных клинических испытаниях показало, что R–СНОР более эффективен, чем R-CVP, и менее токсичен, чем R-FMC [19, 20].

Особого внимания заслуживают пожилые пациенты, а также пациенты с сопутствующей патологией (сердечно-сосудистая патология, сахарный диабет в стадии декомпенсации и др.), для которых ограничено применение химиотерапевтических режимов, содержащих антрациклины (СНОР).

С учетом высокой вероятности рецидива фолликулярной лимфомы и медианы возраста больных выбор индукционной терапии склоняется в пользу сравнительно эффективных и менее токсичных препаратов.

Алкилирующий препарат бендамустин получил широкое применение в качестве химиотерапии ФЛ как в 1-й линии терапии, так и при рецидиве. Бендамустин (Рибомустин) синтезирован в 1963 г.

в Восточной Германии, широко использовался в терапии неходжкинских лимфом (НХЛ), но проведенные клинические исследования носили ограниченный характер. После объединения Германии вновь возник интерес к этому препарату, в результате чего благодаря своей клинической эффективности бендамустин был зарегистрирован Европейским агентством по лекарственным средствам и FDA в США для лечения хронического лимфолейкоза и индолентных В-клеточных НХЛ. Препарат сочетает в себе свойства алкилирующего препарата и пуринового аналога [27]. По сравнению с циклофосфамидом и кармустином сильнее повреждает дезоксирибонуклеиновую кислоту в клетках-мишенях, блокируя при этом механизмы репарации нуклеиновых кислот [21].

Рибомустин зарегистрирован в Российской Федерации для терапии хронического лимфолейкоза и индолентных НХЛ как в 1-й линии терапии, так и при прогрессии/рецидиве.

Первые результаты по оценке эффективности схемы R—B были представлены немецкой исследовательской группой (StiL), где в рандомизированном исследовании схема R—B в сравнении с режимом R—СНОР оказалась более эффективной и менее токсичной [17]. В исследование было включено 549 пациентов. Терапию по схеме R—B получил 261 больной, из которых ФЛ цитологического типа 1–2 составила 53 %, лимфома из клеток мантии — 18 %, лимфома из клеток маргинальной зоны — 14 %, лимфоплазмацитома — 8 %, В-ХЛЛ — 4 %, неклассифицируемый тип зрелоклеточной лимфомы — 3 %. Общий противоопухолевый ответ был одинаковым в группах R—B против R—СНОР (92,7 % против 91,3 % соответственно), но полнота ответа была значительно выше в группе R—B (39,8 %) по сравнению с группой R—СНОР (30,0 %) ($p = 5,03$). При медиане наблюдения 45 мес 5-летняя БПВ после курсов R—B составила 60 % по сравнению с R—СНОР (38 %). Общая выживаемость не различалась в обеих группах. После терапии R—B было сравнительно меньше случаев инфекционных осложнений и наблюдалась более низкая гематологическая токсичность.

Подобные результаты представлены P. Mondello и соавт. [22]: в исследование включено 263 первичных пациента с НХЛ (ФЛ, лимфома из клеток маргинальной зоны, лимфома из малых лимфоцитов, лимфоплазмацитома, макроглобулинемия Вальденстрема). Терапию по программе R—B получили 90 больных, из них 60 % — больные ФЛ. Общий противоопухолевый ответ достигнут у 94 % пациентов, на фоне R—СНОР — 92 %. Полнота ответа для R—B составила 63 %, на фоне R—СНОР — 66 %. Пятилетняя БПВ после терапии R—B 93 %, на R—СНОР — 65 %. В 6 раз чаще в группе R—СНОР встречались случаи как гематологической, так и негематологической токсичности (алопеция, тошнота, парестезии, кожные высыпания по типу эритемы, инфекционные осложнения). Исследователи

делают вывод о том, что схема R—B в качестве терапии 1-й линии больных ФЛ цитологического типа 3А более эффективна и менее токсична в сравнении с R—СНОР.

Обнадеживающие результаты международных исследований обусловили целесообразность проведения данного проспективного многоцентрового исследования комбинированной терапии 1-й линии у больных ФЛ.

Цель исследования — изучение эффективности терапии ФЛ по программе бендамустин-ритуксимаб (ритуксимаб 375 мг/м² в 1-й день и бендамустин 90 мг/м² внутривенно в 1-й и 2-й дни) (с поддержкой R) в целом и при различных цитологических типах ФЛ, оценка токсичности и переносимости данной схемы терапии и определение факторов риска неблагоприятного события в целом (прогрессии, рецидива или смерти) и отдельно летального исхода. Основной конечной точкой исследования выбрана БПВ.

Материалы и методы

Настоящее исследование было проведено с июня 2013 по июнь 2018 г. В нем приняли участие 74 пациента, которые находились на лечении в 5 клиниках г. Москвы, 4 региональных клиниках России (г. Киров, Тула, Смоленск, Хабаровск).

В исследование были включены первичные пациенты в возрасте 18 лет и старше с функциональным статусом ECOG ≤ 3 . Диагноз ФЛ был подтвержден иммуногистохимическим исследованием. Пациенты ранее не получали системную/лучевую терапию, дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол был одобрен этическим комитетом в референсном центре (ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ).

Все пациенты перед началом терапии были обследованы согласно установленным стандартам первичного обследования пациента с онкогематологическим заболеванием. Дозы вводимых препаратов были следующими: ритуксимаб 375 мг/м² в 1-й день курса внутривенно, бендамустин 90 мг/м² в 1-й и 2-й дни внутривенно. Курсы проводились 1 раз в 28 дней. После окончания терапии пациенты получали поддерживающую терапию ритуксимабом в дозе 375 мг/м² 1 раз в 2 мес в течение 2 лет после окончания терапии.

Эффективность терапии оценивалась после 2, 4, и 6 курсов ПХТ согласно международным оценкам эффективности терапии [23].

Данный анализ проведен для 66 (из 74) больных, у которых лечение окончено. У оставшихся 8 больных лечение продолжается.

Соотношение мужчин и женщин составило 1:2. Медиана возраста больных — 59 лет (30–78 лет). Из 66 больных в возрасте старше 60 лет было 32/66 пациента (48 %).

У 49/66 (74 %) пациентов диагностирован цитологический тип ФЛ 1, у 10/66 (15 %) — 2, у 7/66

(11 %) — 3А. По характеру роста опухоли распределение оказалось следующим: нодулярный характер роста — 34/66 (52 %) больных, нодулярно-диффузный — 28/66 (42 %), диффузный — 4/66 (6 %).

Индекс пролиферативной активности в среднем составил 27 % (1–70 %). У пациентов с ФЛ цитологического типа 3А значения Ki-67 были в интервале от 50–70 %, что свидетельствует об агрессивности опухоли.

У 26/66 (39 %) пациентов наблюдались экстранодальные очаги: в 4/66 случаях — орбита и слезный аппарат, в 2/66 — околоушная железа, в 5/66 — легкие, в 4/66 — кишечник, в 2/66 — желудок, в 2/66 — поджелудочная железа, 2/66 — матка, в 2/66 — кожа, в 1/66 — подкожная клетчатка, в 3/66 — позвонки, в 1/66 — решетчатый лабиринт и носовые ходы, 1/66 — почки, 1/66 — корень языка (1/66). В 23/26 (88 %) случаях экстранодального поражения наблюдалось генерализованное поражение лимфатических узлов, экстранодальных очагов и костного мозга.

Анализ связи цитологического типа с клиническими особенностями опухоли показал, что при цитологическом типе 1–2 экстранодальные очаги встречались в 37 % случаев (22/59), а при типе 3А — в 57 % (4/7). Наличие опухолевого конгломерата размером более 6 см внутрибрюшной или забрюшинной локализации (bulky) при цитологическом типе 3А встречались чаще, чем при типе 1–2: 3/7 (43 %) против 20/59 (34 %).

У 37/66 (56 %) пациентов определялось поражение костного мозга. В этих случаях почти у всех больных был цитологический тип опухоли 1–2 (38/59 (64 %)) и только в 1 случае — 3А (1/7 (14 %)).

По критериям FLIPI пациенты разделились следующим образом: в I группе риска — 15/66 (23 %) больных, во II — 20/66 (30 %), в III–IV — 17/66 (26 %), в группе крайне высокого риска (5 баллов) — 14/66 (21 %). В группе высокого и крайне высокого риска по FLIPI в 25/59 (42 %) случаях диагностирован цитологический тип опухоли 1–2, в 7/7 случаях (100 %) — тип 3А.

У более чем половины пациентов наблюдалось наличие В-симптомов (37/66, 56 %). Из 7 пациентов (7/66) с цитологическим типом 3А В-симптомы были в 5 случаях (5/7, 71 %), при цитологическом типе 1–2 — в 32/59 (54 %) случаях. Данный факт еще раз подтверждает агрессивность ФЛ цитологического типа 3А, имеющей морфологические и клинические признаки ДВККЛ.

В 2 случаях (4/66, 6 %) диагностирована лейкемизация опухоли, при которой определялась спокойная морфологическая картина опухоли — цитологический тип 1, что не соответствует клиническому течению заболевания. Лейкемизация была ассоциирована с поражением костного мозга: во всех 4 случаях выявлено очаговое зрелоклеточное поражение костного мозга.

Иммунохимическое исследование белков сыворотки крови и мочи проведено в 38/66 (57 %) случаях

(при цитологическом типе 1–2 исследование выполнено 31/59 пациенту, при типе 3А — всем пациентам (7/7)) из них повышение концентрации сывороточного β 2-микроглобулина выше нормы как предиктор неблагоприятного прогноза диагностировано у 21/31 (68 %) больных с цитологическим типом опухоли 1–2 и во всех 7 случаях цитологического типа 3А (100 %).

Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) превышала нормальное значение у 35/66 (53 %) пациентов (274–2754 Ед/л), из них только у 1 пациента этот показатель был выше 1000 Ед/л (2754 Ед/л). У 33/59 (56 %) с цитологическим типом опухоли 1–2, а также у 6/7 (86 %) пациентов с цитологическим типом 3А активность ЛДГ была выше нормальных значений.

Статистический анализ

Для определения предикторов неблагоприятного события (смерти, прогрессии или рецидива) по БПВ (основной конечной точке данного исследования) характеристики пациентов (дебюта заболевания) исследовали методами (однофакторным и многофакторным) анализа выживаемости (с определением пороговых значений характеристик). Расчеты проводили в статистических пакетах SPSS 24.0 и SAS 9.4.

Результаты

Всем 66 пациентам, включенным в исследование, курсы проведены в полных дозах.

По окончании терапии полная ремиссия заболевания была достигнута у 40/66 (61 %) больных, у 3 развились рецидивы заболевания: 1 ранний рецидив (с цитологическим типом опухоли 1) и 2 поздних рецидива (с цитологическими типами опухоли 1 и 2) через 24 мес после окончания ПХТ и поддерживающей терапии ритуксимабом (табл. 1).

Частичная ремиссия достигнута у 13/66 (19 %) пациентов, у 1 из которых случился поздний рецидив (через 24 мес после окончания ПХТ и поддерживающей терапии ритуксимабом).

В 11/66 (17 %) случаях (табл. 2) во время проведения терапии R–В была зафиксирована прогрессия опухоли (у 6/7 пациентов диагностирован 3А цитологический тип), в связи с чем пациенты были исключены из протокола и переведены на терапию по программе R–СНОР. Результаты оказались следующими: у 7/11 пациентов на фоне терапии R–СНОР достигнута ремиссия заболевания, в 5/11 случаях отмечалось прогрессирующее течение опухоли. Проводимые далее курсы R–ДНАР не дали ожидаемого терапевтического эффекта.

Пятилетняя (а также 3-летняя) ОВ всех пациентов ($n = 66$) на терапии R–В составила 90 % (95 % доверительный интервал (ДИ) 78–96) (рис. 1), 5-летняя БПВ — 70 % (95 % ДИ 55–85), 3-летняя БПВ — 75 % (95 % ДИ 60–89) (рис. 2). Кумулятивная частота рецидива (с учетом конкурирующих рисков прогрессии и летального исхода) к 3 годам после начала лечения составила 11 % (95 % ДИ 3–19) (рис. 3).

Таблица 1. Характеристики 4 случаев рецидивов: ранний рецидив (№ 1), поздние рецидивы (№ 2–4)

Table 1. Characteristics of 4 cases of relapses: early relapse (No. 1), late relapse (No. 2–4)

№	Лактатдегидрогеназа, Ед/л Lactate dehydrogenase, U/L	Экстранодальные очаги Extranodal lesions presence	Bulky	Цитологический тип Cytologic grade	Характер опухолевого роста Type of tumor growth	Ki-67, %	FLIPI	β2-микроглобулин выше нормы, мг/л Increased β2-microglobulin level, mg/L	В-симптомы B-symptoms presence
1	548	Кожа + слезная железа Skin + lacrimal gland	—	1	Нодулярный Nodular	12	3	4,26	—
2	809	Желудок + поджелудочная железа Stomach + Pancreas	+	3A	Нодулярно-диффузный Nodular-diffuse	60	4	3,33	+
3	156	—	+	2	Нодулярно-диффузный Nodular-diffuse	75	2	—	—
4	305	Кожа Skin	+	1	Нодулярный Nodular	12	2	—	—

Таблица 2. Характеристики случаев прогрессии фолликулярной лимфомы на фоне терапии по программе R–B (n = 11)

Table 2. Characteristics of FL progression during R–B therapy (n = 11)

№	Лактатдегидрогеназа, Ед/л Lactate dehydrogenase, U/L	Наличие экстранодального очага Extranodal lesions presence	Наличие bulky Bulky presence	Цитологический тип Cytologic grade	Характер опухолевого роста Type of tumor growth	Ki-67, %
1	692	—	+	3A	Нодулярный Nodular	60
2	495	Поджелудочная железа Pancreas	+	3A	Нодулярно-диффузный Nodular-diffuse	70
3	378	Подкожные образования Subcutaneous lesions	0	2	Нодулярно-диффузный Nodular-diffuse	20
4	365	Решетчатый лабиринт, носовая перегородка Lattice labyrinth, nasal septum	0	1–2	Нодулярно-диффузный Nodular-diffuse	20
5	2754	—	+	1–2	Нодулярно-диффузный Nodular-diffuse	10
6	263	Позвонки Vertebrae	0	1–2	Диффузный Diffuse	30
7	390	—	+	2	Нодулярно-диффузный Nodular-diffuse	15
8	451	—	+	1–2	Нодулярно-диффузный Nodular-diffuse	15
9	308	Мягкие ткани + бедренная кость Soft tissue + femur	—	3A	Диффузный Diffuse	70
10	734	Околоушная железа Parotid gland	—	3A	Диффузный Diffuse	40
11	448	Поясничная мышца Psoas	+	3A	Диффузный Diffuse	50

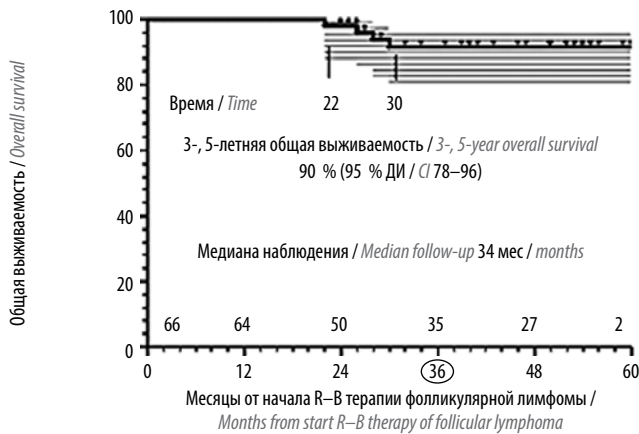


Рис. 1. Общая выживаемость больных ФЛ ($n = 66$) на терапии R–B (с поддержкой R)
 Fig. 1. The overall survival of patients with FL ($n = 66$) on R–B therapy (with R support)

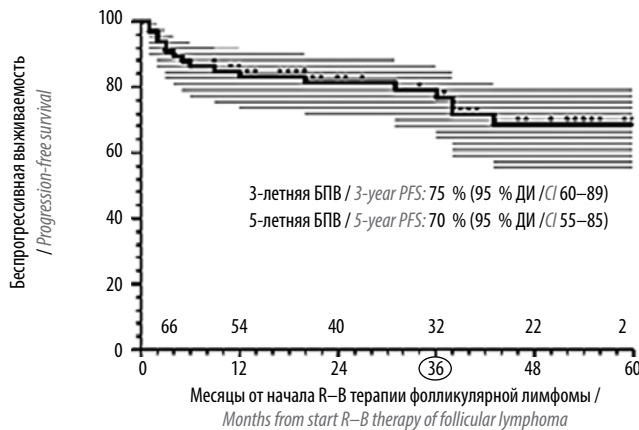


Рис. 2. Беспрогрессивная выживаемость (БПВ) больных с фолликулярной лимфомой ($n = 66$) на фоне терапии R–B (с поддержкой R). Временной интервал (мес) для случаев прогрессии равен 1–9, летального исхода: 22–30, рецидива: 12–38. ДИ — доверительный интервал
 Fig. 2. Progression-free survival (PFS) in patients with follicular lymphoma ($n = 66$) on R–B therapy (with R support). Time interval (months) for progression was 1–9, death: 22–30, relapse: 12–38. CI — confidence interval

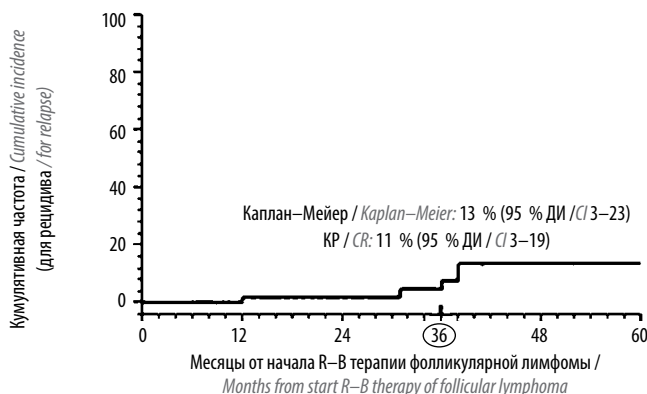


Рис. 3. Кумулятивная частота рецидива больных ($n = 66$) с фолликулярной лимфомой на фоне терапии R–B (с поддержкой R) с учетом конкурирующих рисков (КР) прогрессии и летального исхода. ДИ — доверительный интервал
 Fig. 3. Cumulative incidence of relapse in patients ($n = 66$) with follicular lymphoma on R–B therapy (with R support) considering competing risks (CR) of progression and death. CI — confidence interval

У 2/66 (3 %) пациенток после 4 курсов R–B отмечен минимальный противоопухолевый ответ — опухоль сократилась менее чем на 50 % от исходных размеров. Принимая во внимание молодой возраст (54 и 61 год), соматическую сохранность, пациентки переведены на протокол высокодозной терапии по схеме R–DHAP с мобилизацией стволовых клеток крови и при достижении ремиссии заболевания — выполнение трансплантации аутологичных стволовых клеток крови (аутоТСКК). В обоих случаях мобилизация выполнена успешно. Медиана наблюдения (на момент анализа) — 34 мес.

Для оценки связи характеристик пациентов в дебюте заболевания с величиной БПВ (неблагоприятные события: смерть, прогрессия и рецидив) выполнен вначале однофакторный анализ по БПВ (табл. 3), а затем пошаговый многофакторный регрессионный анализ Кокса по БПВ (рис. 4).

Характеристики, обнаруженные в однофакторном анализе (табл. 2, рис. 5–9), были включены (кроме индекса FLIPI, коррелирующего с другими характеристиками) в пошаговый многофакторный регрессионный анализ Кокса по БПВ, в результате чего определились 4 независимых статистически значимых предиктора неблагоприятного события (смерти, прогрессии или рецидива) (см. рис. 4):

- 1) поражение нодальных узлов;
- 2) наличие конгломерата;
- 3) цитологический тип (3А);
- 4) Ki-67 (>35 %).

Первые 3 предиктора (а также близкий к уровню значимости признак «наличие экстра nodальных очагов») оказались статистически значимыми и в отношении ОВ.

Известно, что пожилой возраст является фактором риска заболевания ФЛ (в нашей группе медиана возраста установки диагноза для мужчин была 57 лет, для женщин — 59 лет). В однофакторном

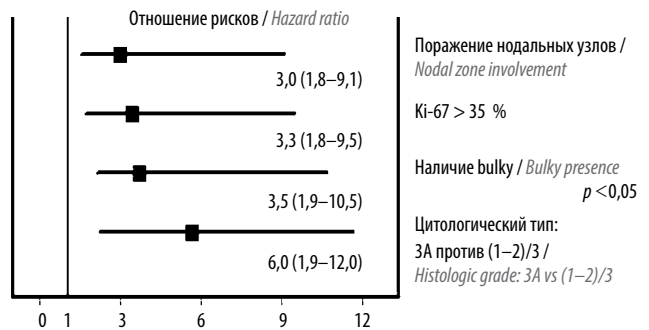


Рис. 4. Независимые предикторы беспрогрессивной выживаемости (неблагоприятное событие: смерть, прогрессия или рецидив). Эти же характеристики (кроме Ki-67 %) являются предикторами общей выживаемости (результаты пошагового многофакторного регрессионного анализа Кокса)
 Fig. 4. Independent predictors of progression-free survival (adverse events: death, progression or relapse). The same characteristics (except for Ki-67 %) are predictors of overall survival (results of stepwise multivariate Cox regression analysis)

Таблица 3. Предикторы беспрогрессивной выживаемости (с неблагоприятными событиями: смерть, прогрессия и рецидив) по результатам однофакторного анализа характеристик пациентов в дебюте заболевания

Table 3. Predictors of progression-free survival (with adverse events: death, progression and relapse) as a results of a single factor analysis of patients characteristics in the disease onset

Характеристика Characteristic	Значение p при однофакторном анализе Single factor analysis p
Цитологический тип Histologic grade 3A	0,001
Поражение нодальных зон Nodal zone involvement >4	0,002
Наличие bulky Bulky presence	0,004
Ki-67, % >35	0,004
Возраст (лет) Age (years) >68	0,002
FLIPI 5 баллов 5 score	0,01
$\beta 2$ -микроглобулин (мг/л) $\beta 2$ microglobulin (mg/L) >2,2	0,03
Гемоглобин, г/дл Hemoglobin, g/dL <110	0,02
Поражение костного мозга Bone marrow involvement	0,05
Экстранодальные очаги присутствуют Extranodal lesions presence	0,06
Лактатдегидрогеназа, Ед/л Lactate dehydrogenase (U/L) >540	0,06
Промежуток времени между началом заболевания и лечением Time interval between disease onset and treatment >22 мес >22 months	0,01

регрессионном анализе Кокса мы выявили, что возраст (>68 лет) является независимым фактором, ассоциированным с неблагоприятным исходом при лечении ФЛ курсами R–В (рис. 7).

Однофакторный регрессионный анализ связи функции БПВ с интервалом времени между появлением признаков опухоли (увеличение лимфатического узла/появление опухолевого образования) и началом терапии, выполненный после проверки справедливости предположения о пропорциональности рисков в модели регрессии (рис. 8), показал, что увеличение этого интервала времени выше определенного порога

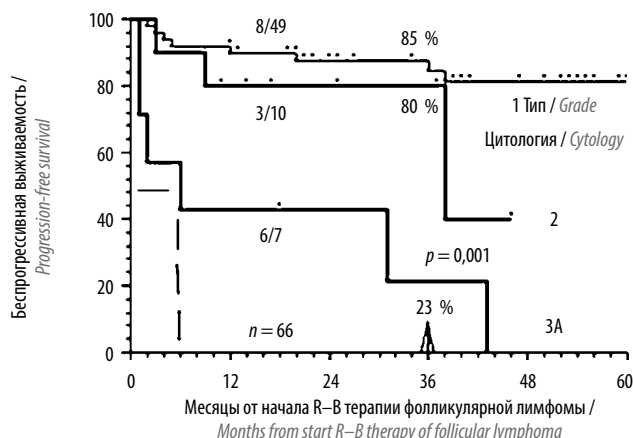


Рис. 5. Стратификация беспрогрессивной выживаемости по вариантам цитологического типа. Медиана беспрогрессивной выживаемости при типе 3A равна 6 мес. Среднее время до неблагоприятного события при цитологическом типе 1 равно 43 мес, при типе 2 – 31 мес и при типе 3A – 17 мес

Fig. 5. Progression-free survival stratification by variants of histological grade. Progression-free survival median at type 3A is only half a year. The mean time to the adverse event at histological grade 1 is 43 months, at grade 2 – 31 months and at grade 3A – 17 months

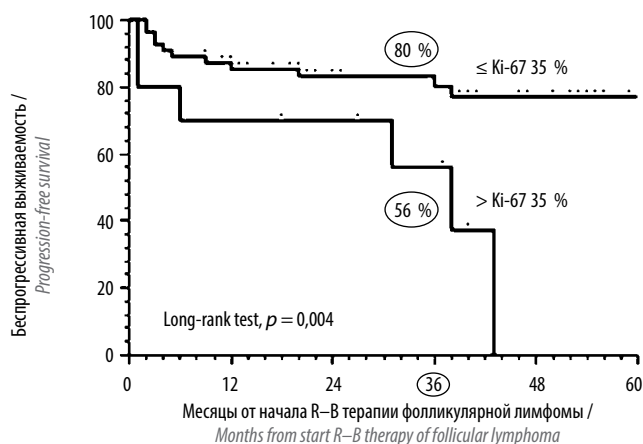


Рис. 6. Зависимость беспрогрессивной выживаемости от Ki-67

Fig. 6. Progression-free survival according to Ki-67

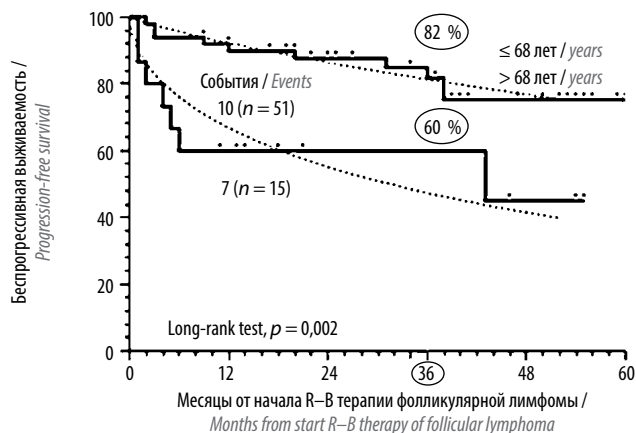


Рис. 7. Зависимость беспрогрессивной выживаемости от возраста пациентов

Fig. 7. Age-dependent progression-free survival

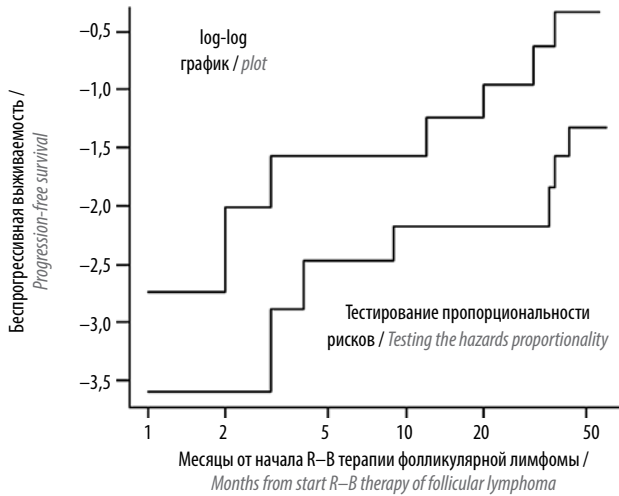


Рис. 8. Проверка предположения о пропорциональности рисков для ковариаты «интервал времени между началом заболевания и началом лечения»

Fig. 8. Checking the proportional hazards assumption for covariate "the time interval between the beginning of the disease and start of treatment"

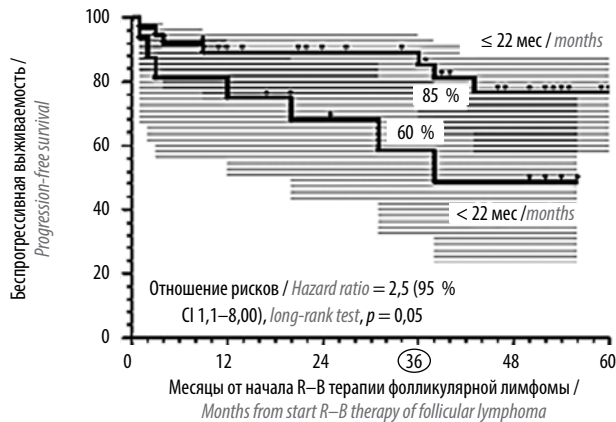


Рис. 9. Зависимость беспрогрессивной выживаемости от интервала времени между началом заболевания и началом лечения

Fig. 9. Progression-free survival according to interval between the disease onset and therapy start

(по нашим оценкам равного примерно 22 мес) ассоциировано с некоторым увеличением частоты неблагоприятного ответа на противоопухолевую терапию (рис. 9). Найденная закономерность говорит об отсутствии, вообще говоря, корреляции между скоростью развертывания клинической картины и вероятностью неблагоприятного события.

Мы также оценили предсказательные возможности индекса FLIPI (ориентированного по определению на общую выживаемость) [24] в отношении неблагоприятных событий (смерть, прогрессия или рецидив) функции БПВ. Оказалось, что индекс FLIPI в дихотомическом варианте (5 баллов против всех остальных) значимо стратифицирует исследуемую группу на 2 подгруппы (рис. 10), где риск неблагоприятных событий в подгруппе, соответствующей 5 баллам, в 3 раза (95 % ДИ 1,1–15,0) превышает риск неблагоприятных событий в подгруппе, объединяю-

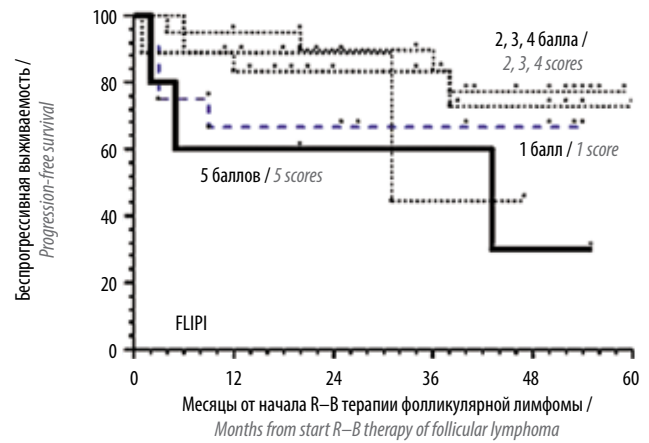


Рис. 10. Стратификация беспрогрессивной выживаемости по значениям индекса FLIPI. Кривая беспрогрессивной выживаемости для FLIPI = 5 статистически значимо (лонг-ранк-критерий, $p = 0,01$) отличается от всех других кривых FLIPI = 1, 2, 3 или 4 (между собой значимо не различающихся)

Fig. 10. Progression-free survival stratification by values of FLIPI index. The progression-free survival curve for FLIPI = 5 is statistically significant (long-rank test, $p = 0.01$) different from all other curves of FLIPI = 1, 2, 3 or 4 (not significantly differing among themselves)

щей 1, 2, 3 и 4 балла. Таким образом, индекс FLIPI (по крайней мере в дихотомическом варианте) может быть использован в качестве предсказательного индекса и для БПВ.

Сравнение распределений характеристик больных в группах с прогрессией и благоприятным течением приведено в табл. 4.

В случае раннего рецидива заболевания наблюдалось постоянно прогрессирующее течение опухоли, несмотря на проводимую 2-ю, 3-ю и непрограммную линии терапии. В 1 случае позднего рецидива пациентке 32 лет проведено 4 курса ПХТ по схеме R-SNOR, 2 курса R-DHAP с эффектом достижения полной ремиссии заболевания, подтвержденной позитронно-эмиссионной томографией, совмещенной с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), и 20 ноября 2017 г. успешно выполнена аутоТСКК. В 2 случаях позднего рецидива ФЛ 2-я линия терапии по схеме R-SNOR позволила добиться полной ремиссии заболевания. Всем пациентам после окончания терапии продолжена поддерживающая терапия ритуксимабом 1 раз в 2 мес в течение 2 лет.

При анализе 4 случаев рецидива ФЛ большая часть пациентов (3/4 случая) в дебюте заболевания имели большие опухолевые конгломераты размером более 6 см, а также экстранодальные очаги разной локализации. По таким параметрам, как активность ЛДГ, цитологический тип, характер опухолевого роста, индекс Ki-67, FLIPI, наличие В-симптомов, закономерностей выявлено не было. Концентрацию сывороточного $\beta 2$ -микроглобулина сложно оценить в связи с тем, что анализ выполнен не всем больным перед началом лечения.

Поражение костного мозга в дебюте заболевания зафиксировано у 2/4 пациентов.

Таблица 4. Сравнение распределений признаков в группах с прогрессией и благоприятным исходом

Table 4. Comparison of feature distributions in groups with progression and favorable outcome

Характеристика Characteristic	Группа с прогрессией (n = 11) Group with progression (n = 11)	Группа с благоприятным исходом (n = 49) Group with favorable outcome (n = 49)
Женский пол Female gender	7/11 (64 %)	31/49 (63 %)
Возраст старше 60 лет Age >60 years	8/11 (73 %)	17/49 (34 %)
Наличие bulky Bulky presence	5/11 (45 %)	11/49 (22 %)
Наличие экстранодальных очагов Extranodal lesions presence	7/11 (64 %)	16/49 (33 %)
Цитологический тип 1–2 Histologic grade 1–2	6/11 (55 %)	48/49 (98 %)
Цитологический тип 3A Histologic grade 3A	5/11 (45 %)	1/49 (2 %)
Ki-67 >20 %	6/11 (55 %) (6 случаев, 40–80 %) (40–80 % in 6 cases)	7/49 (14 %) (5 случаев, 40–60 %) (40–60 % in 5 cases)
Лактатдегидрогеназа выше нормы Lactate dehydrogenase above normal	7/11 (64 %)	20/49 (41 %)
В-симптомы B-symptoms presence	7/11 (64 %)	24/49 (49 %)
FLIPI 3–4	6/11 (55 %)	21/49 (43 %)
Гемоглобин ниже нормы Hemoglobin below normal	4/11 (36 %)	7/49 (14 %)
Поражение костного мозга Bone marrow involvement	3/11 (27 %)	30/49 (61 %)
Лейкемизация Leukemization	0/11 (0 %)	2/49 (4 %)
Повышенная концентрация β2-микроглобулина Increased β2-microglobulin level	Исследовано 8 случаев: 7/8 (88 %) Measured in 8 cases: 7/8 (88 %)	Исследовано 26 случаев: 17/26 (65 %) Measured in 26 cases: 17/26 (65 %)

В 4 случаях рецидива у пациентов после 1-й линии терапии по схеме R–В была достигнута ремиссия заболевания (в том числе и санация костного мозга). Позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией после окончания терапии R–В была выполнена всем пациентам с поздними рецидивами ФЛ. В случае раннего рецидива, который случился через 4 нед после окончания терапии, ПЭТ/КТ не выполнялась. Морфологическая картина ФЛ в случае раннего рецидива соответствовала цитологическому типу ФЛ 1, в 3 случаях позднего рецидива — цитологическим типам 1 и 2.

У 2 пациенток в возрасте 59 и 61 года после 4 курсов терапии по схеме R–В достигнут частичный противоопухолевый ответ: размеры опухоли сократились не более чем на 50 % от исходных размеров. С учетом протокола, применяемого в случае терапии больных ФЛ из группы высокого риска [25–31], пациенткам продолжена высокодозная терапия по схеме R–DHAP. После первого курса R–DHAP и в том и в другом

случае успешно выполнена мобилизация стволовых клеток периферической крови в достаточном количестве. В обоих случаях после курсов R–DHAP достигнута полная метаболическая ремиссия заболевания, подтвержденная ПЭТ/КТ. Одной пациентке 17 июля 2017 г. благополучно проведена аутоТСКК, другая пациентка, узнав о рисках предлагаемого этапа терапии, от проведения аутоТСКК отказалась (табл. 5).

Применяемое сочетание R–В зарекомендовало себя как менее токсичный режим лечения у больных ФЛ. Наиболее частыми осложнениями оказались лейкопения 2-й степени и рецидивирующая герпетическая инфекция (16 % случаев) (табл. 6).

Обсуждение

Согласно международным и российским рекомендациям по лечению ФЛ, в качестве терапии 1-й линии у соматически сохраненных пациентов с генерализованным поражением чаще всего применяются режимы лечения R–В и R–CHOP. Критерии выбора той или иной

Таблица 5. Характеристика случаев с частичным ответом опухоли (после 4 курсов терапии по схеме R–B)

Table 5. Characteristics of cases with partial tumor response (after 4 courses of R–B therapy)

№	Лактат-дегидрогеназа Lactate dehydrogenase	Экстранодальные очаги Extranodal lesions presence	Bulky	Цитологический тип Histologic grade	Характер опухолевого роста Type of tumor growth	Ki-67, %	FLIPI	β2-микроглобулин выше нормы, мг/л Increased β2-microglobulin level, mg/L	В-симптомы B-symptoms presence
1	663	—	+	1	Нодулярно-диффузный Nodular-diffuse	10	4	3,5	+
2	413						5	6,64	

Таблица 6. Распределение пациентов (n = 66) по осложнениям (гематологическим и негематологическим) на фоне терапии R–B

Table 6. The distribution of patients (n = 66) by complications of disease (hematological and non-hematological) during R–B therapy

Осложнение Complication	Абс. (%) Abs. (%)
Лейкопения 2-й степени Leukopenia 2 nd degree	8 (16 %)
Вирусная инфекция (герпес) Viral infection (herpes)	8 (16 %)
Анемия 2-й степени Anemia 2 nd degree	4 (8 %)
Аллергические реакции (крапивница) Allergic reactions (urticaria)	4 (8 %)
Тошнота, рвота Nausea, vomiting	3 (6 %)
Повышение аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы Increased transaminases	1 (2 %)
Без осложнений Without complications	38 (64 %)

схемы не определены. Анализ международных исследований показывает [17, 18, 32], что режим R–B в сравнении с курсом R–CHOP позволяет достичь высокого процента полных ремиссий ФЛ при сравнительно меньшей токсичности.

Результаты проводимого многоцентрового исследования применения комбинированной терапии 1-й линии бендамустином и ритуксимабом с последующей поддерживающей терапией ритуксимабом у больных ФЛ демонстрируют, что данная схема терапии позволяет в 61 % случаев достичь полной ремиссии и в 20 % — частичной ремиссии заболевания у пациентов среднего и пожилого возраста (медиана возраста — 59 лет (30–78 лет); 48 % больных, включенных в исследование, старше 60 лет). Процент полных ремиссий в исследовании на фоне терапии R–B совпадает с результатами международных исследований: 61 и 63 % [18]. При терапии R–CHOP процент полных ремиссий составляет 66 % [18], что практически сопоставимо с результатами терапии R–B. Частота частич-

ных ремиссий в протоколе составила 19 % (в исследовании P. Mondello (2016) при терапии R–B — 25 %, R–CHOP — 20 %), процент прогрессий в нашем исследовании оказался значительно выше — 17 % (в исследовании P. Mondello (2016) при терапии R–B — 5 %, R–CHOP — 7 %). Такие параметры, как наличие bulky, экстранодальных очагов поражения, а также 3А цитологический тип и высокий Ki-67, являются определяющими параметрами в выборе терапии 1-й линии.

В данной работе впервые проведен многофакторный анализ наиболее важных клинических и морфологических параметров и выявлена их прогностическая значимость в выборе индукционной терапии. При оценке эффективности курса R–B при цитологическом типе ФЛ 3А оказалось, что полученные нами результаты расходятся с результатами международных исследователей: в работе P. Mondello (2016) курс R–B при цитологическом типе опухоли 3А является менее токсичным и позволяет достичь подобного процента полных ремиссий в сравнении с курсом R–CHOP (97 % против 96 %), в нашем же исследовании — 61 %. Явное расхождение результатов обусловлено количественным отличием выборок. Формирование окончательного вывода о роли цитологического типа опухоли в выборе терапии 1-й линии требует большего количества включенных клинических случаев.

Гематологическая токсичность при терапии R–B менее выражена, чем при терапии R–CHOP. Аналогично оценки токсичности можно провести с наиболее наглядным исследованием P. Mondello (2016). В нашем исследовании у пациентов зафиксирована нейтропения 2-й степени (в исследовании P. Mondello при терапии R–B — 14 % против 55 % при проведении курса R–CHOP), в то время как токсичность 3-й или 4-й степени имела место в 15 % случаев (против 71 % при терапии R–CHOP в том же исследовании P. Mondello). Случаев тромбоцитопении не отмечено, в то время как в исследовании P. Mondello тромбоцитопения встречалась значительно реже на фоне терапии R–B (11 % против 54 % на R–CHOP). Случаев анемии не было (в исследовании P. Mondello случаи анемии 1–2-й степени при использовании R–B составили 4 % против 15 % при R–CHOP, анемии 3–4-й степени — 2 % против 7 % соответственно). Инфекционные осложнения (вирусная инфекция) в нашей

работе встречались в 16 % случаев, в исследовании P. Mondello — в 3 % при терапии R—B против 57 % при терапии R—CHOP. Таким образом, минимальные осложнения курса R—B терапии, а также отсутствие осложнений со стороны сердечно-сосудистой и эндокринной систем дают право смело рекомендовать курс R—B как курс выбора в терапии пожилых пациентов, имеющих сопутствующую патологию.

Отметим, что даже в случаях прогрессии опухоли на фоне терапии R—B в 64 % случаев ФЛ оказывается высокочувствительной к курсам R—CHOP. У 36 % больных отмечается постоянное прогрессирующее течение заболевания как на антрациклинсодержащих режимах, так и при применении режимов с цисплатином. Ожидается, что проводимые в настоящее время российские и международные клинические исследования позволят идентифицировать прогностические биомаркеры, способные выделить пациентов группы высокого риска ФЛ. С учетом выявленных биомаркеров будет создана и широко апробирована таргетная терапия. Достижение поставленных целей будет способствовать более персонализированному подходу в терапии ФЛ.

Заключение

1. Определены независимые предикторы ОВ и БПВ при фолликулярной лимфоме.
2. Наибольший риск неблагоприятного события (по результатам многофакторного анализа) ассоциирован с цитологическим типом опухоли 3А.

3. Индекс FLIPI обладает прогностической ценностью не только для определения ОВ, но и для БПВ (причем в редуцированном дихотомическом виде: 5 баллов против всех остальных вместе взятых).
4. Увеличение интервала времени между первыми проявлениями ФЛ (увеличение лимфатического узла/появление опухолевого образования) и началом лечения выше некой пороговой величины ассоциировано с некоторым увеличением риска неблагоприятного события. Одна из причин увеличения этого интервала времени связана с выжидательной врачебной тактикой, принятой при медленном развертывании клинической картины заболевания. Полученный результат показывает, что низкая скорость развития клинической картины заболевания не коррелирует с низким риском неблагоприятных событий.
5. В выборе индукционной терапии определяющим фактором является морфология опухоли.
6. После достижения полной/частичной ремиссии ФЛ существует постоянный риск рецидива заболевания (к 3 годам от окончания ПХТ риск рецидива составляет 11 % (95 % ДИ 3—19)).
7. Курс R—B эффективно saniрует костный мозг.
8. После 4 курсов R—B возможна успешная мобилизация стволовых клеток для проведения аутоТСКК.
9. Схема лечения R—B эффективна и имеет сравнительно низкую токсичность, поэтому целесообразна в терапии пожилых больных.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Solal-Céligny P., Leconte P., Bardet A. et al. A retrospective study on the management of patients with rituximab refractory follicular lymphoma. *Br J Haematol* 2018;180(2):217–23. DOI: 10.1111/bjh.15023. PMID: 29230799.
2. Mounier M., Bossard N., Remontet L. et al. Changes in dynamics of excess mortality rates and net survival after diagnosis of follicular lymphoma or diffuse large B-cell lymphoma: comparison between European population-based data (EUROCare-5). *Lancet Haematol* 2015;2(11):e481–91. DOI: 10.1016/S2352-3026(15)00155-6. PMID: 26686258.
3. Teras L.R., DeSantis C.E., Cerhan J.R. et al. 2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes. *CA Cancer J Clin* 2016;66(6):443–59. DOI: 10.3322/caac.21357. PMID: 27618563.
4. Sancho J.M., García O., Mercadal S. et al. The long term follow-up of early stage follicular lymphoma treated with radiotherapy, chemotherapy or combined modality treatment. *Leuk Res* 2015;39(8):853–8. DOI: 10.1016/j.leukres. 2015.05.009. PMID: 26122511.
5. Casulo C., Byrtek M., Dawson K.L. et al. Early relapse of follicular lymphoma after rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone defines patients at high risk for death: an analysis from the National LymphoCare Study. *J Clin Oncol* 2015;33(23):2516–22. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.7534. PMID: 26124482.
6. Мангасарова Я.К., Магомедова А.У., Кравченко С.К. и др. Восьмилетний опыт лечения агрессивных В-крупноклеточных лимфом средостения. Терапевтический архив 2013;85(7):50–6. [Mangasarova Ya.K., Magomedova A.U., Kravchenko S.K. et al. Eight-year experience in treating aggressive mediastinal large B-cell lymphomas. *Terapevticheskiy Arkhiv = Therapeutic Archive* 2013;85(7):50–6. (In Russ.)]. PMID: 24137947.
7. Casulo C., Nastoupil L., Fowler N.H. et al. Unmet needs in the first-line treatment of follicular lymphoma. *Ann Oncol* 2017;28(9):2094–106. DOI: 10.1093/annonc/mdx189. PMID: 28430865.
8. Pastore A., Jurinovic V., Kridel R. et al. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *Lancet Oncol* 2015;16(9):1011–22. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00169-2. PMID: 26256760.
9. Lopez-Guillermo A. A novel clinico-genetic prognostic score for follicular lymphoma. *Lancet Oncol* 2015;16(9):1011–2. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00142-4. PMID: 26256759.
10. Kahl B.S. Follicular lymphoma: are we ready for a risk-adapted approach? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2017;2017(1):358–64. DOI: 10.1182/asheducation-2017.1.358. PMID: 29222279.
11. Nastoupil L., Sinha R., Hirschey A., Flowers C.R. Considerations in the initial management of follicular lymphoma. *Community Oncol* 2012;9(11):S53–60.

- DOI: 10.1016/j.cmonc.2012.09.015.
PMID: 23544009.
12. Dreyling M., Ghielmini M., Marcus R. et al. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014;25(S3):76–82.
DOI: 10.1093/annonc/mdx020.
PMID: 28327933.
 13. Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Гемд-жян Э.Г. и др. Оценка васкуляризации и микроокружения опухолевой ткани при фолликулярной лимфоме. *Терапевтический архив* 2013;85(7):57–64. [Nesterova E.S., Kravchenko S.K., Gemdzhian E.G. et al. Evaluation of tumor vascularization and microenvironment in follicular lymphoma. *Terapevticheskiy Arkhiv = Therapeutic Archive* 2013;85(7):57–64. (In Russ.)]. PMID: 24137948.
 14. McNamara C., Davies J., Dyer M. et al. Guidelines on the investigation and management of follicular lymphoma. *Br J Haematol* 2012;156(4):446–7.
DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08969.x.
PMID: 22211428.
 15. Swerdlow S.H., Campo E., Pileri S.A. et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016;127(20):2375–90.
DOI: 10.1182/blood-2016-01-643569.
PMID: 26980727.
 16. Хамаганова Е.Г., Паровичникова Е.Н., Кузьмина Л.А. и др. Подбор неродственного донора для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. HLA-гаплотипы больных с заболеваниями системы крови. *Терапевтический архив* 2014;86(7):31–6. [Khamaganova E.G., Parovichnikova E.N., Kuz'mina L. A. et al. Selection of an unrelated donor for hematopoietic stem cell transplantation. HLA haplotypes in patients with blood system diseases. *Terapevticheskiy Arkhiv = Therapeutic Archive* 2014;86(7):31–6. (In Russ.)]. PMID: 25314775.
 17. Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Барях Е.А. и др. Трансплантация аутологических стволовых клеток крови в первой ремиссии фолликулярной лимфомы как «терапия спасения» пациентов с факторами неблагоприятного прогноза. Результаты первого проспективного исследования. *Современная онкология* 2016;18(5):31–2. [Nesterova E.S., Kravchenko S.K., Baryakh E.A. et al. Autologous stem cells transplantation in the first remission of follicular lymphoma as “rescue therapy” in patients with unfavorable prognosis factors. The first prospective study results. *Sovremennaya Onkologiya = Modern Oncology* 2016;18(5):31–2. (In Russ.)].
 18. Mondello P., Steiner N., Willenbacher W. et al. Bendamustine plus Rituximab Versus R–CHOP as First-Line Treatment for Patients with Follicular Lymphoma Grade 3A: Evidence from a Multicenter, Retrospective Study. *Oncologist* 2018;23(4):454–60.
DOI: 10.1634/theoncologist.2017-0037.
PMID: 29317554.
 19. Federico M., Luminari S., Dondi A. et al. R–CVP versus R–CHOP versus R–FM for the initial treatment of patients with advanced-stage follicular lymphoma: results of the FOLL05 trial conducted by the Fondazione Italiana Linfomi. *J Clin Oncol* 2013;31(12):1506–13.
DOI: 10.1200/JCO.2012.45.0866.
PMID: 23530110.
 20. Flinn I.W., van der Jagt R., Kahl B.S. et al. Randomized trial of bendamustine-rituximab or R–CHOP/R–CVP in first-line treatment of indolent NHL or MCL: the BRIGHT study. *Blood* 2014;123(19):2944–52.
DOI: 10.1182/blood-2013-11-531327.
PMID: 24591201.
 21. Darwish M., Bond M., Hellriegel E. et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of bendamustine and its metabolites. *Send to Cancer Chemother Pharmacol* 2015;75(6):1143–54.
DOI: 10.1007/s00280-015-2727-6.
PMID: 25829094.
 22. Mondello P., Steiner N., Willenbacher W. et al. Bendamustine plus rituximab versus R–CHOP as first-line treatment for patients with indolent non-Hodgkin's lymphoma: evidence from a multicenter, retrospective study. *Ann Hematol* 2016;95(7):1107–14.
DOI: 10.1007/s00277-016-2668-0.
PMID: 27103007.
 23. Cheson B.D., Fisher R.I., Barrington S.F. et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol* 2014;32(27):3059–68.
DOI: 10.1200/JCO.2013.54.8800.
PMID: 25113753.
 24. Капланов К.Д., Шипаева А.Л., Васильева В.А. Опыт применения Международного прогностического индекса (МПИ) при распространенных стадиях лимфомы Ходжкина в условиях современной терапии. *Клиническая онкогематология* 2013;6(3):294–302. [Kaplanov K.D., Shipayeva A.L., Vasilyeva V.A. et al. Experience of application the International Prognostic Index(MPI) in the advanced stages of Hodgkin's lymphoma in modern therapy. *Klinicheskaya Onkogematologiya = Clinical Oncohematology* 2013;6(3):294–302. (In Russ.)].
 25. Кравченко С.К., Нестерова Е.С. Рандомизированное, контролируемое (сравнительное) открытое, проспективное исследование по оценке эффективности программ R–EPOCH-21, R–CHOP-21 и трансплантации аутологических стволовых клеток крови у больных фолликулярной лимфомой из группы высокого риска. В кн.: Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2018. Т. 2. С. 497–530. [Kravchenko S.K., Nesterova E.S. A randomized, controlled(comparative), open, prospective study evaluating the effectiveness of R–EPOCH-21, R–CHOP-21 programs and autologous stem cells transplantation in patients with high-risk follicular lymphoma. In: *Diagnostic algorithms and treatment protocols of blood system diseases*. Ed.: V.G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2018. Vol. 2. P. 497–530. (In Russ.)].
 26. Кравченко С.К., Нестерова Е.С. Проспективное многоцентровое исследование: комбинированная терапия первой линии препаратами бендамустина и ритуксимаб с последующей поддерживающей терапией ритуксимабом у больных фолликулярной лимфомой (протокол FL-RUS-2013). В кн.: Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2018. Т. 2. С. 101–131. [Kravchenko S.K., Nesterova E.S. Prospective multicenter study: first-line combination therapy with bendamustine and rituximab followed by rituximab maintenance therapy in patients with follicular lymphoma (FL-RUS-2013 protocol). In: *Diagnostic algorithms and treatment protocols of blood system diseases*. Ed.: V.G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2018. Vol. 2. P. 101–131. (In Russ.)].
 27. Кравченко С.К., Нестерова Е.С., Барях Е.А. Протокол лечения фолликулярной лимфомы у больных из группы высокого риска. В кн.: Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2012. С. 595–618. [Kravchenko S.K., Nesterova E.S., Baryakh E.A. The treatment protocol for high-risk follicular lymphoma. In: *Collection of Diagnostic algorithms and treatment protocols of blood system diseases*. Ed.: V.G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2012. P. 595–618. (In Russ.)].
 28. Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Мангасарова Я.К. и др. Лейкемизация фолликулярной лимфомы: особенности диагностики и клинического течения редкой формы заболевания. *Терапевтический архив* 2017;89(7):45–50. [Nesterova E.S., Kravchenko S.K., Mangasarova Ya.K. et al. Leukemization of follicular lymphoma: The features of diagnostic and clinical course of a rare form of the disease. *Terapevticheskiy Arkhiv = Therapeutic Archive* 2017;89(7):45–50. (In Russ.)].
DOI: 10.17116/terarkh201789745-50.
PMID: 28766540.
 29. Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Мангасарова Я.К. и др. Фолликулярная лимфома. Высокодозная иммунохимиотерапия с трансплантацией аутологических стволовых клеток крови: результаты первого проспективного исследования в России. *Терапевтиче-*

- ский архив 2016;88(7):62–71.
[Nesterova E.S., Kravchenko S.K., Mangasarova Ya.K. et al. Follicular lymphoma. High-dose immunochemotherapy with autologous blood stem cell transplantation: Results of the first prospective study in Russia. *Terapevticheskiy Arkhiv* = *Therapeutic Archive* 2016;88(7):62–71. (In Russ.)] DOI: 10.17116/terarkh201688762–71. PMID: 27459617.
30. Nesterova E.S., Kravchenko S.K., Baryakh E.A., et al. Autologous stem cell transplantation (AutoSCT) in first remission of follicular lymphoma (FL) “save” patients (pts) with poor prognosis. results of the first Russian prospective study. *Blood* 2015;126(23):5079.
31. Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Гемджян Э.Г. и др. Итоги десятилетнего опыта лечения больных фолликулярной лимфомой. *Гематология и трансфузиология* 2012;57(5):3–8. [Nesterova E.S., Kravchenko S.K., Gemdzian E.G. et al. The results of ten years' experience treating patients with follicular lymphoma. *Gematologiya i transfuziologiya* = *Hematology and Transfusiology* 2012;57(5):3–8. (In Russ)].
32. Galimberti S., Ciabatti E., Ercolano G. et al. The Combination of Rituximab and Bendamustine as First-Line Treatment Is Highly Effective in the Eradicating Minimal Residual Disease in Follicular Lymphoma: An Italian Retrospective Study. *Front Pharmacol* 2017;8:413. DOI: 10.3389/fphar. 2017.00413. PMID: 28706485.

Вклад авторов

Е.С. Нестерова: концепция, дизайн и написание статьи, сбор данных, ведение больных, предоставление материалов, интерпретация результатов;

С.К. Кравченко, А.У. Магомедова: интерпретация данных, участие в написании статьи;

А.М. Ковригина: выполнение гистологического и иммуногистохимического исследования биопсийного материала, верификация диагноза;

Э.Г. Гемджян: проведение статистического анализа, интерпретация данных, участие в написании статьи;

Л.В. Пластинина, Я.К. Мангасарова, Ф.Э. Бабаева, А.Е. Мисюрина, О.В. Марголин, В.И. Воробьев, Д.С. Марьин, Е.А. Барях, Ю.Ю. Поляков, П.А. Зейналова, Е.М. Володичева, Н.Н. Глониная, Н.В. Минаева, Ж.А. Давыдова: ведение больных, предоставление материалов;

В.Г. Савченко: концепция, окончательное одобрение рукописи.

Authors' contributions

E.S. Nesterova: concept, article design and writing, data collection, management of patients, provision of materials, interpretation of results;

S.K. Kravchenko, A.U. Magomedova: interpretation of data, article writing;

A.M. Kovrigina: performing of histological and immunohistochemical examination of biopsy material, verification of diagnosis;

E.G. Gemdzian: statistical analysis, interpretation of data, article writing;

L.V. Platinina, Ya.K. Mangasarova, F.E. Babaeva, A.E. Misyurina, O.V. Margolin, V.I. Vorobiev, D.S. Maryin, E.A. Baryakh, Yu.Yu. Polyakov,

P.A. Zeinalova, E.M. Volodicheva, N.N. Glonina, N.V. Minaeva, G.A. Davydova: management of patients, provision of materials;

V.G. Savchenko: concept, final approval of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.С. Нестерова / E.S. Nesterova: <https://orcid.org/0000-0002-6035-9547>

С.К. Кравченко / S.K. Kravchenko: <https://orcid.org/0000-0001-9086-8521>

Я.К. Мангасарова / Ya.K. Mangasarova: <https://orcid.org/0000-0003-1936-5934>

Э.Г. Гемджян / E.G. Gemdzian: <http://orcid.org/0000-0002-8357-977X>

В.Г. Савченко / V.G. Savchenko: <https://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Т-клеточные лимфомы кожи: современные данные патогенеза, клиники и терапии

О.М. Демина¹, О.Е. Акилов², А.Г. Румянцев¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²Клиника кожных лимфом, Университет Питтсбурга; США, 15213 Питтсбург, Пятая авеню, 3601

Контакты: Ольга Михайловна Демина demina.om@mail.ru

Т-клеточные лимфомы кожи (ТКЛК) представляют собой гетерогенную группу экстра nodальных неходжкинских лимфом, которые характеризуются инфильтрацией кожи злокачественными моноклональными Т-лимфоцитами. Чаще болеют взрослые в возрасте от 55 до 60 лет, годовая заболеваемость составляет около 0,5 на 100 тыс. человек. Грибовидный микоз, синдром Сезари и CD30⁺ лимфопролиферативные заболевания являются основными подтипами ТКЛК. На сегодняшний день ТКЛК имеют сложную концепцию этиопатогенеза, диагностики, терапии и прогноза. В статье представлены обобщенные данные по этой проблеме.

Ключевые слова: Т-клеточные лимфомы кожи, экспрессия генов, противоопухолевое лечение

Для цитирования: Демина О.М., Акилов О.Е., Румянцев А.Г. Т-клеточные лимфомы кожи: современные данные патогенеза, клиники и терапии. Онкогематология 2018;13(3):25–38

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-25-38

Cutaneous T-cell lymphomas: modern data of pathogenesis, clinics and therapy

O.M. Demina¹, O.E. Akilov², A.G. Rumyantsev¹

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia;

²University of Pittsburgh, Department of Dermatology, Cutaneous Lymphoma Clinics; 3601, Fifth Avenue, Pittsburgh 15213, PA, USA

Cutaneous T-cell lymphomas (CTCL) are a heterogeneous group of extranodal non-Hodgkin's lymphomas that are characterized by skin infiltration with malignant monoclonal T lymphocytes. More common in adults aged 55 to 60 years, the annual incidence is about 0.5 per 100 000 people. Mycosis fungoides, Sézary syndrome and CD30⁺ lymphoproliferative diseases are the main subtypes of CTCL. To date, CTCL have a complex concept of etiopathogenesis, diagnosis, therapy and prognosis. The article presented summary data on these issues.

Key words: cutaneous T-cell lymphomas, gene expression, anticancer treatment

For citation: Demina O.M., Akilov O.E., Rumyantsev A.G. Cutaneous T-cell lymphomas: modern data of pathogenesis, clinics and therapy. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(3):25–38

Введение

В 1806 г. J. Alibert предложил название «грибовидный микоз» (ГМ) для обозначения специфической формы опухолей, тогда как термин «Т-клеточные лимфомы кожи» (ТКЛК) впервые использовал R.L. Edelson для ГМ и лейкоемического варианта ТКЛК, синдрома Сезари (СС), в 1974 г. [1–3]. В настоящее время ТКЛК, характеризующиеся пролиферацией злокачественных моноклональных Т-лимфоцитов, инфильтрирующих кожу, представляют гетерогенную группу периферических лимфом [3–7]. Заболеваемость ТКЛК составляет около 0,5 на 100 тыс. человек в год, при этом частота встречаемости у мужчин выше, чем у женщин, варьируя от 1,6:1 до 2,0:1 [3, 8, 9]. Средний возраст больных составляет 55–60 лет [3, 10].

В 1975 г. Североамериканская исследовательская группа по изучению грибовидного микоза впервые классифицировала ТКЛК на основании системы «опухоль — узел — метастаз» (tumor — node — metastasis, TNM) [3]. Международное общество по кожным лимфомам (International Society for Cutaneous Lymphomas, ISCL)/Европейская организация по изучению и лечению рака (European Organization for Research and Treatment of Cancer, EORTC, 2005) классифицирует их на основании клинических, иммунофенотипических, молекулярно-биологических и генетических симптомов [11]. В настоящее время используется классификация Международного общества по лимфомам кожи и Европейской организации по изучению и лечению рака для ГМ и СС (ISCL — EORTC staging system for MF/SS) (табл. 1).

Таблица 1. Стадирование грибовидного микоза/синдрома Сезари согласно рекомендациям ISCL—EORTC

Table 1. Staging of mycosis fungoides/Sézary Syndrome according to ISCL—EORTC recommendations

Кожа Skin	
T1	Ограниченные пятна, папулы, и/или бляшки, покрывающие <10 % кожного покрова Limited patches, papules, and/or plaques covering <10 % of the skin surface
T1a	Только пятна Patch only
T1b	Бляшки ± пятна Plaque ± patch
T2	Пятна, папулы и/или бляшки, покрывающие ≥10 % кожного покрова Patches, papules, or plaques covering ≥10 % of the skin surface
T2a	Только пятна Patch only
T2b	Бляшки ± пятна Plaque ± patch
T3	Один или более узлов (≥1 см в диаметре) One or more tumours (≥1 cm diameter)
T4	Сливающаяся эритема, покрывающая ≥80 % поверхности тела Confluence of erythema covering ≥80 % body surface area
Лимфатические узлы Lymph nodes	
N0	Нет увеличения периферических лимфатических узлов, их биопсия не требуется No clinically abnormal peripheral lymph nodes; biopsy not required
N1	Периферические лимфатические узлы увеличены; гистопатология Dutch grade 1 или NCI LN ₀₋₂ Clinically abnormal peripheral lymph nodes; histopathology Dutch grade 1 or NCI LN ₀₋₂
N1a	Клон-негативны Clone negative
N1b	Клон-позитивны Clone positive
N2	Периферические лимфатические узлы увеличены; гистопатология Dutch grade 2 или NCI LN ₃ Clinically abnormal peripheral lymph nodes; histopathology Dutch grade 2 or NCI LN ₃
N2a	Клон-негативны Clone negative
N2b	Клон-позитивны Clone positive
N3	Периферические лимфатические узлы увеличены; гистопатология Dutch grade 3–4 или NCI LN ₄ , клон-позитивны или негативны Clinically abnormal peripheral lymph nodes; histopathology Dutch grades 3–4 or NCI LN ₄ ; clone positive or negative
Nx	Периферические лимфатические узлы увеличены, нет гистологического подтверждения Clinically abnormal peripheral lymph nodes; no histologic confirmation
Внутренние органы Visceral	
M0	Нет вовлечения внутренних органов No visceral organ involvement
M1	Вовлечение внутренних органов (с уточнением органа и морфологическим подтверждением) Visceral involvement (must have pathology confirmation and organ involved should be specified)
Кровь Blood	
B0	Отсутствие значительного вовлечения крови: атипичные (Сезари) клетки составляют ≤5 % лимфоцитов периферической крови Absence of significant blood involvement: ≤5 % of peripheral blood lymphocytes are atypical (Sézary) cells
B0a	Клон-негативны Clone negative
B0b	Клон-позитивны Clone positive

B1 B1a B1b	Умеренное вовлечение крови: атипичные (Сезари) клетки составляют >5 % лимфоцитов периферической крови Low blood tumour burden: >5 % of peripheral blood lymphocytes are atypical (Sézary) cells Клон-негативны Clone negative Клон-позитивны Clone positive
B2	Значительное вовлечение крови: ≥ 1000 /мкл клеток Сезари с позитивным клоном High blood tumour burden: $\geq 1000/\mu\text{L}$ Sézary cells with positive clone

Стадия Stage	T	N	M	B
Ранние Early				
IA	1	0	0	0,1
IB	2	0	0	0,1
IIA	1,2	1,2	0	0,1
Поздние Advanced				
IIIB	3	0–2	0	0,1
III	4	0–2	0	0,1
IIIA	4	0–2	0	0
IIIB	4	0–2	0	1
IVA1	1–4	0–2	0	2
IVA2	1–4	3	0	0–2
IVB	1–4	0–3	1	0–2

Грибовидный микоз, СС и CD30^+ лимфопролиферативные заболевания (CD30^+ ЛПЗ) – наиболее распространенные подтипы ТКЛК [12–16].

Частота встречаемости ГМ составляет от 44 до 62 % случаев всех ТКЛК [12]. Грибовидный микоз проявляется истинными полиморфными высыпаниями от пятна, инфильтрированных бляшек, узлов (опухолей) до общего поражения кожи (эритродермия) [10, 17–19], локализующихся на участках кожи, защищенных от прямых солнечных лучей («зона купальника»). Несмотря на то что в целом ранний ГМ имеет благоприятные прогноз и течение, у 15 % пациентов с ограниченными пятнами и бляшками заболевание прогрессирует в поздние формы. В 5 % случаев ГМ манифестирует узлами, при которых злокачественные Т-лимфоциты формируют интрадермальные и подкожные опухоли, часто проявляющиеся изъязвлениями (рис. 1) [20]. Синдром Сезари (СС) определяется как агрессивный лейкоемический вариант ТКЛК [7, 19, 21, 22], клинически характеризующийся лейкоемией (>1000 клеток Сезари на 1 мм^3), эритродермией (>80 % поражения кожи) и генерализованной лимфаденопатией [8, 23].

К CD30^+ лимфопролиферативным заболеваниям относятся лимфоматоидный папулез (Лип), первичная анапластическая CD30^+ крупноклеточная лимфома кожи (АКЛК) и переходный тип CD30^+ ЛПЗ [12].



Рис. 1. Диссеминированные изъязвленные опухоли у пациента с грибовидным микозом

Fig. 1. Disseminated ulcerated tumor in a patient with mycosis fungoides

На ранних стадиях ТКЛК часто ошибочно диагностируется как различные доброкачественные дерматозы [23–28], поэтому важно проводить детальную

дифференциальную диагностику со следующими заболеваниями [3, 21, 23–25, 27, 29–31]:

- дерматиты и экзема;
- токсикодермия и кожные токсические реакции на лекарственные препараты;
- параспориоз;
- псориаз;
- склероатрофический лишай;
- панникулит;
- острый лихеноидный вариолиформный параспориоз;
- хронический лихеноидный лишай;
- пигментные геморрагические дерматозы (гемосидерозы);
- витилиго.

Поскольку гистологические признаки минимальны в начальной стадии ГМ, дифференциальная диагностика с воспалительными дерматозами существенно затруднена [32, 33]. Классические гистологические признаки ГМ включают: эпидермотропизм или фолликулотропизм, формирование микроабсцессов Потрие, наличие небольших и среднего размера лимфоцитов с гиперхромными и церебреформными ядрами у базальной мембраны, фиброз сосочкового слоя дермы (рис. 2) [27, 34, 35].

Этиология и патогенез

Несмотря на углубленные исследования этиологии и патогенеза ТКЛК в последние десятилетия, точный механизм инициирования и прогрессирования этой патологии остается неизвестным [36–41].

Имеются сведения о дисрегуляции некоторых генов и их сигнальных путей при ТКЛК, но точно их роль в патогенезе заболевания не известна [4, 5, 17, 23, 42–55]. Нарушение экспрессии или функции негативных регуляторов, включая SOCS3 и протеинтирозинфосфатазы, такие как SHP1, вовлечено в дисрегуляцию пути Jak-3/STAT и интерлейкиннезависимой пролиферации злокачественных Т-клеток. Активность пути Jak-3/STAT препятствует развитию ТКЛК через стимуляцию синтеза IL-5, IL-10, IL-17A и IL-17E, регулирование факторов ангиогенеза и препятствует резистентности к терапии ингибитором гистоновой деацетилазы (histone deacetylase inhibitor, HDACI) [48, 51, 56, 57]. Дополнительно сообщается о вовлечении в патогенез СС сигнального пути NOTCH1 [23, 58]. NOTCH включает семейство трансмембранных рецепторов, которые регулируют транскрипцию генов, участвующих в эмбриональном развитии, гомеостазе тканей, дифференцировке клеток и их выживаемости [45].

Сообщается о потере гетерозиготности фосфатазы и гомолога тензина (phosphatase and tensin homolog, PTEN) при ГМ, однако значение этого остается неясным. Показано статистически значимое снижение доли клеток, сохраняющих PTEN, и снижение интенсивности окрашивания при ГМ стадии пятна в сравнении со стадией бляшки при отсутствии статистически достоверной разницы при стадиях опухоли

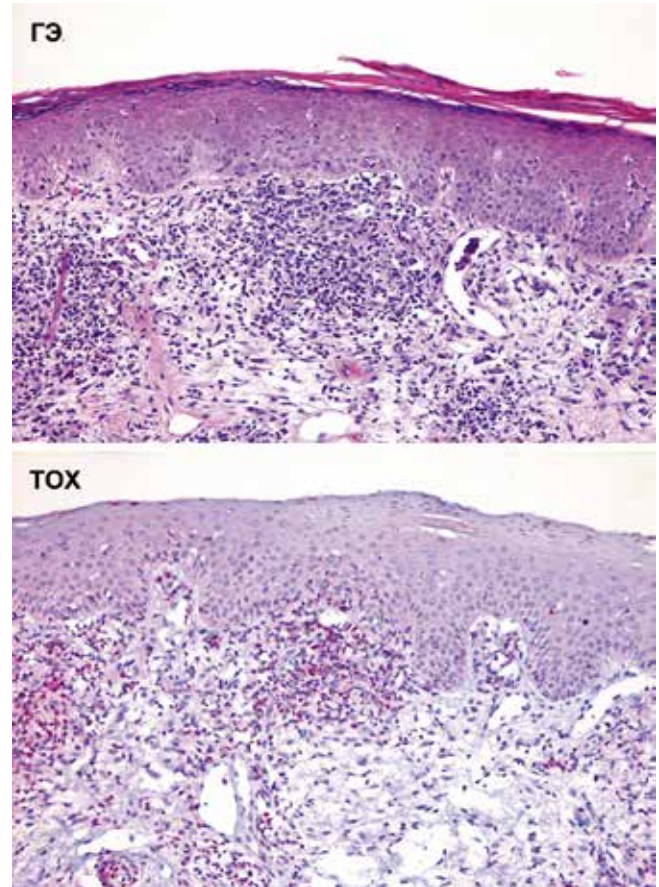


Рис. 2. Гистологическая характеристика Т-клеточной лимфомы кожи: а — окраска гематоксилином и эозином. Эпидермотропизм атипичных малых лимфоцитов с гиперхромными ядрами, инфильтрация у базальной мембраны и уплощение сосочкового слоя дермы; б — TOX-позитивные лимфоциты в эпидермисе и верхнем слое дермы

Fig. 2. Histological characteristics of cutaneous T-cell lymphoma: a — hematoxylin and eosin. Epidermotropism of atypical small lymphocytes with hyperchromatic nuclei, infiltration near basal membrane and papillary dermis flattening; б — TOX-positive lymphocytes in epidermis and upper layer of dermis

и бляшки соответственно [52]. Установлена избыточная экспрессия мРНК из подсемейства рецептора тирозинкиназы (receptor tyrosine kinase, RTK) только при одном варианте ТКЛК — СС [23, 58, 59].

Тимоцит-селекционно-ассоциированная высокоподвижная группа (thymocyte selection-associated high-mobility group box, TOX) является транскрипционным фактором, который играет роль в развитии CD4⁺ Т-клеток, включая последующее действие на экспрессию *RUNX 3*, хорошо известного гена — супрессора опухоли. Исследования показывают, что избыточная экспрессия *TOX* и его белкового продукта ассоциирована с выраженными инфильтративными поражениями кожи при ГМ, прогрессированием заболевания и неблагоприятным прогнозом. Кроме того, при СС сообщается о дисрегуляции этого гена в высыпаниях и мононуклеарных клетках периферической крови (ПК) [44].

У пациентов с ТКЛК выявлен отчетливый профиль экспрессии микроРНК (miRNA) [60]. Так,

в ряде исследований показано, что экспрессия *miR-21* препятствует резистентности к апоптозу, а *miR-155* определяет злокачественную пролиферацию, что в целом ассоциировано с неблагоприятным прогнозом и агрессивным течением заболевания. С другой стороны, установлено, что при СС угнетается экспрессия *miR-22*, являющейся супрессором опухоли. По-видимому, Янус-киназы-3 (Janus kinase-3, Jak-3)/трансдукторы сигналов и активаторы транскрипции (signal transducers and activators of transcription, *STAT*; *Jak-3/STAT*) отвечают за потерю экспрессии *miR-22* [51].

MiR-16 является еще одной некодирующей микроРНК, которая индуцирует клеточное старение и снижается при ТКЛК [47]. Исследования показали, что *miRNAs* ингибирует экспрессию многих онкогенов, таких как MYC-ассоциированный фактор X (MYC-associated factor X, MAX), MYC-связывающий белок (MYC-binding protein, MYCBP), ядерный рецептор-коактиватор-1 (nuclear receptor coactivator-1, NCOA-1) и циклинзависимая киназа-6 (cyclin-dependent kinase-6, CDK-6). [51]

Ряд авторов предполагает роль в патогенезе ТКЛК IL-2R γ -сигнальных цитокинов, включая IL-2, -4, -7, -15 и -21 [51].

Кроме того, имеются данные о повышении активности рецепторов хемокина 6 (chemokine receptor 6, CCR6) и CCR7 [4, 22, 61], которые, как предполагается, отвечают за распространение злокачественных Т-клеток в регионарные лимфатические узлы (ЛУ), кровотока и внутренние органы.

Хемокин (C-X-C motif) лиганд 12 (chemokine (C-X-C motif) ligand 12 (CXCL12)) относится к подсемейству хемокинов, экспрессируется на эндотелиальных и стромальных клетках в разных органах. Большинство гемопоэтических клеток, таких как CD34⁺ клетки-предшественники и CD4⁺ Т-клетки, экспрессируют CXCR4 — рецептор данного хемокина. Показано, что CXCR4 играет роль в хемотаксисе, инвазии, ангиогенезе и пролиферации [62]. Известно, что в патогенезе ГМ играет роль ось CXCR4/CXCL12 [39, 63].

При ТКЛК злокачественные Т-клетки индуцируют активацию сигнального пути рецепторов Т-лимфоцитов (T-cell receptor, TCR). Это активирует TCR-зависимые Т-хелперы 2-го типа (Th), синтезирующие IL-4 и IL-13, а также резистентность к естественным механизмам блокировки неконтролируемой пролиферации, таким как поверхностный Fas-рецептор клеточной гибели (FAS) — медиатор апоптоза и трансформирующий фактор роста бета (TGF- β), опосредующий ростковую супрессию [64].

Регуляторные Т-клетки с фенотипом CD4⁺ CD25⁺ содержат от 5 до 10 % периферических Т-клеток и играют роль в иммунологии опухолей. Роль этих клеток при ТКЛК является спорной [50, 65].

Имеются данные, что CD26 способен прикрепляться и инактивировать CXCL12; следовательно,

отсутствие его экспрессии при ТКЛК приводит к усилению CXCL12-зависимого хемотаксиса [39, 66].

С другой стороны, при СС установлена достоверно избыточная экспрессия CD164 на CD4⁺ лимфоцитах. По-видимому, этот факт может быть диагностическим параметром СС и потенциальной мишенью для терапии [67, 68]. Мишенью могут быть также цинк-зависимые ферменты, участвующие в регуляции генов и модуляции многочисленных клеточных путей, включая пролиферацию, дифференцировку, апоптоз и миграцию. Сообщается о наличии при ТКЛК aberrаций в активности этих ферментов и их мутациях [3].

Выявлено, что при ГМ злокачественные клетки мигрируют в кожу с помощью лиганда Е-селектина на эндотелиальных клетках, экспрессирующих маркер кожного хоуминга — лимфоцит-ассоциированный антиген кожи (cutaneous lymphocyte-associated antigen, CLA). Способность CLA опосредовать миграцию лейкоцитов в кожу зависит от специфических взаимодействий рецептора и лиганда хемокинов. Одно из этих взаимодействий происходит через хемокиновый рецептор CCR4. Имеются данные об избыточной экспрессии этого рецептора при ТКЛК с поражением ПК [3].

Сообщается, что в прогрессирование ГМ вовлекается гранулизин — цитотоксический, провоспалительный и антимикробный агент, который экспрессируется цитотоксическими Т-лимфоцитами и естественными киллерами в гранулах вместе с гранзимами и перфорином [50]. Показана избыточная секреция гетеродимерного белка муцина-1 С-терминальной субъединицы клетками ТКЛК. Этот белок контролирует важные пути онкогенеза посредством регуляции пролиферации клеток, их самообновления, тканевой инвазии и апоптоза, а также оказывает протективное действие на индуцированную реактивным кислородом клеточную гибель. Было высказано предположение, что поддержание редокс-баланса при ТКЛК имеет решающее значение в защите злокачественных клеток от апоптоза [69].

Установлено, что стволовые клетки опухоли имеют много общего с нормальными стволовыми клетками, включая редкое деление, высокую способность к самообновлению, устойчивость к апоптозу, способность поддерживать недифференцированную стадию, преодоление клеточного старения и дифференцироваться во все типы клеток. Наличие редких митозов обуславливает их резистентность к химиотерапевтическим агентам. Кроме того, эти клетки ответственны за рецидив и метастазы опухолей. Установлено, что в очагах поражения ТКЛК экспрессируются гены эмбриональных стволовых клеток, такие как *Nanog homeobox (NANOG)*, *SRY (sex determining region Y)-box (SOX)-2* и *OCT4 (POU class 5 homeobox [POU5F]-1)* и их сигнальные элементы [5].

Имеется гипотеза о том, что в прогрессирование ТКЛК вовлекаются неоангиогенез и нелимфангиогенез. Злокачественные Т-лимфоциты продуцируют

ряд ангиогенных факторов, включая подоплатин (podoplanin, PDPN), рецептор 1 гиалуронана лимфатических сосудов (lymphatic vessel hyaluronan receptor-1, LYVE-1), фактор роста сосудистого эндотелия C (vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C), рецептор 3 фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF-R3) и лимфотоксин альфа (lymphotoxin alpha, LT α). Показано, что взаимодействие LT α , IL-6 и VEGF индуцирует ангиогенез путем стимулирования прорастания эндотелиальных клеток и формирования сосудистой трубки [4, 70–72].

В некоторых исследованиях сообщается об ассоциации хронического воспаления кожи с последующим развитием ТКЛК [29, 73]. Среди факторов риска ТКЛК указываются хроническое или профессиональное воздействие топоческими химическими агентами, длительно протекающий псориаз и крапивница [37]. Хроническая активация Т-лимфоцитов может в итоге привести к формированию клона атипичных Т-лимфоцитов [29]. Например, при гранулематозном ГМ развивается гранулематозное воспаление, которое может предшествовать лимфоме и является результатом пролиферации лимфоцитов – опосредованной секрецией IL-6 макрофагами [45, 74].

Сообщается о роли соотношения микробной колонизации и развития инфекционного процесса при ГМ [29, 75, 76]. Так, было показано, что бактериальные изоляты, содержащие стафилококковый энтеротоксин-A (staphylococcal enterotoxin-A, SEA), способствуют прогрессированию заболевания, индуцируя активацию STAT3 и экспрессию IL-17 злокачественными Т-лимфоцитами [76, 77]. С другой стороны, во время развития ТКЛК происходит потеря нормального репертуара TCR, проявляющаяся иммуносупрессией и оппортунистическими инфекциями, приводящими к смерти [64, 78].

Роль вирусной инфекции в патогенезе ТКЛК остается спорной. В последнее время предполагается значение ретровирусов, таких как вирус лейкемии Т-клеток типа 1 (human T-cell leukemia virus type 1, HTLV-1) и HTLV-2, вирус иммунодефицита человека и представители семейства герпесвирусов, такие как вирус Эпштейна–Барр, вирус герпеса типа 8 и цитомегаловирус. Вирусная инфекция может способствовать инфильтрации опухолей путем индукции продуцирования кератиноцитами фактора некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α), IL-6 и IL-1 β . Кроме того, на коже эти микроорганизмы играют роль постоянного хронического антигена, вызывающего клональную пролиферацию Т-клеток, что приводит к ТКЛК [40, 75, 79, 80].

Диагностика

Диагноз ТКЛК на ранних стадиях представляет определенные трудности в связи с полиморфизмом клинических проявлений и недостаточностью диагностических критериев. В связи с этим в большинстве

случаев для подтверждения диагноза требуется в среднем 6 лет от начала заболевания [3, 81–83].

В последнее время, согласно рекомендациям Национального онкологического общества, для постановки диагноза ТКЛК проводится биопсия патологических участков кожи с последующим гистоморфологическим, иммуногистохимическим и молекулярно-генетическим анализом (трансформация гена *TCR*). Осмотр и пальпация кожи остаются основными при подозрении на ТКЛК. Обязательной является пальпация ЛУ [24, 81, 84]. Достаточно часто для постановки окончательного диагноза ТКЛК показано проведение серии биопсий, так как морфологические и фенотипические признаки ТКЛК варьибельны и при однократной биопсии существует риск неправильного диагноза [32, 33, 81, 84, 85]. Идентификация злокачественных клеток в ПК пациентов с ТКЛК неопенима для диагностики и прогноза СС на ранних стадиях [86, 87]. Однако анализ крови имеет ограниченную ценность из-за отсутствия точного высокочувствительного маркера для диагностики клеток Сезари. В настоящее время отсутствие маркеров CD7 и/или CD26 на CD4-клетках является суррогатным показателем злокачественности. Лактатдегидрогеназа является неспецифическим маркером опухолевой нагрузки и указывает на неблагоприятный прогноз ТКЛК [24, 29, 88].

В ряде исследований показана возможность достоверной оценки аберраций генов при ТКЛК [4, 89].

Обнаружение клона злокачественных Т-клеток не является диагностическим маркером, но может быть полезным индикатором в сложных случаях. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) возможно определение клонов Т-клеток у 93–95 % пациентов, тогда как чувствительность и специфичность высокопроизводительного секвенирования ПЦР для обнаружения клонов Т-клеток несколько выше (97 %), чем традиционной ПЦР. Важным диагностическим маркером при СС является обнаружение злокачественных клеток методом проточной цитометрии [24, 67, 81].

Важный маркер для диагностики ТКЛК – потеря поверхностных клеточных маркеров злокачественных Т-лимфоцитов, таких как CD26, CD27 и CD7. С другой стороны, сообщается об избыточной экспрессии CD164 на CD4⁺ Т-клетках у пациентов с СС. Так, при обнаружении методом проточной цитометрии в крови у пациентов с эритродермией более 20 % CD164 на CD4⁺ Т-клетках можно заподозрить СС. Однако, учитывая невысокую чувствительность и специфичность метода, эти результаты следует интерпретировать осторожно [86].

Т-клеточный растворимый рецептор IL-2 (T-cell-specific soluble IL-2 receptor, sIL-2r) неспецифичен для диагностики ТКЛК, но является потенциальным маркером активности, тяжести и прогноза. Сообщается о связи между увеличенным sIL-2r и патологией яичников и прогрессирующей стадией ГМ. Этот

фактор более специфичен для прогноза, чем лактат-дегидрогеназа [29].

Недавние исследования подтвердили роль *TOX*-гена в качестве маркера ТКЛК (см. рис. 2). Более того, этот ген является кандидатом-мишенью для терапии [44].

Показано, что *EPHA4* может быть диагностическим и прогностическим маркером для СС [23]. Профилирование *miRNA* является диагностическим маркером для ТКЛК, и минимальная идентификация классов *miRNA* позволяет диагностировать злокачественные дерматозы [51].

Магнитно-резонансная томография (МРТ) или компьютерная томография (КТ) используется для диагностики узлового и системного поражения [18, 58]. Позитронно-эмиссионная томография (позитронно-эмиссионная томография с фторооксиглюкозой, Фтор-18, ¹⁸F-FDG, PET-СТ) может определять кожные и внекожные поражения при ТКЛК, ответ на терапию и рецидив заболевания. По сравнению с КТ этот диагностический метод более чувствителен и специфичен для выявления как кожного, так и внекожного поражения, особенно при определении поражения ЛУ [29, 84].

Лечение

Основная цель лечения ТКЛК — редукция клинических проявлений с достижением ремиссии и профилактики прогрессирования при снижении побочных явлений применяемых лекарственных препаратов [3, 64, 90].

При этом исключается назначение большого количества препаратов при ТКЛК из-за высокого риска вторичного инфицирования на фоне снижения барьерных свойств кожи [91, 92].

На ранних стадиях ТКЛК (IA–IIA) при поражении менее 20 % кожного покрова назначается топическая терапия, тогда как торпидное течение ранних стадий заболевания и поздние формы ТКЛК (начиная с IIB) являются показанием для назначения системной терапии [3, 11, 19, 81, 93–96].

Известно, что кортикостероиды (топические и системные) эффективны в лечении ТКЛК. Однако при их применении возможны рецидивы заболевания [3, 29, 97, 98].

Показана эффективность препаратов группы имидамидов, являющегося агонистом Toll-подобного рецептора 7 (Toll-like receptor 7, TLR7), при лечении ГМ. Механизм действия препарата опосредуется индукцией продукции интерферона-альфа (IFN-α), TNF-α, IL-1α, -6 и -8 из плазматических дендритных клеток, которые наблюдаются при воспалительных и злокачественных поражениях кожи. Сообщается о положительных результатах применения топического резиквимода — имидазохинолина с TLR7- и TLR8-стимулирующей активностью на ранних стадиях ТКЛК. Клинически его эффективность

проявлялась в индукции регресса необработанных зон поражения, что, вероятно, опосредовано усилением системного противоопухолевого иммунитета. Предполагается, что резиквимод оказывает действие путем пополнения и расширения клонов доброкачественных Т-клеток, увеличения эффекторных функций внутрикожных Т-лимфоцитов и функции натуральных Т-киллеров [98].

Показана эффективность топических химиотерапевтических препаратов (мехлорэтамин и кармустин) на ранних стадиях ТКЛК, тогда как при распространенных формах их эффект сомнителен [3, 19]. Мехлорэтамин, алкилирующий препарат, механизм действия которого обусловлен ингибированием пролиферирующих клеток и влиянием на взаимодействие кератиноцитов и клеток Лангерганса, одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) для лечения ГМ IA и IB стадий. Однако описано развитие немеланомного рака кожи у пациентов, получавших этот препарат в сочетании с фототерапией, лучевой и иммуносупрессивной химиотерапией [19].

ПУВА-терапия (псорален + ультрафиолет А), фототерапия ультрафиолетом В (UVB) и ультрафиолетом А I (UVA I), а также эксимерный лазер являются наиболее распространенными методами лечения, используемыми для достижения ремиссии или предотвращения прогрессирования при ГМ. По сравнению с ПУВА UVB-терапия менее эффективна в лечении инфильтрационных поражений. Кроме того, при терапии UVB продолжительность ремиссии меньше [14, 29].

Известно, что в связи с чувствительностью лимфоцитов при лечении ТКЛК эффективна лучевая терапия [99, 100]. Показана целесообразность этого метода в лечении ранних стадий ТКЛК и одиночных очагов поражения кожи. Электронно-лучевая терапия эффективна на I–III стадиях ТКЛК [90, 91, 101, 102].

Стандартная фотодинамическая терапия с аминокислотой (ALA-PDT) эффективна в лечении ТКЛК в связи с механизмом действия посредством апоптоза, в то время как экспрессия рецепторов клеточной гибели, таких как *FAS* в злокачественных Т-клетках, является низкой. Комбинация метотрексата с ALA-PDT повышает эффективность фотодинамической терапии путем активизации *FAS* через ингибирование метилирования его промотора [103–105].

Показана целесообразность назначения ретиноидов, эффект которых обусловлен антипролиферативным и апоптоз-индуцирующим эффектом [106, 107]. Кроме того, рецептор β2 ретиноевой кислоты работает как ген — супрессор опухоли. В зарубежной практике среди системных ретиноидов аллотретиноин и бексаротен (Таргретин) одобрены FDA для терапии ГМ [108–110]. В отечественной практике назначают тазаротен, эффективный в виде монотерапии при I–IIA

стадии ТКЛК. Среди системных ретиноидов эффективны ацитретин и изотретиноин [29].

HDACIs, классифицированные как противоопухолевые средства, являются новыми в терапии ТКЛК [3, 29, 111]. Механизм их действия реализуется по транскрипционно-зависимому и транскрипционно-независимому путям [19], включая промоцию экспрессии генов, регулирующих клеточную дифференцировку и апоптоз, а также индуцирование изменений структурной целостности хроматина [3, 51], увеличение продукции активных форм кислорода и уменьшение митохондриальной мембраны [112]. Эти агенты разрушают преимущественно трансформированные клетки, а не нормальные [19]. В настоящее время доступны 3 препарата из этой группы: во-риностат, белиностат и ромидеспин [3, 19, 91, 110, 112]. При назначении в виде монотерапии они обеспечивают общий ответ в 30–35 % случаев, однако полный ответ наблюдается лишь в 2–6 % [19]. Другие препараты из этой группы (энтиностат, ремтиностат, AN-7 и квизиностат) активно исследуются [19].

В целом HDACIs относительно хорошо переносятся. Среди побочных явлений отмечены слабость, расстройство желудочно-кишечного тракта, тромбоцитопения, нейтропения, анемия и обезвоживание [3].

Денилейкин дифтитокс, одобренный FDA для лечения ТКЛК, представляет собой рекомбинантный сшитый протеин, состоящий из дифтерийного токсина и IL-2 [29, 91, 113]. Общий ответ сходен с таковым у ромидеспина и составляет 30 %. При этом у 10 % пациентов отмечался полный ответ.

Сообщается об эффективности занолиумаба (анти-CD4 антитела) при ТКЛК с незначительным риском инфекционных осложнений [91].

Имеются данные, что препараты цитокинов, таких как IFN- α , эффективны в терапии ГМ и СС, однако могут усугубить течение первичной периферической Т-клеточной лимфомы кожи (ППТКЛК) [12]. IFN- α 2b по-прежнему остается препаратом выбора 1-й линии системной терапии при ГМ [113]. Показана целесообразность назначения рекомбинантного IL-12 в лечении ТКЛК за счет индуцирования клеточного иммунитета и ответа цитотоксических Т-лимфоцитов [98]. Анти-TNF- α абсолютно противопоказаны при лимфомах: в случаях недиагностированной ТКЛК при постановке диагнозов «псориаз» или «экзема» терапия анти-TNF- α вызывает манифестацию лимфомы [114].

Определенное значение в лечении ТКЛК играют химиотерапевтические препараты, однако их применение сопровождается тяжелыми побочными эффектами [19]. К другим системным химиотерапевтическим препаратам, применяемым для лечения ТКЛК, относятся метотрексат, хлорамбуцил, гемцитабин и доксорубицин [29]. В ряде исследований показана переменная эффективность циклофосфида, доксорубина, винкристина и преднизолона в лечении прогрессирующих вариантов ТКЛК [29, 91].

Сообщается о возможности применения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) у пациентов с распространенными формами ГМ и СС. Алло-ТГСК является лечебным методом для пациентов с онкологическими и неонкологическими болезнями с миелоаблативными или немиелоаблативными схемами кондиционирования. Известно, что у пациентов, получающих алло-ТГСК, возможны острая или хроническая реакция трансплантата против хозяина или серьезные инфекционные осложнения.

По данным Европейской группы по трансплантации крови и костного мозга (European Group for Blood and Marrow Transplantation), возможна высокая эффективность алло-ТГСК у пациентов с ТКЛК. Однако исследования в данной области малочисленны, отсутствуют стандартные протоколы лечения с точными дозировками и режимами назначения, а также неизвестен отдаленный катамнез эффективности терапии [115–117].

Тотальное облучение всего тела оправданно при распространенных вариантах ТКЛК. При этом установлено, что ответная реакция при опухолевой стадии ниже в сравнении с таковой при пятнистой стадии (36 % против 98,3 %) [90].

Эффективным методом терапии ТКЛК является экстракорпоральный фотоферез — иммуномодулирующий метод, обеспечивающий увеличение популяции дендритных клеток ПК и усиление Th1-опосредованного иммунного ответа [118]. Этот способ показан для лечения СС [91, 118], однако обеспечивает лишь частичную ремиссию (от 30 до 80 % случаев).

Установлено, что аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток показана для лечения прогрессирующих стадий ГМ, СС и ППТКЛК [16, 95, 98, 115, 119].

В ряде исследований показано, что этот способ целесообразен при рецидиве ТКЛК у молодых пациентов после неоднократных курсов химиотерапии [16].

В настоящее время проводятся исследования эффективности ряда препаратов, включая тазаротен, леналидомид, синтетические олигонуклеотиды, темозоломид, ингибитор С-бета-киназы, ингибиторы муцина 1 С, эверолимус, ингибиторы PD1/PD-L1, брентуксимаб ведотин и могамулизумаб [69, 91, 111, 120, 121].

Известно, что в клетках ТКЛК выявлена избыточная экспрессия муцина 1, что обеспечивает эффективность терапии, направленной на эту мишень. Теоретически ингибиторы муцина 1С, такие как GO-203, которые повышают уровень реакционноспособного кислорода и приводят к индуцированному окислительным стрессом позднему апоптозу/некрозу, могут быть эффективны при лечении [43]. Эверолимус, воздействующий на мишень (mammalian target of rapamycin, mTOR), по-видимому, эффективен при лечении Т-клеточной лимфомы путем ингибирования пролиферации злокачественных Т-клеток [121].

Прогноз

Т-клеточные лимфомы кожи — длительно существующая пожизненная патология, рецидивирующая и после окончания терапии, даже при вариантах без прогрессирования [98]. Несмотря на внедрение комплекса методов терапии, по мере прогрессирова-

ния ТКЛК и развития рефрактерности к лечению, злокачественные клетки приобретают способность инфильтрировать ЛУ и периферические сосуды, что приводит к истощению организма. Так, прогрессирование опухолевой стадии с распространением неопластических клеток в ЛУ и внутренние органы

Таблица 2. Прогностические факторы Т-клеточных лимфом кожи

Table 2. Cutaneous T-cell lymphomas prognostic factors

Клинические Clinical	Возраст Age
	Пол Gender
	Стадия Stage
	Степень и тип поражения кожи Degree and type of skin lesion
	Внекожные поражения: кровь, костный мозг и половые железы Extracutaneous lesions: blood, bone marrow and gonads
	Прогрессирование заболевания Disease progression
Лабораторные Laboratory	Индекс пролиферации Proliferation index
	Фолликулотропизм Folliculotropism
	Наличие клеток Сезари The presence of Sézary cells
	Крупноклеточная трансформация по гистологическим данным Large-cell transformation by histology
	Соотношение лейкоциты/лимфоциты крови Ratio of white blood cells/lymphocytes
	Потеря Т-клеточного рецептора (CD3) Loss of T-cell receptor (CD3)
	Повышенный уровень растворимого рецептора интерлейкина-2 при постановке диагноза Increased soluble interleukin-2 receptor level at diagnosis
	Нормальный или повышенный уровень лактатдегидрогеназы Normal or increased level of lactate dehydrogenase
	Экспрессия CD30 <10 % <10 % CD30 expression
	Избыточная экспрессия TOX Excess TOX Expression
	Экспрессия маркеров пролиферации Ki-67, MCM-3 и MCM-7 Expression of proliferation markers Ki-67, MCM-3 and MCM-7
	МикроРНК-профилирование MicroRNA profiling
	Экспрессия гранулизина Granulysin expression
	Презентация FOXP3 ⁺ регуляторных Т-лимфоцитов Presentation of FOXP3 ⁺ regulatory T-lymphocytes
	Экспрессия EPHA4 EPHA4 expression

отмечается менее чем в 5 % случаев ТКЛК. В табл. 2 приведены прогностические факторы ТКЛК [3, 10, 12, 24, 29, 44, 64, 67, 69, 77, 84, 96, 113, 122].

При ТКЛК с поражением внутренних органов кожный процесс отличается тяжелым течением с высоким риском развития инфекционных поражений. Также показано, что по данным аутопсии 70–90 % умерших пациентов с ГМ имели поражение внутренних органов [10].

Кроме того, первичные ТКЛК по клиническим проявлениям отличаются от системных лимфом с поражением кожи [59].

Данные по ожидаемой продолжительности жизни пациентов с ранними стадиями ТКЛК и здоровыми

людьми сопоставимы, тогда как при прогрессирующих стадиях отмечается сокращение на 3,2–9,9 года [3].

Известно, что ГМ имеет хроническое длительное течение и пациенты умирают преимущественно от заболеваний, не связанных с основным диагнозом. Однако примерно у 25 % из них причиной смерти становится лимфома [29], что обусловлено иммуносупрессией и развитием оппортунистических инфекций [19].

Прогноз при СС неблагоприятный. Средняя выживаемость пациентов составляет 2–4 года, а 5-летняя выживаемость отмечается примерно в 18–20 % случаев [3, 16, 123]. При ППТКЛК 5-летняя выживаемость составляет менее 20 % [7, 12].

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Edelson R.L. Outsmarting cutaneous T-cell lymphoma cells by decoding the language they speak: focusing past and present insights on future prospects. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2010;10(Suppl 2):S59–62. DOI: 10.3816/CLML.2010.s.008. PMID: 20826398.
- Edelson R.L. Cutaneous T cell lymphoma: mycosis fungoides, Sezary syndrome, and other variants. *J Am Acad Dermatol* 1980;2(2):89–106. PMID: 6988470.
- Rodd A.L., Ververis K., Karagiannis T.C. Current and Emerging Therapeutics for Cutaneous T-Cell Lymphoma: Histone Deacetylase Inhibitors. *Lymphoma* 2012;2012:1–10. DOI: 10.1155/2012/290685.
- Lauenborg B., Christensen L., Ralfkiaer U. et al. Malignant T cells express lymphotoxin α and drive endothelial activation in cutaneous T cell lymphoma. *Oncotarget* 2015;6(17):15235–15249. DOI: 10.18632/oncotarget.3837. PMID: 25915535.
- Litvinov I.V., Netchiporouk E., Cordeiro B. et al. Ectopic expression of embryonic stem cell and other developmental genes in cutaneous T-cell lymphoma. *Oncoimmunology* 2014;3(11):e970025. DOI: 10.4161/21624011.2014.970025. PMID: 25941598.
- Ponte P., Serrão V., Apetato M. Efficacy of narrowband UVB vs. PUVA in patients with early-stage mycosis fungoides. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010;24(6):716–21. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2009.03500.x. PMID: 19929938.
- Willemze R., Jaffe E.S., Burg G. et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* 2005;105(10):3768–85. DOI: 10.1182/blood-2004-09-3502. PMID: 15692063.
- Bradford P.T., Devesa S.S., Anderson W.F., Toro J.R. Cutaneous lymphoma incidence patterns in the United States: a population-based study of 3884 cases. *Blood* 2009;113(21):5064–73. DOI: 10.1182/blood-2008-10-184168. PMID: 19279331.
- Willemze R. Cutaneous T-cell lymphoma: epidemiology, etiology, and classification. *Leuk Lymphoma* 2003;44(Suppl 3):S49–54. PMID: 15202525.
- Gómez Venegas Á.A., Vargas Rubio R.D. Unusual involvement in mycosis fungoides: Duodenal papilla. *Rev Esp Enferm Dig* 2016;108(8):513–6. DOI: 10.17235/reed.2015.3831/2015. PMID: 26652167.
- Devata S., Wilcox R.A. Cutaneous T-Cell Lymphoma: A Review with a Focus on Targeted Agents. *Am J Clin Dermatol* 2016;17(3):225–37. DOI: 10.1007/s40257-016-0177-5. PMID: 26923912.
- Aderhold K., Carpenter L., Brown K., Donato A. Primary Cutaneous Peripheral T-Cell Lymphoma Not Otherwise Specified: A Rapidly Progressive Variant of Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Case Rep Oncol Med* 2015;2015:429068. DOI: 10.1155/2015/429068. PMID: 26380134.
- Cutaneous T-cell lymphoma. In: Bologna J., Jorizzo J., Rapini R. *Dermatology*. St. Louis, Mo, USA: Mosby/Elsevier, 2008. P. 2017–2036.
- Olsen E., Vonderheid E., Pimpinell E. et al. Revisions to the staging and classification of MF and SS: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the European Organization of research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood* 2007;110(6):1713–22. DOI: 10.1182/blood-2007-03-055749. PMID: 17540844.
- Campbell J.J., Clark R., Watanabe R., Kupper T.S. Sezary syndrome and mycosis fungoides arise from distinct T-cell subsets: a biologic rationale for their distinct clinical behaviors. *Blood* 2010;116(5):767–71. DOI: 10.1182/blood-2009-11-251926. PMID: 20484084.
- Väkevä L., Niittyvuopio R., Leppä S. et al. Allogeneic Haematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with Cutaneous T-cell Lymphoma. *Acta Derm Venereol* 2016;96(6):816–7. DOI: 10.2340/00015555-2362. PMID: 26864630.
- Jankowska-Konsur A., Kobierzycki C., Reich A. et al. Expression of SATB1, MT1/II and Ki-67 in Mycosis Fungoides. *Anticancer Res* 2016;36(1):189–97. PMID: 26722043.
- Jawed S.I., Myskowski P.L., Horwitz S. et al. Primary cutaneous Tcell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome): part I. Diagnosis: clinical and histopathologic features and new molecular and biologic markers. *J Am Acad Dermatol* 2014;70(2):205.e1–16. DOI: 10.1016/j.jaad.2013.07.049. PMID: 24438969.
- Moyal L., Feldbaum N., Goldfeiz N. et al. The Therapeutic Potential of AN-7, a Novel Histone Deacetylase Inhibitor, for Treatment of Mycosis Fungoides/Sezary Syndrome Alone or with Doxorubicin. *PLoS One* 2016;11(1):e0146115. DOI: 10.1371/journal.pone.0146115. PMID: 26752418.
- Poligone B. Romidepsin: evidence for its potential use to manage previously treated cutaneous T cell lymphoma. *Core Evid* 2011;6:1–12. DOI: 10.2147/CE.S9084. PMID: 21468238.
- Girardi M., Edelson R.L. Cutaneous T-cell lymphoma: pathogenesis and treatment. *Oncology (Williston Park)* 2000;14(7):1061–70. PMID: 10929591.
- Krejsgaard T., Kopp K., Ralfkiaer E. et al. A novel xenograft model of cutaneous T-cell lymphoma. *Exp Dermatol* 2010;19(12):1096–102. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2010.01138.x. PMID: 20629733.
- Hammetman L., van der Fits L., Zoutman W.H. et al. EPHA4 is overexpressed but not functionally active in Sézary syndrome. *Oncotarget* 2015;6(31):31868–76. DOI: 10.18632/oncotarget.5573. PMID: 26376612.

24. Benjamin Chase A., Markel K., Tawa M.C. Optimizing Care and Compliance for the Treatment of Mycosis Fungoides Cutaneous T-Cell Lymphoma With Mechlorethamine Gel. *Clin J Oncol Nurs* 2015;19(6):E131–9. DOI: 10.1188/15.CJON.E131-E139. PMID: 26583648.
25. Foo S.H., Shah F., Chaganti S. et al. Unmasking mycosis fungoides/Sézary syndrome from preceding or co-existing benign inflammatory dermatoses requiring systemic therapies: patients frequently present with advanced disease and have an aggressive clinical course. *Br J Dermatol* 2016;174(4):901–4. DOI: 10.1111/bjd.14238. PMID: 26479768.
26. LeBlanc R.E., Tavallae M., Kim Y.H. et al. Useful Parameters for Distinguishing Subcutaneous Panniculitis-like T-Cell Lymphoma From Lupus Erythematosus Panniculitis. *Am J Surg Pathol* 2016;40(6):745–54. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000596. PMID: 26796503.
27. Pankratov O., Gradova S., Tarasevich S., Pankratov V. Poikilodermatous mycosis fungoides: clinical and histopathological analysis of a case and literature review. *Acta Dermatovenereol Alp Pannonica Adriat* 2015;24(2):37–41. DOI: 10.15570/actaapa.2015.10. PMID: 26086166.
28. Sarveswari K.N., Yesudian P. The conundrum of parapsoriasis versus patch stage of mycosis fungoides. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2009;75:229–35. DOI: 10.4103/0378-6323.51239. PMID: 19439874.
29. Eklund Y., Aronsson A., Schmidtchen A. et al. Mycosis Fungoides: A Retrospective Study of 44 Swedish Cases. *Acta Derm Venereol* 2016;96(5):669–73. DOI: 10.2340/00015555-2337. PMID: 26778803.
30. Sarantopoulos G.P., Palla B., Said J. et al. Mimics of cutaneous lymphoma: Report of the 2011 Society for Hematopathology/European Association for Haematopathology workshop. *Am J Clin Pathol* 2013;139(4):536–51. DOI: 10.1309/AJCPX4BXT2PQBRKO. PMID: 23525620.
31. Smedby K.E., Vajdich C.M., Falster M. et al. Autoimmune disorders and risk of non-Hodgkin lymphoma subtypes: A pooled analysis within the InterLymph Consortium. *Blood* 2008;111(8):4029–38. DOI: 10.1182/blood-2007-10-119974. PMID: 18263783.
32. Kash N., Massone C., Fink-Puches R. et al. Phenotypic Variation in Different Lesions of Mycosis Fungoides Biopsied Within a Short Period of Time From the Same Patient. *Am J Dermatopathol* 2016;38(7):541–5. DOI: 10.1097/DAD.0000000000000493. PMID: 26885605.
33. Smoller B.R., Bishop K., Glusac E. et al. Reassessment of histologic parameters in the diagnosis of mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol* 1995;19(12):1423–30. PMID: 7503364.
34. Bosisio F.M., Cerroni L. Expression of T-follicular helper markers in sequential biopsies of progressive mycosis fungoides and other primary cutaneous T-cell lymphomas. *Am J Dermatopathol* 2015;37(2):115–21. DOI: 10.1097/DAD.0000000000000258. PMID: 25406852.
35. Smoller B.R. Mycosis fungoides: what do/ do not we know? *J Cutan Pathol* 2008;35(Suppl 2):35–9. DOI: 10.1111/j.1600-0560.2008.01120.x. PMID: 18976417.
36. Girardi M., Heald P.W., Wilson L.D. The pathogenesis of mycosis fungoides. *New Engl J Med* 2004;350(19):1978–88. DOI: 10.1056/NEJMra032810. PMID: 15128898.
37. Lebas E., Libon F., Nikkels A.F. Koebner Phenomenon and Mycosis Fungoides. *Case Rep Dermatol* 2015;7(3):287–291. DOI: 10.1159/000440856. PMID: 26557075.
38. Lee C.S., Ungewickell A., Bhaduri A. et al. Transcriptome sequencing in Sezary syndrome identifies Sezary cell and mycosis fungoides-associated lncRNAs and novel transcripts. *Blood* 2012;120(16):3288–97. DOI: 10.1182/blood-2012-04-423061. PMID: 22936659.
39. Maj J., Jankowska-Konsur A.M., Haloń A. et al. Expression of CXCR4 and CXCL12 and their correlations to the cell proliferation and angiogenesis in mycosis fungoides. *Postepy Dermatol Alergol* 2015;32(6):437–42. DOI: 10.5114/pdia.2015.48034. PMID: 26755907.
40. Nahidi Y., Meibodi N.T., Ghazvini K. et al. Evaluation of the Association between Epstein–Barr virus and Mycosis Fungoides. *Indian J Dermatol* 2015;60(3):321. DOI: 10.4103/0019-5154.156423. PMID: 26120176.
41. Wong H.K., Mishra A., Hake T., Porcu P. Evolving insights in the pathogenesis and therapy of cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sezary syndrome). *Br J Haematol* 2011;155(2):150–166. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08852. PMID: 21883142.
42. Booken N., Gratchev A., Utikal J. et al. Sezary syndrome is a unique cutaneous T-cell lymphoma as identified by an expanded gene signature including diagnostic marker molecules CDO1 and DNM3. *Leukemia* 2008;22(2):393–9. DOI: 10.1038/sj.leu.2405044. PMID: 18033314.
43. da Silva Almeida A.C., Abate F., Khiabani H. et al. The mutational landscape of cutaneous T cell lymphoma and Sézary syndrome. *Nat Genet* 2015;47(12):1465–70. DOI: 10.1038/ng.3442. PMID: 26551667.
44. Dulmage B.O., Akilov O., Vu J.R. et al. Dysregulation of the TOX–RUNX3 pathway in cutaneous T-cell lymphoma. *Oncotarget* 2015. DOI: 10.18632/oncotarget.5742.
45. Gallardo F., Sandoval J., Diaz-Lagares A. et al. Notch1 Pathway Activation Results from the Epigenetic Abrogation of Notch-Related MicroRNAs in Mycosis Fungoides. *J Invest Dermatol* 2015;135(12):3144–52. DOI: 10.1038/jid.2015.328. PMID: 26302069.
46. Katona T.M., Smoller B.R., Webb A.L. et al. Expression of PTEN in mycosis fungoides and correlation with loss of heterozygosity. *Am J Dermatopathol* 2013;35(5):555–60. DOI: 10.1097/DAD.0b013e318276cc68. PMID: 23715078.
47. Kitadate A., Ikeda S., Teshima K. et al. MicroRNA-16 mediates the regulation of a senescence-apoptosis switch in cutaneous T-cell and other non-Hodgkin lymphomas. *Oncogene* 2016;35(28):3692–704. DOI: 10.1038/ncr.2015.435. PMID: 26640145.
48. Krejsgaard T., Ralfkiaer U., Clasen-Linde E. et al. Malignant cutaneous T-cell lymphoma cells express IL-17 utilizing the Jak3/Stat3 signaling pathway. *J Invest Dermatol* 2011;131(6):1331–8. DOI: 10.1038/jid.2011.27. PMID: 21346774.
49. McGirt L.Y., Jia P., Baerenwald D.A. et al. Whole-genome sequencing reveals oncogenic mutations in mycosis fungoides. *Blood* 2015;126(4):508–19. DOI: 10.1182/blood-2014-11-611194. PMID: 26082451.
50. Shareef M.M., Elgarhy L.H., Wasfy Rel-S. Expression of Granulysin and FOXP3 in Cutaneous T Cell Lymphoma and Sézary Syndrome. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16(13):5359–64. DOI: 10.7314/APJCP.2015.16.13.5359. PMID: 26225678.
51. Sibbesen N.A., Kopp K.L., Litvinov I.V. et al. Jak3, STAT3, and STAT5 inhibit expression of miR-22, a novel tumor suppressor microRNA, in cutaneous T-Cell lymphoma. *Oncotarget* 2015; 6(24): 20555–20569. DOI: 10.18632/oncotarget.4111. PMID: 26244872.
52. Tensen C.P. PLCG1 Gene Mutations in Cutaneous T-Cell Lymphomas Revisited. *J Invest Dermatol* 2015;135(9):2153–4. DOI: 10.1038/jid.2015.221. PMID: 26269406.
53. Ungewickell A., Bhaduri A., Rios E. et al. Genomic analysis of mycosis fungoides and Sézary syndrome identifies recurrent alterations in TNFR2. *Nat Genet* 2015;47(8):1056–60. DOI: 10.1038/ng.3370. PMID: 26258847.
54. Wang L., Ni X., Covington K.R. et al. Genomic profiling of Sézary syndrome identifies alterations of key T cell signaling and differentiation genes. *Nat Genet* 2015;47(12):1426–34. DOI: 10.1038/ng.3444. PMID: 26551670.
55. Woollard W.J., Kalaivani N.P., Jones C.L. et al. Independent Loss of Methylthioadenosine Phosphorylase (MTAP) in Primary Cutaneous T-Cell Lymphoma. *J Invest Dermatol* 2016;136(6):1238–46. DOI: 10.1016/j.jid.2016.01.028. PMID: 26872600.
56. Krejsgaard T., Litvinov I.V., Wang Y. et al. Elucidating the role of interleukin-17F

- in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2013;122(6):943–50. DOI: 10.1182/blood-2013-01-480889. PMID: 23801634.
57. Marzec M., Liu X., Kasprzycka M. et al. IL-2- and IL-15-induced activation of the rapamycin-sensitive mTORC1 pathway in malignant CD4+ T lymphocytes. *Blood* 2008;111(4):2181–9. DOI: 10.1182/blood-2007-06-095182. PMID: 18025151.
 58. Booken N., Gratchev A., Utikal J. et al. Sezary syndrome is a unique cutaneous T-cell lymphoma as identified by an expanded gene signature including diagnostic marker molecules CDO1 and DNM3. *Leukemia* 2008;22(2):393–99. DOI: 10.1038/sj.leu.2405044. PMID: 18033314.
 59. Lee H.S., Suh K.S., Lee D.Y. et al. Cutaneous Lymphoma in Korea: A Nationwide Retrospective Study. *Acta Derm Venereol* 2016;96(4):535–9. DOI: 10.2340/00015555-2283. PMID: 26560051.
 60. Manso R., Martínez-Magunacelaya N., Eraña-Tomás I. et al. Mycosis fungoides progression could be regulated by microRNAs. *PLoS One* 2018;13(6):e0198477. DOI: 10.1371/journal.pone.0198477. PMID: 29894486.
 61. Picchio M.C., Scala E., Pomponi D. et al. CXCL13 is highly produced by Sezary cells and enhances their migratory ability via a synergistic mechanism involving CCL19 and CCL21 chemokines. *Cancer Res* 2008;68(17):7137–46. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0602. PMID: 18757429.
 62. Zhang Y., Zhao H., Zhao D. et al. SDF-1/CXCR4 axis in myelodysplastic syndromes: correlation with angiogenesis and apoptosis. *Leuk Res* 2012;36(3):281–6. DOI: 10.1016/j.leukres.2011.06.017. PMID: 21802140.
 63. Wu X., Lonsdorf A.S., Hwang S.T. Cutaneous T cell lymphoma: roles for chemokines and chemokine receptors. *J Invest Dermatol* 2009;129(5):1115–9. DOI: 10.1038/jid.2009.45. PMID: 19242508.
 64. Choi J., Goh G., Walradt T. et al. Genomic landscape of cutaneous T cell lymphoma. *Nat Genet* 2015;47(9):1011–9. DOI: 10.1038/ng.3356. PMID: 26192916.
 65. Zhan H.L., Gao X., Zhou X.F. et al. Presence of tumour-infiltrating FOXP3+ lymphocytes correlates with immature tumour angiogenesis in renal cell carcinomas. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012;13(3):867–72. DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.3.867. PMID: 22631663.
 66. Narducci M.G., Scala E., Bresin A. et al. Skin homing of Sezary cells involves SDF-1–CXCR4 signaling and down-regulation of CD26/dipeptidylpeptidase IV. *Blood* 2006;107:1108–5. DOI: 10.1182/blood-2005-04-1492. PMID: 16204308.
 67. Guenova E., Ignatova D., Chang Y.T. et al. Expression of CD164 on Malignant T cells in Sézary Syndrome. *Acta Derm Venereol* 2016;96(4):464–7. DOI: 10.2340/00015555-2264. PMID: 26524186.
 68. Wysocka M., Kossenkova A.V., Benoit B.M. et al. CD164 and FCRL3 are highly expressed on CD4+CD26–T cells in Sezary syndrome patients. *J Invest Dermatol* 2014;134(1):229–36. DOI: 10.1038/jid.2013.279. PMID: 23792457.
 69. Jain S., Stroopinsky D., Yin L. et al. Mucin 1 is a potential therapeutic target in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2015;126(3):354–62. DOI: 10.1182/blood-2015-02-628149. PMID: 26048911.
 70. Karpova M., Fujii K., Jenni D. et al. Evaluation of lymphangiogenic markers in Sezary syndrome. *Leuk Lymphoma* 2011;52(3):491–501. DOI: 10.3109/10428194.2010.517877. PMID: 20846094.
 71. Krejsgaard T., Vetter-Kauczok C.S., Woetmann A. et al. Jak3- and JNK-dependent vascular endothelial growth factor expression in cutaneous T-cell lymphoma. *Leukemia* 2006;20(10):1759–66. DOI: 10.1038/sj.leu.2404350. PMID: 16932349.
 72. Pedersen I., Willerslev-Olsen A., Vetter-Kauczok C. et al. Vascular endothelial growth factor receptor-3 expression in mycosis fungoides. *Leuk Lymphoma* 2013;54(4):819–26. DOI: 10.3109/10428194.2012.726720. PMID: 22946664.
 73. Fletcher C.L., Orchard G.E., Hubbard V. et al. CD30(+) cutaneous lymphoma in association with atopic eczema. *Arch Dermatol* 2004;140:449–54. DOI: 10.1001/archderm.140.4.449. PMID: 15096373.
 74. Pousa C.M., Nery N.S., Mann D. et al. Granulomatous mycosis fungoides – a diagnostic challenge. *An Bras Dermatol* 2015;90(4):554–6. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20153460. PMID: 26375225.
 75. Mirvish E.D., Pomerantz R.G., Geskin L.J. Infectious agents in cutaneous T-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 2011;64(2):423–31. DOI: 10.1016/j.jaad.2009.11.692. PMID: 20692726.
 76. Willerslev-Olsen A., Krejsgaard T., Lindahl L.M. et al. Staphylococcal enterotoxin A (SEA) stimulates STAT3 activation and IL-17 expression in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2016;127(10):1287–96. DOI: 10.1182/blood-2015-08-662353. PMID: 26738536.
 77. Talpur R., Sui D., Gangar P. et al. Retrospective Analysis of Prognostic Factors in 187 Cases of Transformed Mycosis Fungoides. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2016;16(1):49–56. DOI: 10.1016/j.clml.2015.11.010. PMID: 26702474.
 78. Yao S., Zhu Y., Chen L. Advances in targeting cell surface signalling molecules for immune modulation. *Nat Rev Drug Discov* 2013;12(2):130–46. DOI: 10.1038/nrd3877. PMID: 23370250.
 79. Mirvish J.J., Pomerantz R.G., Falo L.D.Jr., Geskin L.J. Role of infectious agents in cutaneous T-cell lymphoma: facts and controversies. *Clin Dermatol* 2013;31(4):423–31. DOI: 10.1016/j.clin-dermatol.2013.01.009. PMID: 23806159.
 80. Nagasawa T., Takakuwa T., Takayama H. et al. Fas gene mutations in mycosis fungoides: Analysis of laser capture-microdissected specimens from cutaneous lesions. *Oncology* 2004;67:130–4. DOI: 10.1159/000080999. PMID: 15539917.
 81. Hughes C.F., Newland K., McCormack C. et al. Mycosis fungoides and Sézary syndrome: Current challenges in assessment, management and prognostic markers. *Australas J Dermatol* 2016;57(3):182–91. DOI: 10.1111/ajd.12349. PMID: 25988337.
 82. Kirsch I.R., Watanabe R., O'Malley J.T. et al. TCR sequencing facilitates diagnosis and identifies mature T cells as the cell of origin in CTCL. *Sci Transl Med* 2015;7(308):308ra158. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa9122. PMID: 26446955.
 83. Sidiropoulos K.G., Martínez-Escala M.E., Yelamos O. et al. Primary cutaneous T-cell lymphomas: a review. *J Clin Pathol* 2015;68(12):1003–10. DOI: 10.1136/jclin-path-2015-203133. PMID: 26602417.
 84. Alanteri E., Usmani S., Marafi F. et al. The role of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography in patients with mycosis fungoides. *Indian J Nucl Med* 2015;30(3):199–203. DOI: 10.4103/0972-3919.158527. PMID: 26170561.
 85. Gallardo F., García-Muret M.P., Servitje O. et al. Cutaneous lymphomas showing prominent granulomatous component: clinicopathological features in a series of 16 cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009;23:639–47. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2008.03020.x. PMID: 19207677.
 86. Aggarwal S., Topaloglu H., Kumar S. Systematic Review of Burden of Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Value Health* 2015;18(7):A438. DOI: 10.1016/j.jval.2015.09.1065. PMID: 26532464.
 87. Gibson J.F., Huang J., Liu K.J. et al. Cutaneous T-cell lymphoma (CTCL): Current practices in blood assessment and the utility of T-cell receptor (TCR)-Vβ chain restriction. *J Am Acad Dermatol* 2016;74(5):870–7. DOI: 10.1016/j.jaad.2015.12.018. PMID: 26874819.
 88. Agar N.S., Wedgeworth E., Crichton S. et al. Survival and prognostic factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal. *J Clin Oncol* 2010;28(31):4730–9. DOI: 10.1200/JCO.2009.27.7665. PMID: 20855822.
 89. Katona T.M., O'Malley D.P., Cheng L. et al. Loss of heterozygosity analysis identifies genetic abnormalities in mycosis fungoides and specific loci associated with disease progression. *Am J Surg Pathol* 2007;31(10):1552–6. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3180408d76. PMID: 17895757.

90. Ahmed S.K., Grams M.P., Locher S.E. et al. Adaptation of the Stanford technique for treatment of bulky cutaneous T-cell lymphoma of the head. *Pract Radiat Oncol* 2016; 6(3):183–6. DOI: 10.1016/j.prro.2015.10.021. PMID: 26712465.
91. Chmielowska E., Studziński M., Giebel S. et al. Follow-up of patients with mycosis fungoides after interferon $\alpha 2b$ treatment failure. *Postepy Dermatol Alergol* 2015;32(2):67–72. DOI: 10.5114/pdia.2014.40941. PMID: 26015774.
92. Talpur R., Bassett R., Duvic M. Prevalence and treatment of *Staphylococcus aureus* colonization in patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Br J Dermatol* 2008;159(1):105–12. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2008.08612.x. PMID: 18489588.
93. Child F., Ortiz-Romero P.L., Alvarez R. et al. Phase II Multicenter Trial of Oral Quisnostat, a Histone Deacetylase Inhibitor, in Patients with Previously Treated Stage IB-IVA Mycosis Fungoides/Sézary Syndrome. *Br J Dermatol* 2016;175(1):80–8. DOI: 10.1111/bjd.14427. PMID: 26836950.
94. Fujii K. New Therapies and Immunological Findings in Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Front Oncol* 2018;8:198. DOI: 10.3389/fonc.2018.00198. PMID: 29915722.
95. Virmani P., Zain J., Rosen S.T. et al. Hematopoietic Stem Cell Transplant for Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome. *Dermatol Clin* 2015;33(4):807–18. DOI: 10.1016/j.det.2015.05.014. PMID: 26433851.
96. Wilcox R.A. Cutaneous T-cell lymphoma: 2016 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2016;91(1):151–65. DOI: 10.1002/ajh.24233. PMID: 26607183.
97. Nguyen C.V., Bohjanen K.A. Skin-Directed Therapies in Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Dermatol Clin* 2015;33(4):683–896. DOI: 10.1016/j.det.2015.05.004. PMID: 26433841.
98. Rook A.H., Gelfand J.M., Wysocka M. et al. Topical resiquimod can induce disease regression and enhance T-cell effector functions in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2015;126(12):1452–61. DOI: 10.1182/blood-2015-02-630335. PMID: 26228486.
99. Goddard A.L., Vleugels R.A., LeBoeuf N.R. et al. Palliative Therapy for Recalcitrant Cutaneous T-Cell Lymphoma of the Hands and Feet with Low-Dose, High Dose-Rate Brachytherapy. *JAMA Dermatol* 2015;151(12):1354–7. DOI: 10.1001/jamadermatol.2015.3028. PMID: 26397774.
100. Tandberg D.J., Craciunescu O., Kelsey C.R. Radiation Therapy for Cutaneous T-Cell Lymphomas. *Dermatol Clin* 2015;33(4):703–13. DOI: 10.1016/j.det.2015.05.006. PMID: 26433843.
101. Elsayad K., Kriz J., Moustakis C. et al. Total Skin Electron Beam for Primary Cutaneous T-cell Lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2015;93(5):1077–86. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2015.08.041. PMID: 26581145.
102. Gamsiz H., Beyzadeoglu M., Sager O. et al. Evaluation of mycosis fungoides management by total skin electron beam therapy with “translational technique”. *J BUON* 2015;20(4):1124–31. PMID: 26416066.
103. Salva K.A., Kim Y.H., Rahbar Z., Wood G.S. Epigenetically Enhanced PDT Induces Significantly Higher Levels of Multiple Extrinsic Pathway Apoptotic Factors than Standard PDT, Resulting in Greater Extrinsic and Overall Apoptosis of Cutaneous T-cell Lymphoma. *Photochem Photobiol* 2018 [Epub ahead of print]. DOI: 10.1111/php.12925. PMID: 29675945.
104. Salva K.A., Wood G.S. Epigenetically Enhanced Photodynamic Therapy (ePDT) is Superior to Conventional Photodynamic Therapy for Inducing Apoptosis in Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Photochem Photobiol* 2015;91(6):1444–51. DOI: 10.1111/php.12521. PMID: 26302991.
105. Wu J., Wood G.S. Reduction of Fas/CD95 promoter methylation, upregulation of Fas protein, and enhancement of sensitivity to apoptosis in cutaneous T-cell lymphoma. *Arch Dermatol* 2011;147(4):443–50. DOI: 10.1001/archdermatol.2010.376. PMID: 21173302.
106. Huen A.O., Kim E.J. The Role of Systemic Retinoids in the Treatment of Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Dermatol Clin* 2015;33(4):715–29. DOI: 10.1016/j.det.2015.05.007. PMID: 26433844.
107. Kato Y., Egusa C., Maeda T. et al. Combination of retinoid and histone deacetylase inhibitor produced an anti-tumor effect in cutaneous T-cell lymphoma by restoring tumor suppressor gene, retinoic acid receptor $\beta 2$, via histone acetylation. *J Dermatol Sci* 2016;81(1):17–25. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2015.10. PMID: 26596218.
108. Marciano D.P., Kuruvilla D.S., Pascal B.D. et al. Identification of Bexarotene as a PPAR γ Antagonist with HDX. *PPAR Res* 2015;2015:254560. DOI: 10.1155/2015/254560. PMID: 26451138.
109. Rodriguez Suarez S., Pamies Andreu E., Muñoz Grijalvo O. et al. Thyroid and lipidic dysfunction associated with bexarotene in cutaneous T-cell lymphoma. *Med Clin (Barc)* 2016;146(3):117–20. DOI: 10.1016/j.medcli.2015.07.017. PMID: 26688184.
110. Zinzani P.L., Bonthapally V., Huebner D. et al. Panoptic clinical review of the current and future treatment of relapsed/refractory T-cell lymphomas: Cutaneous T-cell lymphomas. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016;99:228–40. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2015.12.2018. PMID: 26811014.
111. Chung C.G., Poligone B. Cutaneous T cell Lymphoma: an Update on Pathogenesis and Systemic Therapy. *Curr Hematol Malig Rep* 2015;10(4):468–76. DOI: 10.1007/s11899-015-0293-y. PMID: 26626770.
112. Valdez B.C., Brammer J.E., Li Y. et al. Romidepsin targets multiple survival signaling pathways in malignant T cells. *Blood Cancer J* 2015;5:e357. DOI: 10.1038/bcj.2015.83. PMID: 26473529.
113. Scarisbrick J.J., Prince H.M., Vermeer M.H. et al. Cutaneous Lymphoma International Consortium Study of Outcome in Advanced Stages of Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: Effect of Specific Prognostic Markers on Survival and Development of a Prognostic Model. *J Clin Oncol* 2015;33(32):3766–73. DOI: 10.1200/JCO.2015.61.7142. PMID: 26438120.
114. Martinez-Escala M.E., Posligua A.L., Wickless H. et al. Progression of undiagnosed cutaneous lymphoma after anti-tumor necrosis factor- α therapy. *J Am Acad Dermatol* 2018;78(6):1068–76. DOI: 10.1016/j.jaad.2017.12.068. PMID: 29307643.
115. Hosing C., Bassett R., Dabaja B. et al. Allogeneic stem-cell transplantation in patients with cutaneous lymphoma: updated results from a single institution. *Ann Oncol* 2015;26(12):2490–5. DOI: 10.1093/annonc/mdv473. PMID: 26416896.
116. de Masson A., Beylot-Barry M., Bouaziz J.D. et al. Allogeneic stem cell transplantation for advanced cutaneous T-cell lymphomas: a study from the French society of bone marrow transplantation and French study group on cutaneous lymphomas. *Haematologica* 2014;99(3):527–34. DOI: 10.3324/haematol.2013.098145. PMID: 24213148.
117. Lechowicz M.J., Lazarus H.M., Carreras J. et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2014;49(11):1360–5. DOI: 10.1038/bmt.2014.161. PMID: 25068422.
118. Zic J.A. Extracorporeal Photopheresis in the Treatment of Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome. *Dermatol Clin* 2015;33(4):765–76. DOI: 10.1016/j.det.2015.05.011. PMID: 26433848.
119. Oka T., Sugaya M., Cury-Martins J. et al. Hematopoietic stem cell transplantation for cutaneous T-cell lymphoma: Summary of 11 cases from two facilities in Japan and Brazil. *J Dermatol* 2016;43(6):638–42. DOI: 10.1111/1346-8138.13199. PMID: 26602996.
120. Rozati S., Kim Y.H. Experimental treatment strategies in primary cutaneous T-cell lymphomas. *Curr Opin Oncol* 2016;28(2):166–71. DOI: 10.1097/CCO.0000000000000272. PMID: 26844985.
121. Witzig T.E., Reeder C., Han J.J. et al. The mTORC1 inhibitor everolimus has antitumor activity in vitro and produces tumor responses in patients with relapsed T-cell lymphoma. *Blood* 2015;126(3):328–35. DOI: 10.1182/blood-2015-02-629543. PMID: 25921059.
122. Jankowska-Konsur A., Kobierzycki C., Reich A. et al. Expression of MCM-3 and

MCM-7 in Primary Cutaneous T-cell Lymphomas. *Anticancer Res* 2015;35(11):6017–26. PMID: 26504025.

123. Desai M., Liu S., Parker S. Clinical characteristics, prognostic factors, and survival of 393 patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome in the southeastern United States: a single-institution cohort. *J Am Acad Dermatol* 2015;72(2):276–85. DOI: 10.1016/j.jaad.2014.10.019. PMID: 25458019.

ed States: a single-institution cohort. *J Am Acad Dermatol* 2015;72(2):276–85. DOI: 10.1016/j.jaad.2014.10.019. PMID: 25458019.

Вклад авторов

О.М. Демина, О.Е. Акилов, А.Г. Румянцев: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, анализ полученных данных (включая статистический), обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи.

Authors' contributions

O.M. Demina. A.E. Akilov, A.G. Rumyantsev: study design, obtaining data for analysis, data analysis (including statistical), review of publications on the topic of the article, article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

О.М. Демина / O.M. Demina: <https://orcid.org/0000-0001-9406-2787>

О.Е. Акилов / O.E. Akilov: <https://orcid.org/0000-0003-1339-5710>

А.Г. Румянцев / A.G. Rumyantsev: <https://orcid.org/0000-0002-1632-4822>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 20.07.2018. Принята к публикации: 15.08.2018.

Article received: 20.07.2018. Accepted for publication: 15.08.2018.

Современные представления о патогенезе грибовидного микоза

А.А. Воронцова, А.Э. Карамова, Л.Ф. Знаменская

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России;
Россия, 107076 Москва, ул. Короленко, 3, стр.6

Контакты: Арфеня Эдуардовна Карамова karamova@snikvi.ru

Грибовидный микоз — наиболее часто встречающаяся форма Т-клеточной лимфомы кожи. Патогенез заболевания сложен и остается до конца не изученным. В статье представлен обзор литературы, посвященной основным механизмам развития злокачественной пролиферации Т-лимфоцитов. Приведены данные о нарушениях в регуляции иммунных, генетических и эпигенетических механизмов, а также о роли влияния клеток микроокружения на пролиферирующий клон Т-лимфоцитов. Описаны иммунофенотипическая характеристика и клеточный состав инфильтрата у больных грибовидным микозом в зависимости от стадии заболевания. Освещены перспективные направления исследований в области изучения молекулярно-биологических предикторов развития злокачественных лимфопролиферативных заболеваний.

Ключевые слова: Т-клеточная лимфома кожи, грибовидный микоз, механизмы развития, патогенез, цитокины, интерлейкин, Т-лимфоциты, белки сигнальных путей, микроРНК

Для цитирования: Воронцова А.А., Карамова А.Э., Знаменская Л.Ф. Современные представления о патогенезе грибовидного микоза. Онкогематология 2018;13(3):39–46

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-39-46

Modern concepts of the mycosis fungoides pathogenesis

A.A. Vorontsova, A.E. Karamova, L.F. Znamenskaya

State Scientific Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of Russia;
3, bldg. 6 Korolenko St., Moscow 107076, Russia

Mycosis fungoides — the most common form of cutaneous T-cell lymphoma. The pathogenesis of this disease is complex and remains unclear. The article contains a review of the literature devoted to the main mechanisms of T-lymphocytes malignant proliferation, known to date. Data on dysregulation of immune, genetic and epigenetic mechanisms, as well as the role of microenvironment cells in the proliferation of T lymphocytes, are given. Immunophenotypic characteristics and cellular composition of the infiltrate in patients with mycosis fungoides, are described depending on the stage of the disease. Prospective directions in studying molecular-biological predictors of malignant lymphoproliferative diseases development are highlighted.

Key words: cutaneous T-cell lymphoma, mycosis fungoides, mechanisms of development, pathogenesis, cytokines, interleukin, T-lymphocytes, signaling proteins, micro-RNA

For citation: Vorontsova A.A., Karamova A.E., Znamenskaya L.F. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(3):39–46

Введение

Грибовидный микоз (ГМ) — первичная эпидермотропная Т-клеточная лимфома кожи, характеризующаяся пролиферацией малых и средних Т-лимфоцитов с церебриформными ядрами [1, 2].

На долю ГМ приходится до 65 % регистрируемых случаев Т-клеточной лимфомы кожи (ТКЛК). По данным ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, среди больных Т-клеточными лимфомами, обратившихся в период с 2001 по 2010 г., экстранодальные ТКЛК составили 31,7 %. Среди них на долю грибовидного микоза пришлось 60,7 % [3].

Более 75 % случаев ГМ наблюдается у людей старше 50 лет, средний возраст дебюта заболевания составляет 55–60 лет. Грибовидный микоз редко возникает у детей и подростков и регистрируется в 1 % случаев. Заболеваемость среди мужчин выше, чем среди женщин, соотношение составляет 1,6:1 [4].

Предполагается, что развитие ТКЛК представляет собой многофакторный и многоэтапный процесс, в котором важную роль играют индивидуальная генетическая предрасположенность, нарушение иммунного надзора и/или неблагоприятное воздействие внешних факторов [5]. Не исключаются роль бактериальной и вирусной инфекции в этиологии ТКЛК, а также

приема препаратов, обладающих иммуносупрессивным действием [6–8].

В обзорной статье рассмотрены основные звенья патогенеза ГМ, а также перспективные направления исследований в области изучения молекулярно-биологических предикторов развития злокачественных лимфопролиферативных заболеваний.

Нарушения регуляции пролиферации и апоптоза Т-лимфоцитов

Ведущее место в патогенезе ГМ занимает неконтролируемая пролиферация Т-лимфоцитов, приводящая к формированию доминирующего клона Т-лимфоцитов в коже, а затем, по мере прогрессирования заболевания, в лимфатических узлах, крови и внутренних органах. В основе этого процесса лежат нарушения апоптотических, иммунных и эпигенетических механизмов, а также влияние на пролиферирующий злокачественный клон Т-лимфоцитов окружающих неопухолевых иммунных клеток [9].

Проллиферативная активность клеток находится под влиянием многих факторов, одним из которых является экспрессия универсального маркера пролиферации — белка Ki-67. У больных ГМ установлена повышенная экспрессия белка Ki-67, уровень которой увеличивается по мере прогрессирования заболевания [10]. Помимо Ki-67 в поддержании пролиферативной активности у больных ГМ участвует В-лимфоцитарная тирозинкиназа (Blk) — член семейства src-киназ. D.L. Petersen и соавт. (2014) в своем исследовании показали, что активная форма человеческой Blk способна поддерживать клеточный опухолевый рост *in vivo* и рост лимфоидных клеток *in vitro* [11]. В работе T. Krejsgaard и соавт. (2009) показано, что большинство опухолевых Т-лимфоцитов при ТКЛК проявляют эктопическую экспрессию Blk [12].

Наряду с усилением пролиферативной активности Т-лимфоцитов у больных ТКЛК наблюдаются нарушения регуляции апоптоза. Т-клетки, как и другие клетки, подвергаются контролируемому процессу индукции клеточной смерти (апоптозу), благодаря чему поддерживается постоянство клеточного состава [13]. Важную роль в регуляции апоптоза играют фактор, стимулирующий апоптоз (FAS-L), и его рецептор (FAS). За счет генных мутаций, а также метилирования промотора FAS-L и его рецептора происходит нарушение их экспрессии опухолевыми клетками, что приводит к уменьшению чувствительности Т-лимфоцитов к FAS-опосредованному апоптозу, что расценивается как один из механизмов уклонения опухолевых клеток от иммунного надзора [14].

Иммунофенотип клеток и цитокиновый профиль при грибовидном микозе

На раннем этапе развития ГМ в коже преобладают неопухолевые Т-хелперы 1-го типа (Th1) и Т-цитотоксические CD8⁺ клетки. Секретируемые CD8⁺

клетками IFN- α , IFN- γ и другие цитотоксические факторы способны осуществлять контроль над опухолевым процессом [15]. При прогрессировании ГМ происходит снижение количества неопухолевых иммунных клеток, в том числе CD8⁺ клеток и натуральных киллеров, что приводит к снижению иммунного ответа и увеличению числа атипичных Т-лимфоцитов [16]. Снижение содержания CD8⁺ клеток в дермальном инфильтрате до 20 % свидетельствует о прогрессировании заболевания и неблагоприятном прогнозе [17].

Известно, что при развитии злокачественной пролиферации в коже больных ГМ происходит дисбаланс в системе цитокинов: часть цитокинов под действием проонкогенных факторов интенсивно синтезируется и стимулирует опухолевый рост, в то время как синтез цитокинов — ингибиторов опухолевого роста угнетается, что приводит к опухолевой прогрессии [18].

На ранних стадиях ГМ доминирует цитокиновый профиль Th1-типа с повышенной экспрессией TNF- α , IL2, IL12 и IFN- γ . При прогрессировании заболевания и накоплении опухолевых клеток в коже цитокиновый профиль смещается с Th1-фенотипа на Th2. Цитокины Th2-типа (IL4, IL5, IL10, IL13) повышают чувствительность к бактериальным инфекциям, способствуют развитию иммуносупрессии, появлению периферической эозинофилии и повышению сыровоточного уровня IgE, а также развитию эритродермии [19]. Выработка Th2 клетками цитокинов IL4 и IL13 подавляет экспрессию цитокинов Th1-типа и стимулирует пролиферацию злокачественных клеток [20].

При ТКЛК миграция опухолевых клеток в кожу регулируется экспрессией различных хемокиновых рецепторов, в том числе 4 (CCR4), 10 (CCR10), которые связываются с соответствующими лигандами на поверхности эндотелиальных клеток, кератиноцитов и клеток Лангерганса, облегчая миграцию Т-лимфоцитов в дерму и эпидермис. Установлено, что некоторые хемокиновые рецепторы (CCR5, CXCR3) экспрессируются преимущественно клетками Th1-типа или клетками Th2-типа (CCR3, CCR4, CCR8). При переходе от фенотипа Th1 к Th2-типу меняется и профиль экспрессируемых на опухолевых Т-лимфоцитах хемокиновых рецепторов [21]. На ранних стадиях ГМ кератиноциты и дермальные фибробласты экспрессируют хемокиновый лиганд 9/10 (CXCL9/CXCL10), индуцирующий хемотаксис CXCR3⁺ Т-клеток фенотипа Th1 [22]. На более поздних стадиях ГМ клетки Лангерганса и дермальные фибробласты экспрессируют хемокиновый лиганд 17 (CCL17), который индуцирует хемотаксис клеток CCR4⁺, а также CCR10⁺ Th2-фенотипа [21].

Увеличению притока лимфоцитов в очаги поражения при ГМ способствует IL1, синтезируемый эпидермальными клетками и схожий по своим свойствам с эпидермальным тимоподактивающим фактором,

являющимся ответственным за внутимусную дифференцировку Т-лимфоцитов. IL1 также способствует увеличению экспрессии на поверхности лимфоцитов рецептора к IL2 и синтеза IL2, являющегося фактором Т-клеточного роста [23]. Наряду с IL2 в качестве факторов роста Т-клеток выступают синтезированные кератиноцитами IL7 и IL15 [24].

Облегчению миграции Т-лимфоцитов из микроциркуляторного русла в дерму, а затем в эпидермис способствует кожный лимфоцит-ассоциированный антиген CLA (cutaneous lymphocyte antigen), экспрессируемый в большом количестве Т-клетками памяти, несущими на своей поверхности маркеры CD4⁺CD45RO⁺ и составляющими классический иммунофенотип опухолевых клеток при ГМ [25]. Переход Т-клеток памяти из кровеносных капилляров в дерму осуществляется путем связывания CLA с Е-селектином на поверхности клеток эндотелия сосудов [18, 24].

Помимо Th1-, Th2-фенотипов опухолевые клетки при ТКЛК могут иметь Th17-фенотип. Клетки с Th17-фенотипом продуцируют провоспалительный цитокин IL17 [26]. В последнее время появляются сообщения о том, что у больных ГМ наблюдается повышенная экспрессия 2 типов IL17: IL17A и IL17F. Известно, что увеличение уровня экспрессии IL17A и IL17F наблюдается у больных псориазом, однако ряд авторов указывает, что показатели уровня экспрессии IL17A и IL17F при ГМ выше по сравнению с таковыми при псориазе [27]. IL17A и IL17F — гомологичные провоспалительные цитокины, способствующие запуску множества биологических процессов. Эти цитокины способны стимулировать экспрессию TNF- α , IL1, IL6, IL-8, хемокинов (CCL2, 7, 20, CXCL1), фактора сосудистого роста (VEGF) и матричных металлопероксидаз. В работе T. Krejsgaard и соавт. (2013) отмечено увеличение уровня экспрессии IL17F в очагах поражения у больных ГМ в бляшечной стадии по сравнению с пятнистой, из чего следует, что повышенная экспрессия IL17F в очагах поражения может свидетельствовать о прогрессировании заболевания [27].

Следует отметить, что помимо Т-клеток памяти в патологический процесс при ГМ вовлечены Т-регуляторные лимфоциты (Т-рег), исследования содержания которых в коже у больных ГМ показали, что Т-рег составляют от 10 до 25 % всех лимфоидных клеток с тенденцией к уменьшению их содержания в коже по мере прогрессирования заболевания. В опухолевую стадию доля Т-рег составляет менее 10 % [28]. Т-рег лимфоциты могут влиять на CD4⁺, CD8⁺, натуральные киллеры и антигенпредставляющие клетки, подавляя их активность за счет индукции экспрессии IL2, IL10 TGF- β (трансформирующий фактор роста β) и других цитокинов, нарушающих нормальное функционирование иммунных клеток [29].

Известно, что Т-рег лимфоциты несут на своей поверхности маркеры CD25 и фактор транскрипции FOXP3 [30], играющего важную роль в биологии

Т-регуляторных клеток. Нарушение экспрессии гена *foxp3* приводит к формированию дефектных Т-регуляторных клеток, не способных выполнять функции по иммунному надзору [31]. Исследования J. Gjerdtum и соавт. (2007) выявили, что повышенное содержание FOXP3⁺ клеток в коже положительно коррелирует с выживаемостью больных ГМ [32]. Стимуляция экспрессии FOXP3 Т-рег клетками происходит при участии сигнальной системы STAT5 [33].

Нарушения регуляции экспрессии белков сигнальных систем и микро-РНК

STAT5 относится к внутриклеточной сигнальной системе STATs (signal transducers and activators of transcription — сигнальные передатчики и активаторы транскрипции), которая представляет собой семейство из 6 транскрибируемых факторов, фосфорилирующихся 1 из 4 рецепторсвязанных Янус-киназ (Jak), возникающих вследствие цитокиновой стимуляции. Эта сигнальная система играет центральную роль в процессе канцерогенеза [34].

Характерной чертой ТКЛК является то, что в опухолевых клетках наблюдается aberrantная активация белков Jak и сигнальных систем STAT [34, 35]. Установлено, что на ранних стадиях ГМ отмечается повышенная экспрессия маркера сигнальной системы STAT5, в то время как при прогрессировании заболевания экспрессируется STAT3 [36]. Оказывая негативное влияние на экспрессию цитокинов Th1-типа и предотвращая апоптоз, STAT3 опосредует пролиферацию и выживаемость опухолевых клеток [37].

Известно, что при развитии ТКЛК, как и при развитии многих других злокачественных новообразований, наблюдаются нарушения в регуляции экспрессии микро-РНК. В последнее время выделяют несколько микро-РНК (микро-РНК-155, микро-РНК-21, микро-РНК-22), уровень экспрессии которых может оказаться диагностически значимым признаком при дифференциальной диагностике между злокачественными и доброкачественными дерматозами [38]. В очагах поражения при ТКЛК была зафиксирована повышенная экспрессия микро-РНК-155 [39]. Предполагается, что микро-РНК-155, обладая проонкогенными свойствами, стимулирующими процесс пролиферации опухолевых клеток, служит «мостом» между доброкачественными воспалительными и онкопролиферативными процессами [39]. Известно, что экспрессия микро-РНК-155 регулируется путем активации сигнального пути STAT5 [40].

D. Iliopoulos и соавт. (2016) показали, что наряду с микро-РНК-155 в процессе переключения хронического воспалительного процесса на злокачественный опухолевый участвует микро-РНК-21 [41]. Микро-РНК-21 вовлечена во многие звенья патогенеза злокачественных опухолей, способствуя длительной пролиферации и нарушению апоптоза опухолевых клеток, а также усилению ангиогенеза и нарушению регуляции

цитокиновой экспрессии макрофагами и стромальными клетками [41]. В ходе исследований было обнаружено, что микро-РНК-21 обладает способностью поддерживать пролиферацию CD4⁺ Т-лимфоцитов [42]. М. Lise и соавт. (2016), изучая роль микро-РНК-21 в патогенезе ТКЛК, показали, что в очагах поражения при ТКЛК отмечается повышенная экспрессия микро-РНК-21, на которую влияет связывание IL2 и IL15 с рецептором IL-2Rg. IL2 и IL15 — ключевые факторы роста Т-клеток, экспрессия которых активируется через сигнальную систему STAT5 [41]. С учетом того, что опухолевые Т-клетки демонстрируют гиперэкспрессию IL2 и IL15, создаются условия для возможной стимуляции экспрессии микро-РНК-21 в неопухолевых клетках, несущих на своей поверхности рецептор IL-2Rg [43]. Предполагается, что микро-РНК-21 может способствовать так называемому паракринному перекрестному «диалогу» между кератиноцитами, опухолевыми и неопухолевыми иммунными клетками. Одновременная экспрессия микро-РНК-21 этими клетками усиливает опухолево-пролиферативную активность в пораженной коже, что наблюдается не только при ТКЛК, но и при других злокачественных новообразованиях [44].

В отличие от микро-РНК-155 и -21, микро-РНК-22 относят к опухолевым супрессорам. Известно, что при ТКЛК так же, как и при ряде других опухолей, наблюдается снижение экспрессии микро-РНК-22 [45].

Эпигенетические механизмы развития грибовидного микоза

Среди эпигенетических механизмов, вовлеченных в патогенез ГМ, выделяют изменения в соотношении между гистоновыми деацетилазами и ацетилазами, которые в норме поддерживают баланс между связанными и несвязанными с гистонами участками ДНК. Гистоны — ядерные белки, связывающиеся с ДНК и участвующие в эпигенетической регуляции ядерных процессов транскрипции, репарации и репликации. При ГМ наблюдается гиперэкспрессия деацетилазы гистонов (HDACs). Ингибирование HDACs приводит к увеличению доли ацетилированных гистонов в хроматине и является одним из важных механизмов подавления злокачественного роста [46]. Открытие роли гиперэкспрессии HDACs в патогенезе ТКЛК позволило создать ингибитор HDACs, который в настоящее время используют в качестве лекарственного препарата в лечении Т-клеточной лимфомы кожи [47].

Роль клеток микроокружения в развитии злокачественной пролиферации при грибовидном микозе

В последние годы растет число исследований, направленных на изучение взаимодействия между злокачественным клоном Т-лимфоцитов и клеток, окружающих его. Установлено, что Т-регуляторные клетки, дендритные клетки (ДК), макрофаги и тучные

клетки влияют на развитие неконтролируемой пролиферации опухолевых клеток, а также способствуют уклонению опухолевых клеток от иммунного надзора [9, 48].

В работе С.Л. Berger и соавт. (2002) отмечено, что рост опухолевых Т-клеток в течение длительного времени наблюдался в культурах, совместно культивированных с незрелыми ДК. Авторы также наблюдали, что пролиферация Т-клеток подавлялась при добавлении к культуре клеток антител к CD40 — поверхностному маркеру ДК. При изучении роли ДК в патогенезе ТКЛК было отмечено, что ИЛ10, вырабатываемый клетками Th2-типа, ингибирует созревание ДК за счет нарушения их антигенной нагрузки [49]. По данным И.Э. Белоусовой с соавт. (2013), у пациентов с ГМ наблюдается увеличение числа незрелых ДК по сравнению с больными мелкобляшечным параспориозом и здоровыми людьми [50].

Роль макрофагов в патогенезе ТКЛК мало изучена. М. Sugaya и соавт. (2012) наблюдали, что число тканевых макрофагов (CD163⁺) в очагах поражения при ТКЛК, атопическом дерматите и псориазе значительно выше, чем в здоровой коже. Также было отмечено, что экспрессия CD163⁺ и/или CD68⁺ (макрофаги и моноциты) при ТКЛК повышается одновременно с увеличением числа злокачественных клеток. Макрофаги разделяют на 2 класса: M1 и M2. M1-макрофаги способствуют продукции провоспалительных цитокинов Th1-типа, принимающих участие в противоопухолевой защите. M2-макрофаги, в большей степени экспрессирующие маркер CD163, стимулируют выработку цитокинов Th2-типа, которые обладают иммуносупрессивным эффектом [51]. Вместе со сменой фенотипа клеток Th1 на Th2-тип происходит смена макрофагов M1 на M2. Увеличению CD163⁺ клеток в коже при ГМ может способствовать выраженная экспрессия ИЛ32 [52].

В исследовании Н. Ohmatsu и соавт. (2014) было показано увеличение уровня экспрессии провоспалительного цитокина ИЛ32 в коже больных ГМ, источником которого, как предполагают авторы, могут быть опухолевые клетки. ИЛ32 способствует пролиферации и выживаемости опухолевых клеток при ГМ и среди многих изучаемых цитокинов уровень экспрессии матричной РНК ИЛ32 положительно коррелировал с прогрессированием заболевания [53]. При дальнейшем изучении ИЛ32 Н. Ohmatsu и соавт. (2017) установили, что экспрессия данного интерлейкина наблюдается не только в опухолевых клетках, но также в дендритных клетках CD1a⁺ и макрофагах CD163⁺, CD68⁺ в очагах поражения при ГМ [52].

ИЛ32 индуцирует экспрессию индоламина-2,3-диоксигеназы (ИДО) Т-клетками. ИДО — фермент, способный катаболизировать триптофан и создавать локальный дефицит этой незаменимой аминокислоты, что приводит к подавлению функций лимфоцитов, осуществляющих противоопухолевый иммунный

надзор [54]. Отмечено, что ИДО может влиять на экспрессию IL10 [55]. Высокая экспрессия IL10 в коже больных ГМ положительно коррелирует с экспрессией ИДО и IL32, из чего следует, что эта корреляция может потенциально нарушать противоопухолевый иммунный ответ при ГМ [52].

Генетические предикторы и другие механизмы развития грибовидного микоза

Использование цитогенетических методов исследования позволило открыть новые механизмы развития ГМ путем изучения экспрессии отдельных генов. Известно немало генетических дефектов, встречающихся при лимфопролиферативных заболеваниях, которые с течением времени накапливаются, изменяя структуру антигенных рецепторов пролиферирующих клеток. Злокачественная пролиферация Т-лимфоцитов непосредственно связана с реаранжировкой структур Т-клеточного рецептора (TCR). Более 90 % всех Т-клеток экспрессируют α/β TCR и примерно 5 % — γ/δ TCR. Однако именно γ/δ Т-лимфоциты играют важную роль в поддержании иммунологических функций эпидермального барьера и противоопухолевой защиты [56]. Атипичные лимфоциты с реаранжировкой TCR определяются у больных ГМ в коже, а затем, по мере прогрессирования заболевания, — в крови и лимфатических узлах [38].

Помимо белков сигнальной системы STATs в настоящее время активно изучается роль транскрипционного фактора NF- κ B. Активированный NF- κ B способен стимулировать экспрессию более 200 генов, вовлеченных в реализацию многочисленных клеточных функций. Известно, что белки семейства NF- κ B принимают участие в развитии некоторых злокачественных опухолей кроветворной ткани, например Т-клеточной лимфомы взрослых. При изучении роли NF- κ B в патогенезе ГМ установлено, что активация этого фактора транскрипции способствует устойчивости опухолевых клеток к апоптозу. Механизм действия, благодаря которому NF- κ B влияет на выживаемость злокачественного клона Т-лимфоцитов, остается неизученным. S. Marloes и соавт. (2012) обнаружили, что экспрессия гена NFKBIZ, регулирующего активность экспрессии NF- κ B, снижена при ГМ, что приводит к гиперактивации транскрипционного фактора [57]. При изучении NF- κ B отмечено, что совместная повышенная экспрессия NF- κ B и STAT3 участвует в формировании резистентности к терапии IFN- α , химиотерапии и другим методам лечения [58].

В процессе изучения экспрессии различных генов при ГМ выявлены 2 гена — *TOX* и *PDCD1*, уровень экспрессии которых в очагах поражения при ГМ

существенно отличался от такового при доброкачественных дерматозах. Кроме того, *TOX* показал высокую специфичность при окрашивании опухолевых CD4⁺ клеток при иммуногистохимическом исследовании даже на самых ранних стадиях ГМ [59, 60]. *TOX* — малый ДНК-связывающий протеин, регулирующий процесс развития Т-лимфоцитов CD4⁺ в тимусе. В норме при завершении процесса дифференцировки CD4⁺ лимфоцитов экспрессия белка *TOX* в этих клетках подавляется еще до выхода их из тимуса [59]. Как показывают результаты исследований, Т-лимфоциты в очагах поражения при ГМ показывают aberrantную экспрессию белка *TOX*. Остается неясным, возобновляется ли экспрессия белка *TOX* в опухолевых Т-клетках при ГМ повторно, или же экспрессия этого белка не прекращается после выхода Т-клеток из тимуса [59].

Заключение

Активация различных иммунных процессов, а также наличие множества хромосомных aberrаций приводит к неконтролируемой пролиферации трансформированных Т-лимфоцитов. Основная роль в развитии ГМ обусловлена активацией JAK-STAT пути клеточной передачи сигнала. На ранних стадиях ГМ наблюдается повышение экспрессии белка сигнальной системы STAT5, управляющего уровнем онкогенных микро-РНК-21 и микро-РНК-155. Увеличение уровня активного STAT3, наблюдаемое на поздних стадиях ГМ, регулирует выработку IL-17, а также подавляет экспрессию опухолевой супрессорной микро-РНК-22. В ходе развития ГМ происходит изменение уровня экспрессии и других генов, в основном связанных с воспалительным процессом и апоптозом, а также деацетилазы гистонов HDAC. Стадию развития ГМ можно оценивать по уровню экспрессии гена *TOX*, уровень которого в несколько раз выше, чем при воспалительных дерматозах, и еще более высок на терминальной стадии ГМ.

Таким образом, патогенез ГМ сложен и остается до конца не изученным. Молекулярно-генетическая гетерогенность патологического процесса, возникающего в связи с развитием ГМ, складывается из индивидуальных генетических характеристик, определяющих предрасположенность иммунного ответа на воздействие факторов внешней среды, а также эпигенетической и апоптоза. Изучение индивидуальных особенностей экспрессии генов и микро-РНК при помощи молекулярной диагностики, а также дальнейший поиск новых предикторов развития заболевания помогут существенно улучшить диагностику и прогностическую оценку течения ГМ, а также откроют перспективу для создания персонализированной терапии.

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

1. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. Под ред. проф. И.В. Поддубной, проф. В.Г. Савченко. М.: Буки Веди, 2016. [Russian clinical guidelines for the diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases. Eds.: prof. Poddubnaya I.V., prof. Savchenko V.G. Moscow: Buki Vedi, 2016 (In Russ.).]
2. Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем. 5-е изд., перераб. и доп. М.: Деловой экспресс, 2016. [Federal clinical guidelines. Dermatology 2015: Skin diseases. Sexually transmitted infections – 5th ed., revised. Moscow: Delovoy express, 2016; 786 p. (In Russ.).]
3. Виноградова Ю.Е., Зингерман Б.В. Нозологические формы и выживаемость пациентов с Т- и НК-клеточными лимфатическими опухолями, наблюдающихся в ГНЦ в течение 10 лет. Клиническая онкогематология 2011;4(3):201–12. [Vinogradova Yu.E., Zingerman B.V. Nosology and survival of patients with T- and NK-cell tumors, observed in the HRC during 10 years. *Klinicheskaya onkogematologiya* = *Clinical oncohematology* 2011;4(3): 201–12 (In Russ.).]
4. Criscione V.D., Weinstock M.A. Incidence of cutaneous T-cell lymphoma in the United States, 1973–2002. *Arch Dermatol* 2007;143(7):854–9. DOI: 10.1001/archderm.143.7.854. PMID: 17638728.
5. Morales Suárez-Varela M.M., Llopis González A., Marquina Vila A. et al. Mycosis fungoides: review of epidemiological observations. *Dermatology* 2000; 201(1):21–8. DOI: 10.1159/000018423. PMID: 10971054.
6. Talpur R., Bassett R., Duvic M. Prevalence and treatment of *Staphylococcus aureus* colonization in patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Br J Dermatol* 2008;159(1):105–12. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2008.08612.x. PMID: 18489588.
7. De Francesco M.A., Gardiulo F., Estaban P. Polymorphism analysis of Epstein-Barr virus isolates of lymphoblastoid cell lines from patient with mycosis fungoides. *J Med Microbiol* 2004;53(Pt 5):381–7. DOI: 10.1099/jmm.0.05439-0. PMID: 15096546.
8. Rodriguez-Gil Y., Palencia S.I., Lopez-Rios F. et al. Mycosis fungoides after solid-organ transplantation: report of 2 new cases. *Am J Dermatopathol* 2008; 30(2):150–5. DOI: 10.1097/DAD.0b013e318164cf6e. PMID: 18360119.
9. Jawed S.I., Myskowski P.L., Horwitz S. et al. Primary cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome): part I. Diagnosis: clinical and histopathologic features and new molecular and biologic markers. *J Am Acad Dermatol* 2014;70(2):205.e1–e16. DOI: 10.1016/j.jaad.2013.07.049. PMID: 24438969.
10. Бабиченко И.И., Ковязин В.А. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста. Учеб. пособие. М.: РУДН, 2008. [Babichenko I.I., Kovjazin V.A. New methods of immunohistochemical diagnosis of tumor growth. Textbook. Moscow: RUDN, 2008 (In Russ.).]
11. Petersen D.L., Krejsgaard T., Berthelsen J. et al. B-lymphoid tyrosine kinase (Blk) is an oncogene and a potential target for therapy with dasatinib in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *Leukemia* 2014;28(10):2109–12. DOI: 10.1038/leu.2014.192. PMID: 24919804.
12. Krejsgaard T., Vetter-Kauczok C.S., Woetmann A. et al. Ectopic expression of B-lymphoid kinase in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2009;113(23):5896–904. DOI: 10.1182/blood-2008-09-181024. PMID: 19351960.
13. Жуков А.С., Белоусова И.Э., Самцов А.В. Иммунологические и молекулярно-генетические механизмы развития грибовидного микоза. Вестник дерматологии и венерологии 2015;91(4): 42–50. [Zhukov A.S., Belousova I.E., Samtsov A.V. Immunological and molecular genetic mechanisms of the development of mycosis fungoides. *Vestnik dermatologii i venerologii* = *Journal of Dermatology and Venereology* 2015;91(4):42–50 (In Russ.).] DOI: 10.25208/0042-4609-2015-0-4-42-50.
14. Wu J., Wood G.S. Reduction of Fas/CD95 promoter methylation, upregulation of Fas protein, and enhancement of sensitivity to apoptosis in cutaneous T-Cell lymphoma. *Arch Dermatol* 2011;147(4):443–9. DOI: 10.1001/archdermatol.2010.376. PMID: 21173302.
15. Bagot M., Echchakir H., Mami-Chouaib F. et al. Isolation of tumor-specific cytotoxic CD4+ and CD4+CD8dim+ T-cell clones infiltrating a cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 1998;91(11):4331–41. PMID: 9596682.
16. Asadullah K., Friedrich M., Docke W.D. et al. Enhanced expression of T-cell activation and natural killer cell antigens indicates systemic anti-tumor response in early primary cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 1997;108(5):743–7. PMID: 9129226.
17. Olsen E.A., Whittaker S., Kim Y.H. et al. Clinical end points and response criteria in mycosis fungoides and Sézary syndrome: a consensus statement of the International Society for Cutaneous Lymphomas, the United States Cutaneous Lymphoma Consortium, and the Cutaneous Lymphoma Task Force of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer. *J Clin Oncol* 2011;29(18):2598–607. DOI: 10.1200/JCO.2010.32.0630. PMID: 21576639.
18. Matutes E. The 2017 WHO update on mature T- and natural killer (NK) cell neoplasms. *Int J Lab Hematol* 2018;40(1):97–103. DOI: 10.1111/ijlh.12817. PMID: 29741263.
19. Guenova E., Watanabe R., Teague J.E. et al. TH2 cytokines from malignant cells suppress TH1 responses and enforce a global TH2 bias in leukemic cutaneous T-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2013;19(14):3755–63. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3488. PMID: 23785046.
20. Wolk K., Mitsui H., Witte K. et al. Deficient cutaneous antibacterial competence in cutaneous T-cell lymphomas: role of Th2-mediated biased Th17 function. *Clin Cancer Res* 2014;20(21):5507–16. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0707. PMID: 25212608.
21. Yagi H., Seo N., Ohshima A. et al. Chemokine receptor expression in cutaneous T cell and NK/T-cell lymphomas: immunohistochemical staining and in vitro chemotactic assay. *Am J Surg Pathol* 2006;30(9):1111–9. DOI: 10.1097/01.pas.0000213267.92349.59. PMID: 16931956.
22. Lu D., Duvic M., Medeiros L.J. et al. The T-cell chemokine receptor CXCR3 is expressed highly in low-grade mycosis fungoides. *Am J Clin Pathol* 2001;115(3):413–21. DOI: 10.1309/3N7P-J84L-JQ9K-G89R. PMID: 11242798.
23. Helfand S.C., Jaim F., Modiano P.F. et al. Functional Interleukin-2 receptors are expressed on natural killer-like leukemic cells from a dog with cutaneous lymphoma. *Blood* 1995;86(2):636–45. PMID: 7605993.
24. Dummer R., Willers J., Kamarashev J. et al. Pathogenesis of cutaneous lymphomas. *Semin Cutan Med Surg* 2000;19(2):78–86. PMID: 10892708.
25. Kelemen K., White C.R., Gatter K. et al. Immunophenotypic correlation between skin biopsy and peripheral blood findings in mycosis fungoides. *Am J Clin Pathol* 2010;134(5):739–48. DOI: 10.1309/AJC-P7LRLK8SLUGE. PMID: 20959657.
26. Krejsgaard T., Ralfkiaer U., Clasen-Linde E. et al. Malignant cutaneous T-cell lymphoma cells express IL-17 utilizing the Jak3/Stat3 signaling pathway. *J Invest Dermatol* 2011;131(6):1331–8. DOI: 10.1038/jid.2011.27. PMID: 21346774.
27. Krejsgaard T., Litvinov I.V., Wang Y. et al. Elucidating the role of interleukin-17F in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2013;122(6):943–50. DOI: 10.1182/blood-2013-01-480889. PMID: 23801634.
28. Gjerdrum L.M., Woetmann A., Odum N. et al. FOXP3+ regulatory T cells in cutaneous T-cell lymphomas: association with

- disease stage and survival. *Leukemia* 2007;21(12):2512–8. DOI: 10.1038/sj.leu.2404913. PMID: 17713545.
29. Shevach E.M. Mechanisms of foxp3+ T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity* 2009;30(5):636–45. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.04.010. PMID: 19464986.
 30. Roncador G., Brown P.J., Maestre L. et al. Analysis of FOXP3 protein expression in human CD4+CD25+ regulatory T cells at the single-cell level. *Eur J Immunol* 2005;35(6):1681–91. DOI: 10.1002/eji.200526189. PMID: 15902688.
 31. Bacchetta R., Passerini L., Gambineri E. et al. Defective regulatory and effector T cell functions in patients with FOXP3 mutations. *J Clin Invest* 2006; 116(6):1713–22. DOI: 10.1172/JCI25112. PMID: 16741580.
 32. Жуков А.С., Белоусова И.Э., Самцов А.В. FOXP3+ Т-лимфоциты в патогенезе грибкового микоза. *Вестник дерматологии и венерологии* 2014;90(5):68–72. [Zhukov A.S., Belousova I.E., Samtsov A.V. Foxp3+ T-lymphocytes in the pathogenesis of mycosis fungoides. *Vestnik dermatologii i venerologii* = *Journal of Dermatology and Venereology* 2014;90(5):68–72 (In Russ.)]. DOI: 10.25208/0042-4609-2014-0-5-68-72.
 33. Kasprzycka M., Zhang Q., Witkiewicz A. et al. Gamma c-signaling cytokines induce a regulatory T cell phenotype in malignant CD4+ T lymphocytes. *J Immunol* 2008;181(4):2506–12. PMID: 18684941.
 34. Sommer V.H., Clemmensen O.J., Nielsen O. et al. In vivo activation of STAT3 in cutaneous T-cell lymphoma. Evidence for an antiapoptotic function of STAT3. *Leukemia* 2004;18(7):1288–95. DOI: 10.1038/sj.leu.2403385. PMID: 15141228.
 35. Krejsgaard T., Vetter-Kauczok C.S., Woetmann A. et al. Jak3- and JNK-dependent vascular endothelial growth factor expression in cutaneous T-cell lymphoma. *Leukemia* 2006;20(10):1759–66. DOI: 10.1038/sj.leu.2404350. PMID: 16932349.
 36. Netchiporouk E., Litvinov I.V., Moreau L. et al. Deregulation in STAT signaling is important for cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) pathogenesis and cancer progression. *Cell Cycle* 2014;13(21):3331–5. DOI: 10.4161/15384101.2014.965061. PMID: 25485578.
 37. Brender C., Nielsen M., Kaltoft K. et al. STAT3-mediated constitutive expression of SOCS-3 in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2001;97(4):1056–62. PMID: 11159537.
 38. Ralfkiaer U., Hagedorn P.H., Bangsgaard N. et al. Diagnostic microRNA profiling in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *Blood* 2011;118(22):5891–900. DOI: 10.1182/blood-2011-06-358382. PMID: 21865341.
 39. Moyal L., Barzilai A., Gorovitz B. et al. miR-155 is involved in tumor progression of mycosis fungoides. *Exp Dermatol* 2013;22(6):431–3. DOI: 10.1111/exd.12161. PMID: 23711069.
 40. Kopp K.L., Ralfkiaer U., Gjerdrum L.M. et al. STAT5-mediated expression of oncogenic miR-155 in cutaneous T-cell lymphoma. *Cell Cycle* 2013;12(12):1939–47. DOI: 10.4161/cc.24987. PMID: 23676217.
 41. Lindahl L.M., Fredholm S., Joseph C. et al. STAT5 induces miR-21 expression in cutaneous T cell lymphoma. *Oncotarget* 2016;7(29):730–44. DOI: 10.18632/oncotarget.10160. PMID: 27329723.
 42. Smigielska-Czepiel K., van den Berg A., Jellema P. et al. Dual role of miR-21 in CD4+ T-cells: activation-induced miR-21 supports survival of memory T-cells and regulates CCR7 expression in naive T-cells. *PloS One* 2013;8(10):e76217. DOI: 10.1371/journal.pone.0076217. PMID: 24098447.
 43. Willerslev-Olsen A., Litvinov I.V., Fredholm S.M. et al. IL-15 and IL-17F are differentially regulated and expressed in mycosis fungoides (MF). *Cell Cycle* 2014; 13(8):1306–12. DOI: 10.4161/cc.28256. PMID: 24621498.
 44. Nielsen B.S., Jorgensen S., Fog J.U. et al. High levels of microRNA-21 in the stroma of colorectal cancers predict short disease-free survival in stage II colon cancer patients. *Clin Exp Metastasis* 2011;28(1):27–38. DOI: 10.1007/s10585-010-9355-7. PMID: 21069438.
 45. Li B., Song Y., Liu T.J. et al. miRNA-22 suppresses colon cancer cell migration and invasion by inhibiting the expression of T-cell lymphoma invasion and metastasis 1 and matrix metalloproteinases 2 and 9. *Oncol Rep* 2013;29(5):1932–8. DOI: 10.3892/or.2013.2300. PMID: 23440286.
 46. Richon V.M. Cancer biology: mechanism of antitumor action of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid), a novel histone deacetylase inhibitor. *Br J Cancer* 2006;95(1):S2–S6. DOI: 10.1186/1756-8722-2-31.
 47. Tracey L., Villuendas R., Dotor A.M. et al. Mycosis fungoides shows concurrent deregulation of multiple genes involved in the TNF signaling pathway: an expression profile study. *Blood* 2003;102(3):1042–50. DOI: 10.1182/blood-2002-11-3574. PMID: 12689942.
 48. Chen F., Zhuang X., Lin L. et al. New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities. *BMC Med* 2015;13:45. DOI: 10.1186/s12916-015-0278-7. PMID: 25857315.
 49. Meissner K., Loning T., Rehpenning W. Epidermal Langerhans cells and prognosis of patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome. *In Vivo* 1993;7(3):277–80. PMID: 8357970.
 50. Жуков А.С., Белоусова И.Э., Хайрутдинов В.Р., Самцов А.В. Роль лангеринпозитивных и CD83+ клеток в патогенезе грибкового микоза. *Вестник дерматологии и венерологии* 2013;89(4):38–43. [Zhukov A.S., Belousova I.E., Khairutdinov V.R., Samtsov A.V. The role of langerin-positive and CD83+ cells in the pathogenesis of mycosis fungoides. *Vestnik dermatologii i venerologii* = *Journal of Dermatology and Venereology* 2013; 89(4):38–43 (In Russ.)].
 51. Biswas S.K., Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol* 2010;11(10):889–96. DOI: 10.1038/ni.1937. PMID: 20856220.
 52. Ohmatsua H., Hummeh D., Gonzalez J. IL-32 induces indoleamine 2,3-dioxygenase CCD1c dendritic cells and indoleamine 2,3-dioxygenase CCD163C macrophages: Relevance to mycosis fungoides progression. *Oncoimmunology* 2017;6(2):e118237. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1181237. PMID: 28344860.
 53. Ohmatsu H., Humme D., Gulati N. et al. IL32 is progressively expressed in mycosis fungoides independent of helper T-cell 2 and helper T-cell 9 polarization. *Cancer Immunol Res* 2014;2(9):890–900. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0199-T. PMID: 24938282.
 54. Stone T.W., Darlington L.G. Endogenous kynurenines as targets for drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov* 2002;1(8):609–20. DOI: 10.1038/nrd870. PMID: 12402501.
 55. Asadullah K., Docke W.D., Haeussler A. et al. Progression of mycosis fungoides is associated with increasing cutaneous expression of interleukin-10 mRNA. *J Invest Dermatol* 1996;107(6):833–7. PMID: 8941670.
 56. Assaf C., Hummel M., Steinhoff M. et al. Early TCR-beta et TCR-gamma PCR detection of T-cell clonality indicates minimal tumor disease in lymph nodes of Cutaneous T-cell lymphoma: diagnostic and prognostic implications. *Blood* 2005;105(2):503–10. DOI: 10.1182/blood-2004-06-2220. PMID: 15459015.
 57. van Kester M.S., Borg M.K., Zoutman W.H. et al. A Meta-Analysis of Gene Expression Data Identifies a Molecular Signature Characteristic for Tumor-Stage Mycosis Fungoides. *J Invest Dermatol* 2012;132(8):2050–9. DOI: 10.1038/jid.2012.117. PMID: 22513784.
 58. Sors A., Jean-Louis F., Pellet C. et al. Down-regulating constitutive activation of the NF-kappaB canonical pathway overcomes the resistance of cutaneous T-cell lymphoma to apoptosis. *Blood* 2006;107(6):2354–63. DOI: 10.1182/blood-2005-06-2536. PMID: 16219794.
 59. Zhang Y., Wang Y., Yu R. et al. Molecular Markers of Early-Stage Mycosis Fungoides. *J Invest Dermatol* 2012;132(6):1698–1706. DOI: 10.1038/jid.2012.13. PMID: 22377759.
 60. Morimura S., Sugaya M., Suga H. et al. TOX expression in different subtypes of cutaneous lymphoma. *Arch Dermatol Res* 2014;306(9):843–9. DOI: 10.1007/s00403-014-1501-7. PMID: 25216799.

Вклад авторов

А.Э. Карамова: концепция, окончательное одобрение рукописи;
Л.Ф. Знаменская: концепция, дизайн, участие в написании статьи;
А.А. Воронцова: написание статьи, сбор и анализ данных литературы.

Authors' contributions

A.E. Karamova: concept, final approval of the article;
L.F. Znamenskaya: concept, design and article writing;
A.A. Vorontsova: article writing, collection and analysis of literature data.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.Э. Карамова / A.E. Karamova: <http://orcid.org/0000-0003-3805-8489>
Л.Ф. Знаменская / L.F. Znamenskaya: <http://orcid.org/0000-0002-2553-0484>
А.А. Воронцова / A.A. Vorontsova: <http://orcid.org/0000-0002-3129-0050>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Подходы к профилактике и терапии ибрутиниба-ассоциированных кровотечений у взрослых пациентов

Е.В. Волчков¹, П.А. Жарков¹, М.А. Пантелеев^{1, 2, 3}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, д. 1;

²Московский физико-технический институт (государственный университет), факультет биологической и медицинской физики; Россия, 141700 Долгопрудный, Институтский пер., 9;

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; Россия, 119991 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2

Контакты: Егор Васильевич Волчков volchcov.egor@yandex.ru

Ибрутиниб, необратимый ингибитор тирозинкиназы Брутона (Btk), — высокоэффективный препарат для лечения ряда В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний и, с недавних пор, реакции «трансплантат против хозяина». Однако при данной терапии возможно возникновение ряда потенциально опасных осложнений, отчасти связанных с неселективным механизмом действия препарата. Так, терапия ибрутинибом существенно повышает риски геморрагических осложнений по сравнению со стандартной химиотерапией, особенно при сочетании с дезагрегантной или антикоагулянтной терапией, что обуславливает необходимость разработки клинических рекомендаций с учетом индивидуальных рисков по профилактике и терапии геморрагических осложнений у пациентов, получающих ибрутиниб. В настоящее время количество данных о совместном применении ибрутиниба с дезагрегантной или антикоагулянтной терапией ограничено, в связи с чем рекомендуется рассмотреть возможность альтернативной терапии у пациентов с высоким кардиоваскулярным риском или снижения доз дезагрегантной или антикоагулянтной терапии, если отмена или альтернативная терапия ибрутинибом невозможна. При этом, с учетом антитромбоцитарных эффектов неселективного ингибитора Btk, возможна модификация дезагрегантной терапии у пациентов с низким кардиоваскулярным риском. В данном обзоре суммированы имеющиеся данные по механизмам развития кровотечения и предлагаемым стратегиям по снижению рисков и купированию геморрагических осложнений терапии ибрутинибом.

Ключевые слова: ибрутиниб, кровотечение, тромбоциты, антикоагулянтная терапия, дезагрегантная терапия

Для цитирования: Волчков Е.В., Жарков П.А., Пантелеев М.А. Подходы к профилактике и терапии ибрутиниба-ассоциированных кровотечений у взрослых пациентов. Онкогематология 2018;13(3):47–54

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-47-54

Approaches to the prevention and therapy of ibrutinib-associated bleeding in adult patients

E.V. Volchkov¹, P.A. Zharkov¹, M.A. Panteleev^{1, 2, 3}

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow 117198, Russia;

²Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Faculty of Biological and Medical Physics; 9 Institutskiy Per., Dolgoprudnyi 141700, Russia;

³Lomonosov Moscow State University; 1, bldg 2 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia

Ibrutinib, an irreversible Bruton tyrosine kinase inhibitor (Btk), is a highly effective drug for treatment a number of B-cell lymphoproliferative disorders and, more recently, graft-versus-host disease. However, a number of potentially adverse events are possible in this therapy, partly related to the non-selective mechanism of the drug's action. Thus, ibrutinib therapy significantly increases the risks of hemorrhagic complications compared to standard chemotherapy, especially when combined with a disaggregant or anticoagulant therapy, which necessitates the development of clinical recommendations taking into account individual risks for the prevention and treatment of bleeding complications in patients receiving ibrutinib. There is currently an amount of data on the combined use of ibrutinib with disaggregant or anticoagulant therapy is limited, and it is therefore recommended that alternative therapy be considered in patients with a high cardiovascular risk or a reduction in the doses of disaggregant or anticoagulant drugs if abrogation or alternative therapy with ibrutinib is not possible. Also taking into account the antiplatelet effects of a non-selective Btk inhibitor, a modification of the disaggregant therapy in patients with low cardiovascular risk is possible. This review is summarized available data on mechanisms of bleeding development and proposed strategies for reducing risks and treating hemorrhagic complications of therapy with ibrutinib.

Key words: ibrutinib, bleeding, platelets, anticoagulant therapy, disaggregant therapy

For citation: Volchkov E.V., Zharkov P.A., Panteleev M.A. Approaches to the prevention and therapy of ibrutinib-associated bleeding in adult patients. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(3):47–54

Введение

Ингибитор тирозинкиназы Брутона (Btk) ибрутиниб применяется для лечения хронического лимфолейкоза/лимфомы из малых лимфоцитов (ХЛЛ), лимфомы из зоны мантии [1], макроглобулинемии Вальденстрема [2], лимфомы маргинальной зоны [3] и терапии реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [4]. Что касается самой частой из этих патологий — ХЛЛ, частота которого по данным регистра SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results) составляет 4,4 случая на 100 тыс. населения (данные за 2015 г.) [5], применение ибрутиниба существенно изменило прогноз и тактику терапии данного заболевания, особенно у пациентов группы высокого риска и пациентов, в основном пожилых, у которых не может применяться стандартная схема терапии — FCR (флударабин, циклофосфан, ритуксимаб) [6, 7]. Так, по данным исследования CLL08, если медиана общей выживаемости (ОВ) пациентов с делецией 17p составляла 11,2 мес [6], то при приеме ибрутиниба в исследовании II фазы ОВ по истечении 2 лет терапии составляла уже 84 % [8]. Однако, как у любого метода терапии, при применении ибрутиниба существуют риски побочных реакций. По данным исследования HELIOS, у группы пациентов, получавших ибрутиниб, была достоверно выше частота диарейного синдрома, тромбоцитопении, анемии и кровотечений [9]. Похожие данные были показаны в другом исследовании III фазы — RESONATE-2, по результатам которого терапия ибрутинибом чаще ассоциировалась с тромбоцитопенией, анемией, нарушением сердечного ритма и кровотечениями [7].

Пациенты после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), у которых развилась стероид-рефрактерная РТПХ, также могут быть кандидатами на терапию ибрутинибом. Хотя тяжелые кровотечения у подобной группы пациентов не являются частым явлением [10] (это может быть связано с небольшим количеством пациентов, включенных в исследования), вероятность таких осложнений весьма высока, если учитывать опыт применения ибрутиниба у пациентов с лимфомами.

Таким образом, несмотря на доказанную эффективность, вопрос о побочных явлениях при использовании ибрутиниба становится все более актуальным. Существенно увеличивается риск кровотечений, очевидно связанный с воздействием препарата на тромбоцитарное звено гемостаза. Данный эффект терапии ингибитором Btk говорит о необходимости разработки рекомендаций по ведению таких пациентов с учетом рисков геморрагических осложнений, особенно при сочетании терапии ибрутинибом с антикоагулянтной или дезагрегантной терапией, при том, что, как правило, пациенты с ХЛЛ старше 40 лет [5] могут иметь сопутствующую патологию, требующую назначения дезагрегантной или антикоагулянтной терапии, которая также сопряжена с риском геморрагических

осложнений. К тому же другим общеизвестным осложнением терапии ингибитором Btk является фибрилляция предсердий (ФП), при развитии которой часто необходима антитромботическая профилактика [11]. В данном обзоре будут рассмотрены практические вопросы, касающиеся рисков кровотечений при терапии ибрутинибом как в монотерапии, так и в сочетании с дезагрегантной или антикоагулянтной терапией, а также общих подходов к терапии данных осложнений.

Частота геморрагических осложнений

Частота геморрагических осложнений при приеме ибрутиниба по данным различных авторов существенно различается. Так, в крупном анализе F. Caron и соавт. показали, что частота геморрагических осложнений колеблется в широком диапазоне от 1 до 86 на 100 пациентов в год и в среднем составляет 20,8 на 100 пациентов в год. Частота эпизодов тяжелых кровотечений (согласно общей номенклатуре побочных эффектов 4.0 (CTCAE)) при терапии ибрутинибом в среднем составляет 2,76 на 100 пациентов в год [12]. Летальные исходы вследствие тяжелых кровотечений нечасты и составляют менее 1 % по данным исследования HELIOS [9].

Большинство кровотечений являются нетяжелыми и по фенотипу относятся к подкожным кровоизлияниям или кровоизлияниям в слизистые оболочки (петехии, экхимозы, носовые кровотечения). Также возможна гематурия. В тяжелых случаях описаны субдуральные гематомы и субарахноидальные кровоизлияния [13, 14]. Определенную опасность также создают инвазивные процедуры у пациентов, получающих ибрутиниб. Осложнения могут быть достаточно серьезными и даже приводить к летальному исходу [15], в связи с чем в ряде клиник существуют рекомендации по отмене ибрутиниба за 3 дня перед небольшим и за 7 дней перед большим хирургическим вмешательством с продолжением терапии спустя 1–3 дня после операции [16].

Другой проблемой терапии ибрутинибом в контексте геморрагических осложнений является его совместное использование с антикоагулянтной или антитромбоцитарной терапией. В первых клинических исследованиях применения ибрутиниба не проводили селекцию пациентов в зависимости от применяемой антикоагулянтной терапии. В результате было показано, что совместное назначение ингибитора Btk и варфарина может привести к жизнеугрожающим кровотечениям (субдуральные гематомы) у пациентов, которые требуют либо отмены ибрутиниба, либо замены антикоагулянтной терапии [17]. Однако нет противопоказаний по использованию ибрутиниба с другими антикоагулянтами или антитромбоцитарной терапией. При этом в 1 исследовании показано увеличение эпизодов кровотечения при совместном использовании ибрутиниба с дезагрегантной или антикоагулянтной терапией [13].

не влечет за собой тяжелого нарушения функции тромбоцитов. Это подтверждается еще и тем, что у пациентов с X-сцепленной агаммаглобулинемией, при которой функциональная активность Btk сильно снижена, риски кровотечений минимальны [27]. Однако на мышинных моделях дефицит Btk приводит к некоторому увеличению времени генерации тромба в ответ на повреждение каротидной артерии [26]. Это объясняется тем, что другая тирозинкиназа Tec (Tyrosine kinase expressed in hepatocellular carcinoma) отчасти дублирует функцию Btk [28]. Это подтверждают и собственные наблюдения педиатрических пациентов с X-сцепленной агаммаглобулинемией, у которых дефицит Btk на системе гемостаза проявляется лишь в незначительном увеличении длительности кровотечений и изменениях в функциональных тестах. Поэтому считается, что в генезе кровоточивости при терапии ибрутинибом также играет роль ингибирование Tec, структурно похожей на Btk, которая также вовлечена в передачу сигнала от тромбоцитарных рецепторов GPVI и CLEC-2 в ответ на стимуляцию коллагеном [29]. В функциональных тестах это проявляется в подавлении коллаген-опосредованной агрегации тромбоцитов при сохранной агрегации в ответ на стимуляцию аденозиндифосфатом [16]. Примечательно, что при использовании акабрутиниба, селективного ингибитора Btk, функция тромбоцитов нарушается в значительно меньшей степени и не приводит к существенному увеличению риска геморрагических осложнений [30]. Причем, как показывает исследование с акабрутинибом, функция тромбоцитов может быть частично восстановлена путем увеличения концентрации фактора Виллебранда и добавления фактора VIII, что объясняется тем, что Btk также участвует в передаче сигнала от GPIb-V-IX, который может взаимодействовать с коллагеном через фактор Виллебранда [22, 23]. Таким образом, с учетом описанных антитромбоцитарных эффектов ибрутиниба в ряде работ предлагается мониторировать опосредованную ристоцитином и коллагеном агрегацию тромбоцитов для выявления пациентов с высоким риском геморрагических осложнений [16, 31]. Однако выводы, полученные в данных работах, могут быть следствием совокупности ряда факторов, а не только влиянием ибрутиниба. Так, в одной работе было показано, что терапия ибрутинибом не влияет на ристоцитин-опосредованную агрегацию тромбоцитов. При этом агрегация с коллагеном ожидаемо оказалась снижена [32]. Принципиальным отличием данной работы от остальных было то, что в качестве тестируемого материала использовалась богатая тромбоцитами плазма (PRP) пациентов с ХЛЛ, а не цельная кровь, и, таким образом, было исключено влияние опухолевых клеток на полученные данные. Влияние опухолевых клеток на функциональную активность тромбоцитов подтверждается тем фактом, что опухолевые клетки ХЛЛ экспрессируют на своей поверхности

эктонуклеотидазу (CD39/NTDPase-1), которая способна влиять на метаболизм тромбоцитов, изменяя баланс аденозиндифосфата и аденозинмонофосфата. Как показывают исследования, у пациентов с ХЛЛ, преимущественно на ранних стадиях, может быть повышена активность CD39, что коррелирует со способностью тромбоцитов к агрегации в ответ на стимуляцию аденозиндифосфатом при добавлении к PRP клеток ХЛЛ [33]. Важно отметить, что экспрессия CD39 снижалась у пациентов с продвинутыми стадиями заболевания, в частности у тех, кто получил специфическую терапию [33]. Это подтверждается и клинически. Так, в одном исследовании было показано, что большинство геморрагических эпизодов у пациентов с ХЛЛ наблюдается в первые месяцы терапии. При этом риски геморрагических осложнений уменьшаются со временем [34]. Примечательно, что у ряда пациентов с ХЛЛ функция тромбоцитов, по данным исследования функциональной активности тромбоцитов, была нарушена еще до начала терапии ибрутинибом. Добавление ибрутиниба нарушало агрегацию тромбоцитов с коллагеном, в то время как остальные показатели не отличались от исходных. В клинической картине это выражалось двукратным увеличением частоты геморрагических эпизодов после начала терапии ибрутинибом. При этом, как уже было сказано, большинство геморрагических эпизодов наблюдалось в первые месяцы терапии [34]. Таким образом, в генезе геморрагических осложнений играет роль не столько терапия ибрутинибом, сколько сочетанное воздействие на систему гемостаза основного заболевания, терапии ибрутинибом и сопутствующей терапии, что отчасти объясняет низкую частоту геморрагических эпизодов, по сравнению с ХЛЛ, у пациентов, получающих ибрутиниб в качестве терапии РТПХ после ТКСК [10].

Рекомендации по использованию ибрутиниба с антитромбоцитарной терапией

Как показывают клинические исследования, двойная антиагрегантная терапия (ДАТ) повышает риск кровотечений на 50 % по сравнению с монотерапией ацетилсалициловой кислотой [35]. Таким образом, дополнительное использование ибрутиниба увеличит риски геморрагических осложнений при сочетании с ДАТ. С учетом этого факта не рекомендовано рутинное назначение, а тем более нецелое использование нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), витамина Е, если риски тромбоцитарных осложнений минимальны. В случае необходимости терапии НПВС при наличии показаний к терапии ибрутинибом возможно совместное назначение препаратов с отказом от высоких доз НПВС [36]. В клинической практике также может возникнуть ситуация, требующая назначения ДАТ, например при заболеваниях коронарных артерий. В таком случае может быть показана длительная ДАТ [37]. Если

при этом показан прием ибрутиниба, рекомендовано рассмотреть возможность альтернативной ибрутинибу терапии [36].

Рекомендации по использованию ибрутиниба с антикоагулянтной терапией

Как уже было сказано, не рекомендовано совместное назначение ибрутиниба и варфарина [17]. При этом частота геморрагических осложнений при терапии прямыми оральными антикоагулянтами (DOAC) достоверно ниже, чем при терапии варфарином [38]. Таким образом, терапия DOAC в сочетании с ибрутинибом предположительно сопряжена с меньшим риском геморрагических осложнений, чем комбинация варфарина и ибрутиниба. Однако клинических данных недостаточно, чтобы с уверенностью говорить о преимуществах такой комбинации. Очевидно, что выбор антикоагулянтной терапии с учетом возможных показаний и рисков осложнений необходимо рассматривать в контексте конкретного пациента с регулярной оценкой показаний для продолжения такой терапии. Также необходимо учитывать фармакокинетику применяемых препаратов. Так, ибрутиниб метаболизируется печенью с помощью ферментов CYP3A4 и, в меньшей степени, CYP2D6 [39]. Как известно, апиксабан и ривароксабан также частично метаболизируются с помощью цитохрома CYP3A, в то время как дабигатран и эдоксабан — нет [40]. Таким образом, при совместном использовании ибрутиниба и DOAC необходимо учитывать изменение метаболизма данных препаратов, особенно если пациент уже получает препараты, ингибирующие активность CYP3A, например азолы. С другой стороны, существует антидот против ингибиторов X-фактора — андаксанет альфа, способный восстановить активность X-фактора за считанные минуты [41]. В случае необходимости назначения антикоагулянтной терапии пациентам, получающим ибрутиниб, рекомендовано рассмотреть возможность отмены ингибитора Btk на срок антикоагулянтной терапии или назначения альтернативной терапии, если риски по основному заболеванию в случае отмены или замены препарата не превышают риски геморрагических осложнений. При выборе препарата для антикоагулянтной терапии предпочтение должно отдаваться DOAC, а не варфарину [36]. Что касается ривароксабана, то, с учетом большей частоты геморрагических осложнений, по сравнению с апиксабаном и эдоксабаном при использовании высоких доз (20 мг/сут) рационально уменьшить дозу до 10 мг/сут или отказаться в пользу другого препарата этой же группы [42]. В случае развития венозного, в том числе ассоциированного с центральным венозным катетером, тромбоза у детей препаратом выбора являются низкомолекулярные гепарины (LMWHs) [43], с учетом того, что DOAC в настоящее время не зарегистриро-

ваны у детей. Также следует избегать совместного назначения антикоагулянтов и дезагрегантов у пациентов, получающих ибрутиниб [36].

Терапия кровотечений

Незначительные кровотечения на ибрутинибе, как правило, не требуют активной сопроводительной терапии. Зачастую достаточно сделать паузу в приеме препарата и обеспечить гемостаз с помощью местных гемостатических средств. Более сложную проблему представляет терапия тяжелых или жизнеугрожающих кровотечений. Терапия тяжелых кровотечений, за исключением кровотечений в центральной нервной системе (ЦНС), очевидно, требует остановки терапии ибрутинибом и проведения заместительной терапии тромбоконцентратом [36]. Как показывают исследования, достаточно 50 % от общего числа «свежих» тромбоцитов в организме для достижения адекватного гемостаза [44]. При этом стоит учитывать, что антитромбоцитарный эффект ибрутиниба сохраняется в течение 3–4 ч после введения. Полностью все негативные эффекты препарата нивелируются спустя 2–3 дня [16]. Также имеет смысл рассмотреть возможность терапии десмопрессинном, который способен увеличивать прокоагулянтные свойства тромбоцитов у пациентов с тромбоцитопатиями [45] и стимулировать секрецию фактора Виллебранда, что нашло применение при терапии кровотечений у пациентов с болезнью Виллебранда [46]. На рациональность такой терапии указывает и тот факт, что увеличение концентрации фактора Виллебранда, как и добавление фактора VIII, может частично восстанавливать функцию тромбоцитов у пациентов, получающих ингибиторы Btk [22, 23]. Таким образом, назначение десмопрессина и комплекса фактора Виллебранда/VIII может быть разумным у пациентов с тяжелыми кровотечениями на терапии ибрутинибом.

Лечение кровотечений ЦНС — еще более сложная задача. В данном случае заместительная тромбоцитарная терапия может иметь скорее негативное последствие. Как показывает исследование 3-й фазы (PATCH trial), у пациентов с геморрагическим инсультом на антитромбоцитарной терапии переливание тромбоцитов достоверно ассоциировано с увеличением частоты летальных исходов и серьезных побочных эффектов по сравнению со стандартной терапией [47]. Однако стоит заметить, что нет данных, подтверждающих этот факт в отношении ибрутиниба, учитывая еще и то, что механизмы антитромбоцитарных эффектов ингибитора Btk и стандартных антитромбоцитарных препаратов различны. Поэтому не существует четкого мнения по поводу обоснованности заместительной тромбоцитарной терапии при кровотечениях ЦНС во время терапии Btk-ингибиторами. Но все же рутинное использование трансфузий тромбоцитов при развитии кровотечений ЦНС не рекомендовано.

Терапия фибрилляции предсердий у пациентов, получающих ибрутиниб

Общая частота ФП на терапии ибрутинибом в среднем составляет 6 % [48]. Зачастую данное состояние требует антикоагулянтной/антитромбоцитарной терапии, выбор которой базируется на оценке рисков тромбоэмболических осложнений — шкала CHA₂DS₂VASc [49]. Однако терапия ибрутинибом, как уже отмечалось, в данном случае увеличивает риск геморрагических осложнений. Поэтому при выборе антитромботической терапии должны учитываться еще и суммарные риски геморрагических осложнений. На сегодняшний день не существует рекомендаций по поводу выбора профилактики тромбоэмболических осложнений у пациентов с ФП на терапии ибрутинибом. Небольшие исследования показывают, что в основном опасные геморрагические осложнения у таких пациентов связаны с комбинацией ибрутиниба с антитромбоцитарной терапией и, в меньшей степени, — с антикоагулянтной [50]. Таким образом, пациентам с высоким риском геморрагических осложнений или тяжелым кровотечением в анамнезе при необходимости приема ДАТ может быть рекомендовано рассмотреть возможность альтернативной ибрутинибу терапии. Что касается пациентов с высоким риском тромбоэмболических осложнений (2 балла или более по шкале CHA₂DS₂VASc), рекомендована терапия DOAC с ибрутинибом, с возможностью увеличения дозы антикоагулянтов, без дополнительной антитромбоцитарной терапии. Пациенты с низким риском тромбоэмболических осложнений (0 баллов по шкале CHA₂DS₂VASc) в антикоагулянтной терапии не нуждаются и могут продолжать прием ибрутиниба в монорежиме. В отношении пациентов со стандартным риском

тромбоэмболических осложнений (1 балл по шкале CHA₂DS₂VASc) выбор между монотерапией ибрутинибом и комбинацией с ацетилсалициловой кислотой может быть сделан на основе личных предпочтений врача и индивидуальной оценки рисков [33].

Заключение

Ибрутиниб является высокоэффективным препаратом для ряда лимфопролиферативных заболеваний, однако существует опасность развития геморрагических осложнений и состояний, требующих назначения дополнительной антитромбоцитарной/антикоагулянтной терапии. Совместное назначение такой терапии может существенно повысить риски геморрагических осложнений. Выработка четких рекомендаций по профилактике и лечению геморрагических осложнений на терапии ибрутинибом как в монорежиме, так и в сочетании с антитромботической терапией в настоящее время, ввиду отсутствия крупных рандомизированных исследований, остается нерешенным вопросом. Также неясно, имеется ли возможность определять пациентов с высоким риском геморрагических осложнений на основе стандартных шкал, например CHA₂DS₂VASc, или функциональных тестов оценки активности тромбоцитов, как это предлагается рядом авторов [16, 31, 32, 49]. Имеющиеся рекомендации до некоторой степени условны и основываются либо на небольших клинических исследованиях, либо на опыте применения комбинированной антитромботической терапии и механизмов воздействия ибрутиниба на тромбоцитарное звено гемостаза. Поэтому выбор конкретной терапии может быть основан на индивидуальной оценке рисков возможных осложнений, личном опыте врача и местных рекомендациях.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gayko U., Fung M., Clow F. et al. Development of the Bruton's tyrosine kinase inhibitor ibrutinib for B-cell malignancies. *Ann NY Acad Sci* 2015;1358:82–94. DOI: 10.1111/nyas.12878. PMID: 26348626.
- Dimopoulos M.A., Trotman J., Tedeschi A. et al. Ibrutinib for patients with rituximab-refractory Waldenström's macroglobulinaemia (iNNOVATE): an open-label substudy of an international, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017;18(2):241–50. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30632-5. PMID: 27956157.
- Noy A., de Vos S., Thieblemont C. et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed/refractory marginal zone lymphoma. *Blood* 2017;129(16):2224–32. DOI: 10.1182/blood-2016-10-747345. PMID: 28167659.
- Miklos D., Cutler C.S., Arora M. et al. Ibrutinib for chronic graft-versus-host disease after failure of prior therapy. *Blood* 2017;130(21):2243–50. DOI: 10.1182/blood-2017-07-793786. PMID: 28924018.
- SEER Databases. URL: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/clyl.html>.
- Fischer K., Bahlo J., Fink A.M. et al. Long-term remissions after FCR chemotherapy in previously untreated patients with CLL: updated results of the CLL8 trial. *Blood* 2016;127(2):208–15. DOI: 10.1182/blood-2015-06-651125. PMID: 26486789.
- Burger J., Tedeschi A., Barr P. et al. Ibrutinib as Initial Therapy for Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med* 2015;373(25):2425–37. DOI: 10.1056/NEJMoa1509388. PMID: 26639149.
- Farooqui M., Valdez J., Martyr S. et al. Ibrutinib for previously untreated and relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with TP53 aberrations: a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol* 2015;16(2):169–76. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)71182-9. PMID: 25555420.
- Chanan-Khan A., Cramer P., Demirkan F. et al. Ibrutinib combined with bendamustine and rituximab compared with placebo, bendamustine, and rituximab for previously treated chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma (HELIOS): a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2016;17(2):200–11. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00465-9. PMID: 26655421.
- Miklos D., Cutler C., Arora M. et al. Ibrutinib for chronic graft-versus-host disease after failure of prior therapy. *Blood* 2017;130(21):2243–50. DOI: 10.1182/blood-2017-07-793786. PMID: 28924018.
- Leong D., Caron F., Hillis C. et al. The risk of atrial fibrillation with ibrutinib

- use: a systematic review and meta-analysis. *Blood* 2016;128(1):138–40. DOI: 10.1182/blood-2016-05-712828. PMID: 27247135.
12. Caron F., Leong D., Hillis C. et al. Current understanding of bleeding with ibrutinib use: a systematic review and meta-analysis. *Blood Adv* 2017;1(12):772–8. DOI:10.1182/bloodadvances.2016001883. PMID: 29296721.
 13. Wang M.L., Blum K.A., Martin P. et al. Long-term follow-up of MCL patients treated with single-agent ibrutinib: updated safety and efficacy results. *Blood* 2015;126(6):739–45. DOI: 10.1182/blood-2015-03-635326. PMID: 26059948.
 14. Byrd J.C., Brown J.R., O'Brien S. et al. Ibrutinib versus Ofatumumab in Previously Treated Chronic Lymphoid Leukemia. *N Engl J Med* 2014;371(3):213–23. DOI: 10.1056/NEJMoa1400376. PMID: 24881631.
 15. Mock J., Kunk P.R., Palkimas S. et al. Risk of Major Bleeding with Ibrutinib. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2018;pii:S2152-2650(18)30288-X [Epub ahead of print]. DOI: 10.1016/j.clml.2018.07.287. PMID: 30077698.
 16. Kamel S., Horton L., Ysebaert L. et al. Ibrutinib inhibits collagen-mediated but not ADP-mediated platelet aggregation. *Leukemia* 2015;29(4):783–7. DOI: 10.1038/leu.2014.247. PMID: 25138588.
 17. Byrd J.C., Furman R.R., Coutre S. et al. Three-year follow-up of treatment – naive and previously treated patients with CLL and SLL receiving single-agent ibrutinib. *Blood* 2015;125(16):2497–506. DOI: 10.1182/blood-2014-10-606038. PMID: 25700432.
 18. Surin W.R., Barthwal M.K., Dikshit M. Platelet collagen receptors, signaling and antagonism: emerging approaches for the prevention of intravascular thrombosis. *Thromb Res* 2008;122(6):786–803. DOI: 10.1016/j.thromres.2007.10.005. PMID: 18045662.
 19. Tsuji M., Ezumi Y., Arai M., Takayama H. A novel association of Fc receptor gamma-chain with glycoprotein VI and their co-expression as a collagen receptor in human platelets. *J Biol Chem* 1997;272(38):23528–31. DOI: 10.1074/jbc.272.38.23528. PMID: 9295288.
 20. Quek L., Pasquet J., Hers I. et al. Fyn and Lyn phosphorylate the Fc receptor gamma chain downstream of glycoprotein VI in murine platelets, and Lyn regulates a novel feedback pathway. *Blood* 2000;96(13):4246–53. PMID: 11110698.
 21. Watson S.P., Auger J.M., McCarty O.J., Pearce A.C. GPVI and integrin alpha-IIb beta-3 signaling in platelets. *J Thromb Haemost* 2005;3(8):1752–62. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01429.x. PMID: 16102042.
 22. Li Z., Delaney M.K., O'Brien K.A., Du X. Signaling During Platelet Adhesion and Activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30(12):2341–9. DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.207522. PMID: 21071698.
 23. Du X. Signaling and regulation of the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex. *Curr Opin Hematol* 2007;14(3):262–69. DOI: 10.1097/MOH.0b013e3280dce51a. PMID: 17414217.
 24. Sullam P.M., Hyun W.C., Szöllösi J. et al. Physical proximity and functional interplay of the glycoprotein Ib-IX-V complex and the Fc receptor FcgammaRIIA on the platelet plasma membrane. *J Biol Chem* 1998;273(9):5331–6. DOI: 10.1074/jbc.273.9.5331. PMID: 9478992.
 25. Wu Y., Suzuki-Inoue K., Satoh K. et al. Role of Fc receptor gamma-chain in platelet glycoprotein Ib-mediated signaling. *Blood* 2001;97(12):3836–45. DOI: 10.1182/blood.V97.12.3836. PMID: 11389024.
 26. Liu J., Fitzgerald M.E., Berndt M.C. et al. Bruton tyrosine kinase is essential for botrocetin/VWF-induced signaling and GPIIb-dependent thrombus formation in vivo. *Blood* 2006;108(8):2596–603. DOI: 10.1182/blood-2006-01-011817. PMID: 16788103.
 27. Futatani T., Watanabe C., Baba Y. et al. Bruton's tyrosine kinase is present in normal platelets and its absence identifies patients with X-linked agammaglobulinemia and carrier females. *Br J Haematol* 2001;114(1):141–9. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2001.02905.x/ PMID: 11472359.
 28. Atkinson B.T., Ellmeier W., Watson S.P. Tec regulates platelet activation by GPVI in the absence of Btk. *Blood* 2003;102(10):3592–9. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1142. PMID: 12842985.
 29. Quek L.S., Bolen J., Watson S.P. A role for Bruton's tyrosine kinase (Btk) in platelet activation by collagen. *Curr Biol* 1998;8(20):1137–40. DOI: 10.1016/S0960-9822(98)70471-3. PMID: 9778529.
 30. Bye A., Unsworth A., Desborough M. et al. Severe platelet dysfunction in NHL patients receiving ibrutinib is absent in patients receiving acalabrutinib. *Blood Adv* 2017;1(26):2610–23. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017011999. PMID: 29296914.
 31. Kazianka L., Drucker C., Skrabs C. et al. Ristocetin-induced platelet aggregation for monitoring of bleeding tendency in CLL treated with ibrutinib. *Leukemia* 2017;31(5):1117–22. DOI: 10.1038/leu.2016.316. PMID: 27909342.
 32. Alberelli M., Innocenti I., Autore L. et al. Ibrutinib does not affect ristocetin-induced platelet aggregation evaluated by light transmission aggregometry in chronic lymphocytic leukemia patients. *Haematologica* 2018;103(3):e119–22. DOI: 10.3324/haematol.2017.179044. PMID: 29242303.
 33. Pulte D., Olson K., Broekman M. et al. CD39 activity correlates with stage and inhibits platelet reactivity in chronic lymphocytic leukemia. *J Transl Med* 2007;5:23. DOI: 10.1186/1479-5876-5-23. PMID: 17480228.
 34. Lipsky A., Farooqui M., Tian X. et al. Incidence and risk factors of bleeding-related adverse events in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with ibrutinib. *Haematologica* 2015;100(12):1571–8. DOI: 10.3324/haematol.2015.126672. PMID: 26430171.
 35. Serebruany V.L., Malinin A.I., Ferguson J.J. et al. Bleeding risks of combination vs. single antiplatelet therapy: a meta-analysis of 18 randomized trials comprising 129,314 patients. *Fundam Clin Pharmacol* 2008;22(3):315–21. DOI: 10.1111/j.1472-8206.2008.00582.x. PMID: 18485150.
 36. Shatzel J.J., Olson S.R., Tao D.L. et al. Ibrutinib-associated bleeding: pathogenesis, management, and risk reduction strategies. *J Thromb Haemost* 2017;15(5):835–47. DOI: 10.1111/jth.13651. PMID: 28182323.
 37. Valgimigli M., Bueno H., Byrne R.A. et al. 2017 ESC focused update on dual antiplatelet therapy in coronary artery disease developed in collaboration with EACTS: The Task Force for dual antiplatelet therapy in coronary artery disease of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J* 2018;39(3):213–60. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx419. PMID: 28886622.
 38. Eikelboom J., Merli G. Bleeding with Direct Oral Anticoagulants vs. Warfarin: Clinical Experience. *Am J Med* 2016;129(11S):S33–40. DOI: 10.1016/j.amjmed.2016.06.003. PMID: 27586367.
 39. Kronabel D. Possible influence of some foods on the metabolism of ibrutinib. *Clin Lab* 2015;61(3–4):443–4. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2015.150116. PMID: 25975016.
 40. Burnett A.E., Mahan C.E., Vazquez S.R. et al. Guidance for the practical management of the direct oral anticoagulants (DOACs) in VTE treatment. *J Thromb Thrombolysis* 2016;41(1):206–32. DOI: 10.1007/s11239-015-1310-7. PMID: 26780747.
 41. Kaatz S., Bhansali H., Gibbs J. et al. Reversing factor Xa inhibitors – clinical utility of andexanet alfa. *J Blood Med* 2017;8:141–9. DOI: 10.2147/JBM.S121550. PMID: 28979172.
 42. Yoshioka H., Sato H., Hatakeyama H., Hisaka A. Model-based meta-analysis to evaluate optimal doses of direct oral factor Xa inhibitors in atrial fibrillation patients. *Blood Adv* 2018;2(10):1066–75. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017013805. PMID: 29760204.
 43. Tullius B., Athale U., van Ommen C.H. et al. The identification of at-risk patients and prevention of venous thromboembolism in pediatric cancer: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2018;16(1):175–180. DOI: 10.1111/jth.13895. PMID: 29178421.
 44. Levade M., David E., Garcia C. et al. Ibrutinib treatment affects collagen and von Willebrand factor-dependent platelet functions. *Blood* 2014;124(26):3991–5.

- DOI: 10.1182/blood-2014-06-583294. PMID: 25305202.
45. Colucci G., Stutz M., Rochat S. et al. The effect of desmopressin on platelet function: a selective enhancement of procoagulant COAT platelets in patients with primary platelet function defects. *Blood* 2014;123(12):1905–16. DOI: 10.1182/blood-2013-04-497123. PMID: 24443440.
 46. Lillicrap D. Von Willebrand disease: advances in pathogenetic understanding, diagnosis, and therapy. *Blood* 2013;122(23):3735–40. DOI: 10.1182/blood-2013-06-498303. PMID: 24065240.
 47. Baharoglu M., Cordonnier C., Salman R. et al. Platelet transfusion versus standard care after acute stroke due to spontaneous cerebral haemorrhage associated with anti-platelet therapy (PATCH): a randomised, open – label, phase 3 trial. *Lancet* 2016;387(10038):2605–13. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30392-0. PMID: 27178479.
 48. Shanafelt T.D., Parikh S.A., Noseworthy P.A. et al. Atrial fibrillation in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Leuk Lymphoma* 2017;58(7):1630–9. DOI: 10.1080/10428194.2016.1257795. PMID: 27885886.
 49. January C.T., Wann L.S., Alpert J.S. et al. 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *J Am Coll Cardiol* 2014;64(21):2246–80. DOI: 10.1016/j.jacc.2014.03.022. PMID: 24685669.
 50. Wiczer E., Levine L., Brumbaugh J. et al. Cumulative incidence, risk factors, and management of atrial fibrillation in patients receiving ibrutinib. *Blood Adv* 2017;1(20):1739–48. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017009720. PMID: 29296820.

Вклад авторов

Е.В. Волчков: концепция, написание статьи;

П.А. Жарков, М.А. Пантелеев: концепция, участие в написании статьи, окончательное одобрение рукописи.

Authors' contributions

E.V. Volchkov: concept, article writing;

P.A. Zharkov, M.A. Panteleev: concept, article writing, final approval of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.В. Волчков / E.V. Volchkov: <https://orcid.org/0000-0002-2574-1636>

П.А. Жарков / P.A. Zharkov: <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

М.А. Пантелеев / M.A. Panteleev: <https://orcid.org/0000-0002-8128-7757>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 09.07.2018. Принята к публикации: 03.09.2018.

Article received: 09.07.2018. Accepted for publication: 03.09.2018.

Инфекционные осложнения у больных острыми лейкозами в зависимости от длительности гранулоцитопении

В.А. Охмат, Г.А. Клясова, Е.Н. Паровичникова, В.Н. Двирник, В.В. Троицкая, Е.О. Грибанова, В.Г. Савченко

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России;

Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский проезд, 4

Контакты: Владимир Александрович Охмат okhmatvladimir@mail.ru

Введение. При реализации программной химиотерапии (ХТ) у больных гемобластомами регистрируется высокая частота инфекционных осложнений, характер которых определяется рядом факторов, включая гранулоцитопению.

Цель исследования — изучить частоту и характер инфекций у больных *de novo* острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) в зависимости от длительности гранулоцитопении при применении современных программ ХТ.

Материалы и методы. Проспективное исследование (2013–2015 гг.) включало 110 больных (66 ОМЛ, 44 ОЛЛ), которым было проведено 480 курсов ХТ за 6 мес.

Результаты. Гранулоцитопения с медианой длительности 15 (2–55) дней была в 288 (60 %) курсах ХТ. Инфекционные осложнения возникли в 242 (50 %) курсах ХТ и преобладали у больных с гранулоцитопенией в сравнении с больными без гранулоцитопении (80 % против 6 %, $p < 0,0001$). Развитие инфекций наблюдалось чаще у больных ОМЛ, чем у больных ОЛЛ (93 % против 18 %, $p < 0,0001$), как при наличии гранулоцитопении (96 % против 45 %, $p < 0,0001$), так и при ее отсутствии (27 % против 4 %, $p = 0,02$). При удлинении гранулоцитопении от 1–7 до 22 дней и более доля инфекций возрастала с 52 до 96 % ($p < 0,0001$). Частота инфекционных осложнений у больных ОМЛ была высокой (92–100 %) при любой длительности гранулоцитопении, а у больных ОЛЛ увеличивалась с 25–33 до 91 % при удлинении гранулоцитопении с 2 нед до 22 дней и более. В период гранулоцитопении вероятность развития лихорадки неясной этиологии составила 33,9 %, клинически доказанной инфекции — 31,3 %, бактериемии — 17,2 %. Регистрация их наблюдалась в основном в первые 2 нед гранулоцитопении. Вероятность развития инвазивного аспергиллеза (ИА) возрастала после 28-го дня гранулоцитопении и достигла 66 % к 55-му дню. Первый случай ИА у больных ОЛЛ был на 28-й день гранулоцитопении, а у больных ОМЛ — 4 (44 %) из 9 в более ранние сроки (6–16-й дни гранулоцитопении). Летальные исходы были у 7 (6 %) из 110 больных, из них у 4 (4 %) по причине инфекции.

Выводы. Гранулоцитопения являлась предиктором развития инфекционных осложнений у больных ОМЛ и ОЛЛ. Корреляция длительности гранулоцитопении и частоты инфекций была выявлена у больных ОЛЛ, в то время как у больных ОМЛ частота инфекционных осложнений была высокой вне зависимости от длительности гранулоцитопении. При гранулоцитопении до 2 нед ведущими проявлениями инфекции были лихорадка неясной этиологии, клинически доказанная инфекция и бактериемия, а при гранулоцитопении от 28 дней и более преобладал ИА.

Ключевые слова: гемобласты, острый лейкоз, фебрильная нейтропения, гранулоцитопения, инфекционные осложнения, инвазивный аспергиллез

Для цитирования: Охмат В.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н. и др. Инфекционные осложнения у больных острыми лейкозами в зависимости от длительности гранулоцитопении. Онкогематология 2018;13(3):55–62

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-55-62

Infectious complications in patients with acute leukemia according to the duration of neutropenia

V.A. Okhmat, G.A. Klyasova, E.N. Parovichnikova, V.N. Dvirnik, V.V. Troitskaya, E.O. Gribanova, V.G. Savchenko

National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Noviy Zikovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

Introduction. Patients with hematological malignancies undergoing chemotherapy (CT) have high incidence of infections which profile is affected by various factors including neutropenia.

Objective was to evaluate incidence and type of infections in patients with *de novo* acute myeloid leukemia (AML) and acute lymphoblastic leukemia (ALL) according to neutropenia duration.

Materials and methods. Prospective study (2013–2015) included 110 patients (66 AML, 44 ALL) that received 480 CT cycles throughout 6 month.

Results. Neutropenia with median duration of 15 (2–55) days was in 288 (60 %) of CT cycles. Infections occurred in 242 (50 %) of CT cycles and predominated in neutropenic compared to non-neutropenic patients (80 % vs 6 %, $p < 0.0001$). Infections prevailed in patients with AML compared to ALL patients (93 % vs 18 %, $p < 0.0001$) as in patients with neutropenia (96 % vs 45 %, $p < 0.0001$) and without neutropenia (27 % vs 4 %, $p = 0.02$). Prolongation of neutropenia from 1–7 days to ≥ 22 days was associated with increase of infections rate from 52 to 96 % ($p < 0.0001$). Incidence of infections in AML patients was high (92–100 %) regardless of neutropenia duration, whereas in ALL patients it increased from 25–33 to 91 % if neutropenia lengthened from 2 weeks to ≥ 22 days. During neutropenia the probability of fever of unknown origin was 33.9 %, clinically documented infection — 31.3 %, bacteremia — 17.2 %. They predominated in the first 2 weeks

of neutropenia. Probability of invasive aspergillosis (IA) increased after 28 days of neutropenia and reached 66 % on the 55th day. First case of IA in patients with ALL was on 28th day of neutropenia whilst in AML patients – 4 (44 %) of 9 occurred more early (6–16 days of neutropenia). Nine (6 %) of 110 patients died, 4 (4 %) of them due to infection.

Conclusions. Neutropenia was a predictor of infectious complications in patients with AML and ALL. Correlation between duration of neutropenia and incidence of infections was in patients with ALL, whereas in AML patients the rate of infections was high regardless of neutropenia duration. In patients with neutropenia for 2 weeks the most common types of infection were fever of unknown origin, clinically documented infection and bacteremia whilst IA predominated if neutropenia duration was ≥ 28 days.

Key words: hematological malignancies, acute leukemia, febrile neutropenia, infectious complications, invasive aspergillosis

For citation: Okhmat V.A., Klyasova G.A., Parovichnikova E.N. et al. Infectious complications in patients with acute leukemia according to the duration of neutropenia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2018;13(3):55–62

Введение

Совершенствование химиотерапевтических протоколов и алгоритмов сопроводительного лечения позволило повысить выживаемость больных опухолями системы крови. Несмотря на эти достижения, большинство цитостатических препаратов, широко используемых в настоящее время для лечения больных гемобластомами, помимо противоопухолевого эффекта также вызывают миелосупрессию и развитие гранулоцитопении. Гранулоцитопения — один из основных факторов, ассоциированных с инфекционными осложнениями у больных с опухолями системы крови. Характер инфекционных осложнений может различаться в зависимости от продолжительности гранулоцитопении.

Инфекционный процесс у иммунокомпрометированных больных имеет ряд особенностей, к которым относятся скудные клинические проявления, стремительное развитие и высокая летальность, особенно при неадекватной антимикробной терапии. В связи с этим основным принципом терапии инфекционных осложнений у больных с фебрильной нейтропенией является эмпирический подход к назначению антимикробных препаратов, когда их применяют при первых признаках инфекции, при лихорадке, до идентификации возбудителей инфекции [1]. В то же время эмпирический подход к назначению антибиотиков у больных гемобластомами является относительным, поскольку выбор антимикробных препаратов определяется ретроспективным анализом ряда показателей, включающих частоту и характер инфекционных осложнений.

Целью нашего исследования стало изучение частоты и характера инфекционных осложнений у больных с впервые выявленными острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) в зависимости от длительности гранулоцитопении при реализации современной программной химиотерапии (ХТ).

Материалы и методы

В исследование были включены больные с впервые выявленными ОМЛ и ОЛЛ, госпитализированные

в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (НМИЦ гематологии) с 2013 по 2015 г.

Больных наблюдали в течение 6 мес. У больных ОМЛ этот период соответствовал первым 4 основным этапам ХТ, включающим 2 курса индукции и 2 курса консолидации [2]; у больных ОЛЛ — 7 этапам ХТ по протоколу ОЛЛ-2009, состоявшим из 2 курсов индукции и 5 курсов консолидации [3]. В этап консолидации включали 2-й курс индукции, если ремиссия острого лейкоза была достигнута после 1-го курса индукции. Таким образом, анализ инфекционных осложнений в консолидации проводили у всех больных в ремиссии острого лейкоза. Больные ОЛЛ Ph-позитивными и резистентными формами острых лейкозов были исключены из исследования. К резистентным формам острых лейкозов относили случаи недостижения полной ремиссии после 2 курсов индукции.

При температуре выше 38 °С или выявлении очага инфекции назначали внутривенно антибиотики 1-го этапа (цефоперазон/сульбактам или пиперацillin/тазобактам). Модификацию антибактериальной терапии проводили согласно результатам микробиологических исследований; при персистирующей лихорадке неясной этиологии выполняли замену антибиотиков 1-го этапа на карбапенем (имипенем/циластатин, меропенем или дорипенем).

При температуре от 38 °С и выше перед назначением антибиотиков у больных брали кровь из вены и из центрального венозного катетера в 2 флакона для гемокультур (Becton Dickinson, США), при сохранении температуры выше 38 °С исследование повторяли через 5–7 дней. Компьютерную томографию (КТ) легких выполняли при наличии клинических признаков пневмонии или сохранении температуры выше 38 °С в течение 3–4 сут. При пневмонии проводили бронхоскопию с бактериологическим и микологическим исследованием жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ).

Флаконы инкубировали в автоматическом анализаторе для гемокультур — BD BACTEC FX (Becton Dickinson, США). При наличии симптомов инфекции диагностически значимым считали однократное

выделение из гемокультуры грамотрицательных микроорганизмов, а также таких грамположительных бактерий, как *Streptococcus* группы *viridans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus* spp. Выделение коагулазонегативных стафилококков и *Corynebacterium* spp. подтверждали двумя положительными гемокультурами.

Идентификацию микроорганизмов проводили методом матричной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF-MS) на анализаторе Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия) в автоматическом режиме с использованием программы MALDI Biotyper, версия 3.1.

Инвазивный аспергиллез из категорий «доказанный», «вероятный» или «возможный» определяли в соответствии с критериями диагностики EORTC/MSG (European Organization for the Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group, 2008) [4]. Жидкость БАЛ и мокроту исследовали на агаризованной среде Чапека или Сабуро для обнаружения грибов. При получении культуры мицелиальных грибов проводили их видовую идентификацию на основании морфологии. У всех больных с пневмонией определяли галактоманнан в жидкости БАЛ. У больных ОМЛ проводили мониторинг антигена *Aspergillus* в сыворотки крови в период нейтропении методом иммуноферментного анализа (Platelia® *Aspergillus*, Bio-Rad Laboratories, США). Положительными считали значения индекса оптической плотности галактоманнана в сыворотке крови от 0,5 и более, в жидкости БАЛ — от 1,0 и более.

Для проведения анализа была создана база данных, включающая демографические, клинические и лабораторные показатели. Статистический анализ проводили с помощью программы SPSS. Для сравнения качественных признаков применяли точный критерий Фишера (p). Для сравнения количественных признаков применяли U -критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при степени вероятности безошибочного прогноза 95 % ($p \leq 0,05$).

Результаты

В исследование было включено 110 больных (50 мужчин, 60 женщин) с впервые диагностированными острыми лейкозами, из них 66 больных ОМЛ и 44 больных ОЛЛ, в возрасте от 17 до 64 лет (медиана 32 года). Больные ОМЛ были статистически значимо старше больных ОЛЛ (39 лет против 26 лет, $p < 0,0001$). В течение 180 дней наблюдения больным было проведено 480 курсов ХТ, из них 145 (30 %) курсов индукции и 335 (70 %) курсов консолидации (см. таблицу). Гранулоцитопения длительностью от 2 до 55 дней (медиана 15 дней) была в 288 (60 %) курсах ХТ. У больных ОМЛ в сравнении с больными ОЛЛ статистически значимо чаще регистрировали гранулоцитопению (95 % против 34 %, $p < 0,0001$), большей продолжительности (16 дней против 9 дней, $p < 0,0001$). Длительность гранулоцитопении от 7 дней и менее

регистрировали статистически значимо чаще у больных ОЛЛ, чем у больных ОМЛ (40 % против 12 %, $p < 0,0001$), от 15 до 21 дня — у больных ОМЛ (27 % против 13 %, $p = 0,006$). Частота регистрации гранулоцитопении продолжительностью от 8 до 14 дней (31 и 23 %) и от 22 дней и более (30 и 24 %) была сопоставимой в обеих группах больных. Инфекционные осложнения возникли в 242 (50 %) из 480 курсов ХТ и преобладали у больных с гранулоцитопенией в сравнении с больными без нее (80 % против 6 %, $p < 0,0001$). Инфекции статистически значимо чаще регистрировали у больных ОМЛ в сравнении с больными ОЛЛ (93 % против 18 %, $p < 0,0001$), причем как при наличии гранулоцитопении (96 % против 45 %, $p < 0,0001$), так и при ее отсутствии (27 % против 4 %, $p = 0,02$).

Инфекционные осложнения у больных без гранулоцитопении были зарегистрированы в 11 случаях, включая 3 случая у больных ОМЛ и 8 у больных ОЛЛ. Инфекционный процесс вне гранулоцитопении был расценен как лихорадка неясной этиологии (ЛНЭ) у 5 (46 %) больных, клинически доказанная инфекция (КДИ) — у 4 (36 %), бактериемия — у 2 (18 %). Следует отметить, что у больных вне гранулоцитопении не было случаев развития инвазивного аспергиллеза (ИА).

На рис. 1 представлена частота инфекционных осложнений у больных ОМЛ и ОЛЛ в зависимости от длительности гранулоцитопении. Доля инфекционных осложнений возрастала с 52 до 96 % при увеличении периода гранулоцитопении от 1–7 до 22 дней и более ($p < 0,0001$). Частота инфекций у больных ОМЛ была высокой и составила 92–100 % вне зависимости от продолжительности гранулоцитопении, в то время как у больных ОЛЛ этот показатель возрастал с 25–33 до 91 % при увеличении периода гранулоцитопении с 1–14 до 22 дней и более. При одинаковой длительности периода гранулоцитопении развитие инфекций преобладало у больных ОМЛ в сравнении с больными ОЛЛ ($p < 0,05$).

Вероятность возникновения инфекционных осложнений у больных ОМЛ и ОЛЛ в течение периода гранулоцитопении представлена на рис. 2. За анализируемый период вероятность развития ЛНЭ составила 33,9 %, КДИ — 31,3 %, бактериемии — 17,2 %. Регистрация их в основном проходила с 1-го по 14-й дни гранулоцитопении, с 15-го по 21-й дни были лишь единичные случаи, а после 21-го дня — ни одного случая. Вероятность возникновения ИА, напротив, существенно возрастала после 28-го дня гранулоцитопении и к 55-му дню составила 66 %.

При анализе характера инфекционных осложнений было выявлено, что у больных ОМЛ в сравнении с больными ОЛЛ была статистически значимо выше вероятность развития ЛНЭ (38,9 % против 14,7 %, $p < 0,001$) и КДИ (40,3 % против 16,0 %, $p = 0,005$), в то время как вероятность возникновения бактериемии (19,3 % против 12,9 %, $p = 0,19$) и ИА (61,4 %

Длительность гранулоцитопении и частота инфекционных осложнений у больных острыми лейкозами
Duration of neutropenia and incidence of infections in patients with acute leukemia

Показатель Variable	Вариант острого лейкоза, абс. (%) Type of acute leukemia, abs. (%)			p
	всего total	ОМЛ AML	ОЛЛ ALL	
Число курсов ХТ Number of CT cycles	480	208	272	—
Наличие гранулоцитопении (гранулоцитов <500/мм ³) Neutropenia (neutrophils <500/mm ³)	288 (60)	197 (95)	91 (34)	<0,0001
Медиана (диапазон) длительности гранулоцитопении, дни Median (range) duration of neutropenia, days	15 (2–55)	16 (17–55)	9 (2–45)	<0,0001
Длительность гранулоцитопении, дни: Duration of neutropenia, days:				
1–7	60 (21)	24 (12)	36 (40)	<0,0001
8–14	82 (29)	61 (31)	21 (23)	0,21
15–21	65 (23)	53 (27)	12 (13)	0,006
≥22	81 (28)	59 (30)	22 (24)	0,33
Отсутствие гранулоцитопении (гранулоцитов ≥500/мм ³) Absence of neutropenia (neutrophils ≥500/mm ³)	192 (40)	11 (5)	181 (67)	<0,0001
Общая частота инфекционных осложнений на курсах ХТ Overall incidence of infections during CT cycles	242 (50)	193 (93)	49 (18)	<0,0001
Частота инфекционных осложнений при наличии гранулоцитопении Incidence of infections in patients with neutropenia	230 (80)	190 (96)	41 (45)	<0,0001
Частота инфекционных осложнений при отсутствии гранулоцитопении Incidence of infections in patients without neutropenia	11 (6)	3 (27)	8 (4)	0,02

Примечание. ОМЛ – острый миелоидный лейкоз; ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз; ХТ – химиотерапия.
Note. AML – acute myeloid leukemia; ALL – acute lymphoblastic leukemia; CT – chemotherapy.

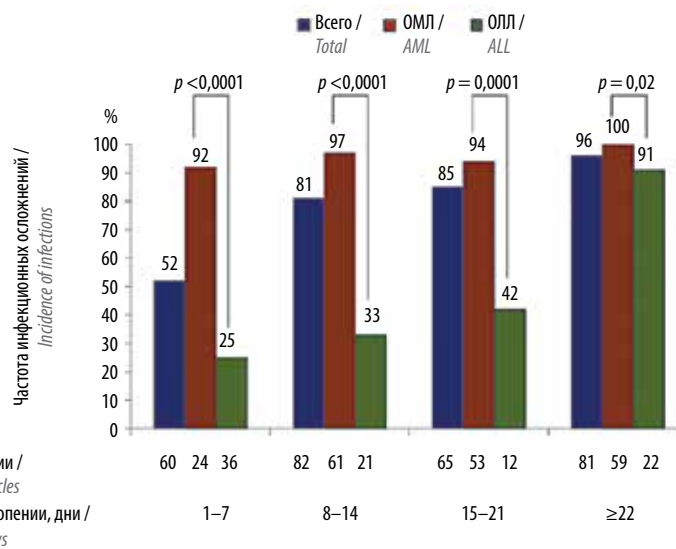


Рис. 1. Частота инфекционных осложнений у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) в зависимости от длительности гранулоцитопении
Fig. 1. Incidence of infections in patients with acute myeloid leukemia (AML) and acute lymphoblastic leukemia (ALL) according to neutropenia duration

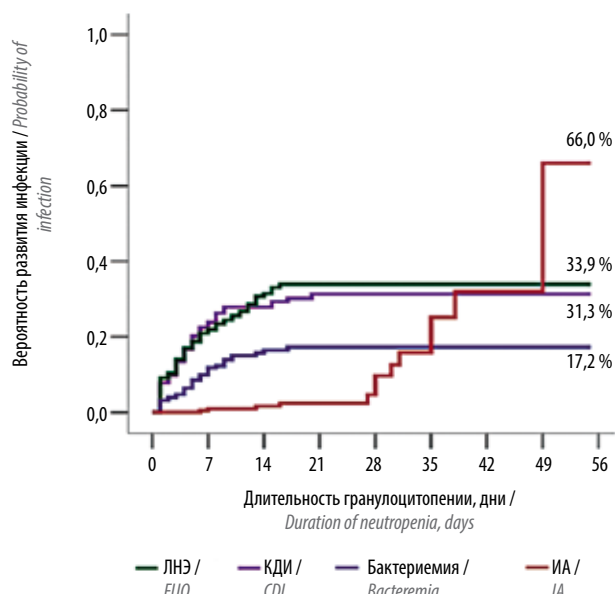


Рис. 2. Вероятность развития инфекционных осложнений у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) в зависимости от длительности гранулоцитопении. ЛНЭ – лихорадка неясной этиологии; КДИ – клинически доказанная инфекция; ИА – инвазивный аспергиллез

Fig. 2. Probability of infections in patients with acute myeloid leukemia (AML) and acute lymphoblastic leukemia (ALL) according to neutropenia duration. FUO – fever of unknown origin; CDI – clinically defined infection; IA – invasive aspergillosis

против 63,5 %, $p = 0,52$) была сопоставимой (рис. 3). Необходимо отметить, что 1-й случай ИА у больных ОЛЛ был зарегистрирован на 28-й день гранулоцитопении, а у 4 (44 %) из 9 больных ОМЛ – в более ранние сроки. Так, ИА развился на 6-й и 16-й дни гранулоцитопении в индукции ОМЛ у 2 больных, переведенных в НМИЦ гематологии из другого стационара. У этих больных при поступлении была диагностирована пневмония, один из них длительно принимал кортикостероиды. Два других случая раннего развития ИА были у больных в ремиссии ОМЛ после курсов консолидации на 7-й и 13-й дни гранулоцитопении.

В течение 6 мес летальные исходы были у 7 (6 %) из 110 больных, из них у 5 (8 %) из 66 больных ОМЛ и у 2 (5 %) из 44 больных ОЛЛ. Инфекции стали причиной смерти у 4 (4 %) больных, включая 2 (3 %) больных ОМЛ и 2 (5 %) больных ОЛЛ. Остальные случаи летальных исходов ($n = 3$) были обусловлены нарушением мозгового кровообращения (геморрагический инсульт).

Обсуждение

Нейтрофилы являются основными эффекторными клетками неспецифического иммунитета и играют одну из ключевых ролей в обеспечении иммунного ответа в отношении возбудителей инфекции. В связи с этим развитие глубокой и продолжительной гранулоцитопении вследствие цитотоксического воздействия противоопухолевых препаратов закономерно

приводит к увеличению частоты инфекционных осложнений у больных гемобластозами. Вероятность развития инфекционных осложнений в зависимости от наличия и длительности гранулоцитопении была впервые представлена в 1966 г. в основополагающей работе G.P. Bodey и соавт. [5]. В этом исследовании факт наличия гранулоцитопении (гранулоцитов в крови менее $1000/\text{мм}^3$) приводил в 39 % случаях к развитию инфекции у больных острыми лейкозами. Риск инфекционных осложнений увеличивался до 60 % при длительности гранулоцитопении в течение 3 нед и достигал 100 %, если число гранулоцитов в крови составляло менее $100/\text{мм}^3$. При использовании современных программ ХТ мы получили аналогичные результаты. Инфекционные осложнения возникали статистически значимо чаще у больных с гранулоцитопенией в сравнении с больными без нее (80 % против 6 %, $p < 0,0001$), а при увеличении периода гранулоцитопении от 1–7 до 22 дней и более частота инфекционных осложнений возрастала с 52 до 96 %, $p < 0,0001$. Сопоставимые данные были представлены в многоцентровом исследовании из Италии, опубликованном в 2018 г. и включавшем 271 больного ОЛЛ [6]. В этой работе в 161 (89,9 %) из 179 случаев инфекции регистрировали гранулоцитопению (гранулоцитов в крови менее $500/\text{мм}^3$), а в 124 (69,2 %) эпизодах инфекции гранулоцитопения была глубокой и продолжительной (гранулоцитов в крови менее $100/\text{мм}^3$ в течение 10 дней и более).

Помимо увеличения частоты инфекционных осложнений с удлинением гранулоцитопении изменялся и характер инфекций. В нашем исследовании с 1-го по 14-й дни гранулоцитопении преобладали случаи ЛНЭ, КДИ и бактериемии. Вероятность возникновения ИА значительно возросла после 28-го дня гранулоцитопении и к 55-му дню составила 66 %. При меньшей длительности гранулоцитопении регистрация ИА была только у больных ОМЛ.

Согласно международным критериям EORTC/MSG для диагностики ИА в категориях «вероятный» и «возможный» обязательно наличие факторов риска со стороны макроорганизма [4]. К одному из таких факторов относится гранулоцитопения (гранулоцитов в крови менее $500/\text{мм}^3$) длительностью от 10 дней и более, имеющая временную связь с развитием инвазивного микоза. Влияние продолжительности гранулоцитопении на частоту инвазивных микозов было доказано в 1984 г. в работе S.L. Gerson и соавт. [7], включавшей 70 больных острыми лейкозами, у которых, начиная с 22-го дня гранулоцитопении, вероятность развития ИА увеличивалась ежедневно на 4,3 %, а к 34-му дню гранулоцитопении превысила 70 %. Эта зависимость была подтверждена и в ряде современных исследований [8–9]. Так, в работе, опубликованной в 2009 г., больные ОМЛ и инвазивным микозом ($n = 11$) статистически значимо чаще, чем больные без этой инфекции ($n = 33$), имели «глубокую» (гранулоцитов в крови менее $100/\text{мм}^3$, 100 % против

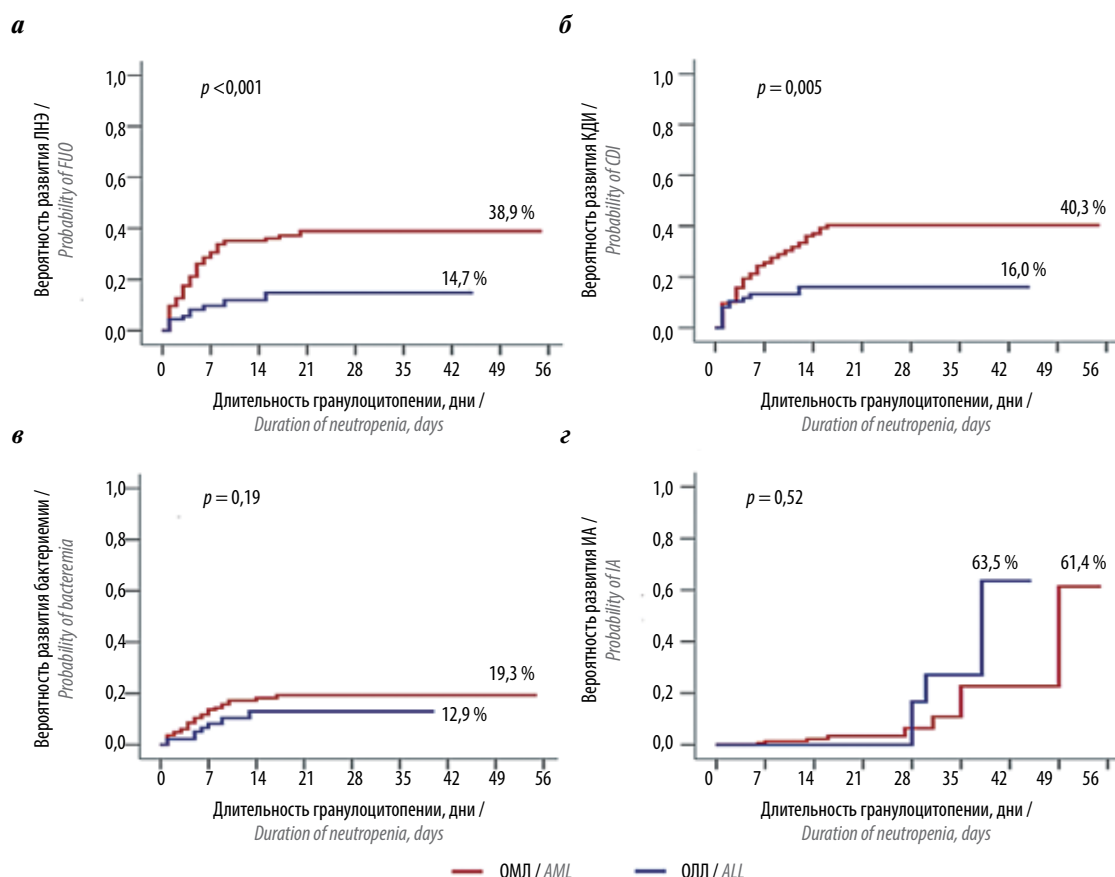


Рис. 3. Инфекционные осложнения у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) в период гранулоцитопении. Вероятность развития: а – лихорадки неясной этиологии (ЛНЭ); б – клинически доказанной инфекции (КДИ); в – бактериемии; г – инвазивного аспергиллеза (ИА)

Fig. 3. Infections in patients with acute myeloid leukemia (AML) and acute lymphoblastic leukemia (ALL) during neutropenia. Probability of infections: а – fever of unknown origin (FUO); б – clinically defined infection (CDI); в – bacteremia; г – invasive aspergillosis

70 %, $p = 0,04$) и более продолжительную гранулоцитопению (26 дней против 15 дней, $p = 0,002$) [8]. В другом исследовании у больных гемобластомами и ИА ($n = 65$) в сравнении с группой контроля ($n = 87$) также преобладала регистрация глубокой гранулоцитопении (90,8 % против 2,3 %) длительностью более 3 нед (92,3 % против 49,4 %), $p < 0,001$ [9]. В рамках этого исследования при многофакторном анализе независимым предиктором развития ИА стало наличие гранулоцитопении длительностью более 3 нед (отношение шансов 7,01; $p = 0,002$).

Необходимо отметить, что при одинаковой продолжительности гранулоцитопении нами были выявлены различия в частоте инфекционных осложнений у больных ОМЛ и ОЛЛ. Так, инфекции преобладали у больных ОМЛ в сравнении с больными ОЛЛ, как при наличии гранулоцитопении (96 % против 45 %, $p < 0,0001$), так и при ее отсутствии (27 % против 4 %, $p = 0,02$). У больных ОМЛ вне зависимости от длительности гранулоцитопении частота инфекционных осложнений была высокой и составляла 92–100 %, а у больных ОЛЛ этот показатель возрастал с 25–33 до 91 % при увеличении периода гранулоцитопении с 2 нед и менее до 22 дней и более.

Были выявлены различия в характере инфекционных осложнений у больных ОМЛ и ОЛЛ. Вероятность развития ЛНЭ и КДИ была статистически значимо выше у больных ОМЛ в сравнении с больными ОЛЛ, в то время как вероятность возникновения бактериемии и ИА была сопоставимой. Однако, несмотря на сопоставимую вероятность возникновения ИА в анализируемых группах, у больных ОМЛ были зафиксированы случаи более раннего развития ИА (с 6-го по 16-й дни гранулоцитопении), в отличие от больных ОЛЛ, у которых первый случай этой инфекции был зафиксирован только на 28-й день гранулоцитопении.

Заключение

Гранулоцитопения являлась предиктором развития инфекционных осложнений у больных ОМЛ и ОЛЛ. Так, доля инфекций в период гранулоцитопении составила 80 %, а вне гранулоцитопении – только 6 %. Корреляция между длительностью гранулоцитопении и частотой инфекций была выявлена у больных ОЛЛ, в то время как у больных ОМЛ такая зависимость отсутствовала. Частота инфекций у больных ОЛЛ возрастала с 25–33 до 91 % при удлинении

периода гранулоцитопении с 1–14 до 22 дней и более, а у больных ОМЛ была высокой при любой продолжительности гранулоцитопении и составила 92–100 %.

С удлинением гранулоцитопении изменялся характер инфекционных осложнений. Как у больных

ОМЛ, так и у больных ОЛЛ при гранулоцитопении до 2 нед в спектре инфекций преобладали ЛНЭ, КДИ и бактериемия, а при гранулоцитопении от 28 дней и более существенно увеличивалась вероятность развития ИА, которая достигла 66 % к 55-му дню гранулоцитопении.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Клясова Г.А., Охмат В.А. Антимикробная терапия. В кн.: Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Т. 2. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика 2018. С. 1067–117. [Klyasova G.A., Okhmat V.A. Antimicrobial therapy. In: Algorithms of diagnosing and protocols of treatment of blood system diseases. Ed.: V.G. Savchenko. Vol. 2. M.: Praktika 2018. P.1067–114. (In Russ.)].
2. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Афанасьев Б.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению острых миелоидных лейкозов взрослых. Гематология и трансфузиология 2014;59(S2):2–29. [Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Afanasyev B.V. et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of acute myeloid leukemia in adults. *Gematologiya i Transfusiologiya* = Hematology and Transfusiology 2014;59(S2):2–29. (In Russ.)].
3. Паровичникова Е.Н., Клясова Г.А., Исаев В.Г. и др. Первые итоги терапии Ph-негативных острых лимфобластных лейкозов взрослых по протоколу Научно-исследовательской группы гематологических центров России ОЛЛ-2009. Терапевтический архив 2011;83(7):11–7. [Parovichnikova E.N., Klyasova G.A., Isaev V.G. et al. Pilot results of therapy of adult Ph-negative acute lymphoblastic leukemia according to the protocol of Research Group of Russian Hematological Centers ALL-2009. *Terapevticheskiy Arkhiv* = Therapeutic archive 2011;83(7):11–7. (In Russ.)].
4. De Pauw B., Walsh T.J., Donnelly J.P. et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European organization for research and treatment of cancer/invasive fungal infections cooperative group and the national institute of allergy and infectious diseases mycoses study group (EORTC/MSG) consensus group. *Clin Infect Dis* 2008;46(12):1813–21. DOI: 10.1086/588660. PMID: 18462102.
5. Bodey G.P., Buckley M., Sathe Y.S., Freireich E.J. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1966;64(2):328–40. DOI: 10.7326/0003-4819-64-2-328. PMID: 5216294.
6. Di Blasi R., Cattaneo C., Lewis R.E. et al. Febrile events in acute lymphoblastic leukemia: a prospective observational multicentric SEIFEM study (SEIFEM-2012/B ALL). *Ann Hematol* 2018;97(5):791–8. DOI: 10.1007/s00277-018-3252-6. PMID: 29411126.
7. Gerson S.L., Talbot G.H., Hurwitz S. et al. Prolonged granulocytopenia: the major risk factor for invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1984;100(3):345–51. DOI: 10.7326/0003-4819-100-3-345. PMID: 6696356.
8. Portugal R.D., Garnica M., Nucci M. Index to predict invasive mold infection in high-risk neutropenic patients based on the area over the neutrophil curve. *J Clin Oncol* 2009;27(23):3849–54. DOI: 10.1200/JCO.2008.21.0856. PMID: 19597026.
9. Kaya S., Gençaliolu E., Sönmez M., Köksal I. The importance of risk factors for the prediction of patients with invasive pulmonary aspergillosis. *Rev Assoc Med Bras* 2017;63(9):764–70. DOI: 10.1590/1806-9282.63.09.764. PMID: 29239468.

Вклад авторов

В.А. Охмат: концепция, дизайн и написание статьи, сбор и обработка данных, анализ и интерпретация результатов;
Г.А. Клясова: концепция, дизайн и написание статьи, предоставление материалов исследования, сбор и обработка данных, анализ и интерпретация результатов, окончательное одобрение рукописи;
Е.Н. Паровичникова: предоставление материалов исследования, интерпретация результатов, участие в написании статьи;
В.Н. Двирник: выполнение цитологических исследований;
В.В. Троицкая, Е.О. Грибанова: предоставление материалов исследования;
В.Г. Савченко: предоставление материалов исследования; окончательное одобрение рукописи.

Authors' contributions

V.A. Okhmat: concept, design and article writing, data collection, analysis and interpretation of results;
G.A. Klyasova: concept, design and article writing, data collection, provision of materials, analysis and interpretation of results, final approval of the article;
E.N. Parovichnikova: provision of materials, interpretation of data, participating in article writing;
V.N. Dvirnik: performance of cytology;
V.V. Troitskaya, E.O. Gribanova: provision of materials;
V.G. Savchenko: provision of materials, final approval of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.А. Охмат / V.A. Okhmat: <http://orcid.org/0000-0002-6195-4508>
Г.А. Клясова / G.A. Klyasova: <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>
Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>
В.Н. Двирник / V.N. Dvirnik: <https://orcid.org/0000-0002-9808-8519>
В.В. Троицкая / V.V. Troitskaya: <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>
Е.О. Грибанова / E.O. Gribanova: <http://orcid.org/0000-0002-4155-7820>
В.Г. Савченко / V.G. Savchenko: <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interests. Authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Инфекционные осложнения у больных множественной миеломой в период первого курса химиотерапии

А.А. Новикова, Г.А. Клясова, Е.О. Грибанова, В.А. Охмат, В.В. Рыжко, В.Г. Савченко

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России;
Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский проезд, 4

Контакты: Анна Александровна Новикова annanovikova11@mail.ru

Цель исследования — изучить структуру инфекционных осложнений и факторы, оказывающие влияние на их развитие, у больных *de novo* множественной миеломой (ММ) в период 1-го курса полихимиотерапии (ПХТ).

Материалы и методы. Исследование включало больных *de novo* ММ, которым проводилось лечение с января 2013 по ноябрь 2017 г. в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России.

Результаты. В исследование включено 156 больных *de novo* ММ (медиана возраста 61 год). Период наблюдения составил от 21 до 82 дней (медиана 26 дней), 1-й курс ПХТ включал бортезомиб. Инфекционные осложнения развились у 77 (49,4 %) больных с впервые выявленной ММ, из них у 29 (37,7 %) — при поступлении, у 48 (62,3 %) — во время лечения. Инфекционный процесс был изолированным у 47 (61 %) больных, у 30 (39 %) протекал с поражением нескольких органов или систем. Ведущую позицию среди инфекций занимали пневмонии (62,3 %), также наблюдались инфекции мочевыводящих путей (27,3 %) и герпесвирусные инфекции (24,7 %). Лихорадка отсутствовала у 30 % больных с инфекцией. Статистически значимыми факторами, ассоциированными с развитием инфекционных осложнений у больных при поступлении и в период ПХТ, были статус 4 балла по шкале ECOG, анемия, гиперкальциемия, гуморальный иммунодефицит, перевод на лечение из другого стационара, применение антибиотиков до первого курса химиотерапии. Дополнительными факторами развития инфекций у больных при поступлении оказались III стадия ММ по Durie — Salmon, наличие парезов, нижней параплегии и нарушения функций тазовых органов, а во время лечения — III стадия ММ по ISS и наличие почечной недостаточности. Инфекции имели место значимо реже у больных ММ с I стадией по ISS (7,8 %). Летальность после 1-го курса ПХТ составила 1,9 % по причине пневмонии и острой дыхательной недостаточности.

Заключение. Отмечена высокая частота инфекций у больных *de novo* ММ в период проведения 1-го курса ПХТ, ведущим осложнением были пневмонии. Факторами, ассоциированными с развитием инфекционных осложнений, были III стадия заболевания, тяжелое состояние, перевод из другого стационара, гуморальный иммунодефицит, почечная недостаточность.

Ключевые слова: множественная миелома, инфекции, факторы риска

Для цитирования: Новикова А.А., Клясова Г.А., Грибанова Е.О. и др. инфекционные осложнения у больных множественной миеломой в период первого курса химиотерапии. Онкогематология 2018;13(3):63–75

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-63-75

Infectious complications in patients with multiple myeloma on first chemotherapy cycle

A.A. Novikova, G.A. Klyasova, E.O. Griбанova, V.A. Okhmat, V.V. Ryzhko, V.G. Savchenko

National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Noviy Zыkovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

The aim of the study was to evaluate the profile and risk factors for acquisition of infections in patients with *de novo* multiple myeloma (MM) on the 1st chemotherapy cycle (CC).

Materials and methods. Study included patients with *de novo* MM undergoing chemotherapy from January 2013 till November 2017 in National Research Center for Hematology, Russia.

Results. A total of 156 patients with *de novo* MM (median age 61 years) were included in the study. Follow-up period was 21–82 days (median 26 days), first CC contained bortezomib. Infections occurred in 77 (49.4 %) of patients with MM, from them 29 (37.7 %) — on admission, 48 (62.3 %) — throughout treatment. Solitary infections were in 47 (61%) of patients, multiple infections — in 30 (39 %) of patients. The most prevalent type of infection was pneumonia (62.3 %), followed by urinary tract infections (27.3 %) and herpesvirus infections (24.7 %). 30% of patients with infections were afebrile. Significant risk factors associated with infections at admission and during CC were ECOG score 4, anemia, hypercalcemia, humoral immunodeficiency, admission from other hospital, use of antibiotics prior to first CC. Additional risk factors for infections at admission were Durie–Salmon stage III MM, paresis, lower extremity paraplegia and dysfunction of the pelvic organs, whereas during treatment — ISS stage III MM and renal failure. Infections were uncommon in patients with ISS stage I MM (7.8 %). Mortality after 1st CC was 1.9 % caused by pneumonia and acute respiratory failure.

Conclusions. Patients with *de novo* MM undergoing 1st CC had high incidence of infections with a prevalence of pneumonia. Factors associated with infections were stage III MM, serious illness, admission from other hospital, humoral immunodeficiency, and renal failure.

Key words: multiple myeloma, infections, risk factors

For citation: Novikova A.A., Klyasova G.A., Gribanova E.O. et al. Infectious complications in patients with multiple myeloma on first chemotherapy cycle. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2018;13(3):63–75

Введение

Множественная миелома (ММ) — это злокачественная опухоль, морфологическим субстратом которой являются плазматические клетки, продуцирующие моноклональный иммуноглобулин. На долю ММ приходится около 1 % всех злокачественных опухолей и 10 % гемопоэтических опухолей [1].

В последнее время возможности лечения ММ значительно расширились благодаря внедрению новых препаратов, в частности иммуномодулирующих средств и протеасомных ингибиторов. В то же время актуальными остаются инфекционные осложнения, вероятность развития которых в первые полгода после диагностики заболевания составляет от 20 до 55 % [2]. Число публикаций по анализу инфекций у больных ММ невелико, а результаты противоречивы. Так, в одних исследованиях было отмечено, что применение новых противоопухолевых препаратов привело к расширению спектра возбудителей, увеличению частоты инфекционных осложнений, вызванных как бактериями, так и грибами, в других, напротив, к их снижению [3, 4]. Во многих работах была установлена высокая вероятность реактивации герпесвирусной инфекции при использовании программ химиотерапии, включающих бортезомиб. Частота инфекции, вызванной *Herpes zoster*, варьировала от 13 до 36 % [5].

Инфекции вполне определенно усугубляют состояние больных, в ряде случаев могут приводить к удлинению перерывов между курсами химиотерапии, ухудшению результатов лечения и могут быть расценены как неблагоприятный прогностический фактор в общей выживаемости больных ММ. Поэтому крайне важны своевременная диагностика инфекционных осложнений и проведение адекватной противомикробной терапии.

Целью нашего исследования было изучение структуры инфекционных осложнений и факторов, влияющих на их развитие, у больных *de novo* ММ в период 1-го курса химиотерапии.

Материалы и методы

В исследование были включены больные с впервые выявленной ММ, госпитализированные в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (НМИЦ гематологии) с января 2013 по ноябрь 2017 г. Диагноз ММ устанавливали на основании критериев, разработанных International Myeloma Working Group (IMWG) в 2014 г. [6]. Стадирование ММ проводили по классификациям Durie–Salmon [7] и Международной системе стадирования (International Staging System, ISS) [8].

При поступлении в стационар больным проводили оценку тяжести состояния по шкале Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) [9]. Наличие гуморального иммунодефицита подтверждали снижением в сыворотке крови нормальных иммуноглобулинов класса G ниже 95 МЕ/мл, иммуноглобулинов класса M — ниже 60 МЕ/мл.

У всех больных 1-й курс полихимиотерапии (ПХТ) включал бортезомиб [10]. Инфекционным эпизодом считали инфекционное осложнение, возникшее от момента госпитализации в наш центр и до начала 2-го курса ПХТ. Инфекции, диагностированные у 1 больного в течение 3 дней, относили к 1-му эпизоду инфекции. Последующим эпизодом инфекции считали инфекционные осложнения, которые развились в срок от 4 дней и более после 1-го эпизода инфекции. При возникновении инфекционных осложнений проводили диагностические исследования согласно протоколу, принятому в ФГБУ «НМИЦ гематологии» [11].

При возникновении у пациентов температуры 38 °C и выше брали кровь для гемокультуры из периферической вены и центрального венозного катетера во флаконы автоматического анализатора гемокультур ВАСТЕК (Becton — Dickinson, США), исследование повторяли каждые 5 дней при сохранении температуры. При наличии симптомов инфекции диагностически значимым считали однократное выделение из гемокультуры грамотрицательных микроорганизмов, а также таких грамположительных бактерий, как *Streptococcus* группы *viridans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus* spp. Выделение коагулазонегативных стафилококков и *Corynebacterium* spp. подтверждали 2 гемокультурами.

Больным с пневмонией проводили бронхоскопию с бронхоальвеолярным лаважом (БАЛ) и последующим исследованием жидкости БАЛ, которое включало световую микроскопию с окраской по Граму и флуоресцентную с окраской калькофлуором белым, предназначенную для выявления мицелия грибов, культуральное исследование бактерий и грибов, включая легионеллы, определение антигена *Aspergillus*, определение дезоксирибонуклеиновой кислоты пневмоциста и проведение реакции непрямой иммунофлуоресценции с целью диагностики инфекции, вызванной *Pneumocystis jirovecii* [11].

Клинически доказанными инфекциями (КДИ) считали те случаи, которые были верифицированы с помощью физикальных или инструментальных методов диагностики при отсутствии микробиологического подтверждения. Микробиологически доказанные инфекции (МДИ) были подтверждены

выделением микроорганизмов. К лихорадке неясной этиологии (ЛНЭ) относили те случаи, когда была только температура 38°C и выше без клинического и микробиологического подтверждения.

Инфекцию мочевыводящих путей относили к КДИ при наличии симптомов дизурии в сочетании с лейкоцитурией и бактериурией без микробиологического подтверждения. Микробиологически доказанной считали инфекцию мочевыводящих путей, если при исследовании мочи выявляли 1 микроорганизм в количестве от 10³ КОЕ/мл и более, 2 микроорганизма в количестве 10⁵ КОЕ/мл в 1 исследовании или в количестве от 10⁴ КОЕ/мл в 2 последовательных исследованиях.

При диарее определяли токсин *Clostridium difficile* в кале иммуноферментным методом. Диарею, ассоциированную с *C. difficile*, относили к МДИ.

Диагностику герпесвирусов проводили методом полимеразной цепной реакции. Исследовали вирус-специфическую дезоксирибонуклеиновую кислоту вируса простого герпеса 1-го, 2-го типов, вируса Эпштейна–Барр, цитомегаловируса и определяли титры антител к ним. Герпесвирусные инфекции относили к КДИ.

При выявлении инфекционных осложнений назначали антибиотики 1-го этапа (амоксциллин/клавуланат, цефтриаксон, цефоперазон, цефоперазон/сульбактам, фторхинолоны). Модификацию противомикробной терапии проводили согласно результатам микробиологических исследований.

При отсутствии эффекта выполняли замену антибиотиков 1-го этапа антибиотиками 2-го этапа (цефоперазон/сульбактам, фторхинолоны, карбапенемы).

Для проведения анализа была создана база данных, включающая демографические, клинические и лабораторные показатели. Статистический анализ проводили с помощью программы SPSS. Для сравнения качественных признаков применяли точный критерий Фишера (p_F). Для сравнения количественных признаков применяли U -критерий Манна–Уитни. Построение кривых выживаемости проводили по методике Каплана–Майера. Статистически значимыми считали различия при степени вероятности безобочного прогноза 95 % ($p \leq 0,05$).

Результаты

В исследование было включено 156 больных *de novo* ММ в возрасте от 23 до 87 лет (медиана возраста 61 год). Характеристика больных *de novo* ММ представлена в табл. 1. Преобладали пациенты в возрасте от 60 лет и старше (55,8 %). У большинства больных была диагностирована ММ III стадии по классификациям Durie–Salmon (79,5 %) и ISS (57,7 %), протекающая с секрецией парапротеина G (59,6 %).

Из других стационаров в наш центр было переведено 43 (27,6 %) больных, причем 4 (2,6 %) из них были госпитализированы непосредственно в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). В тяжелом и крайне тяжелом состоянии (статус по шкале ECOG 3–4 балла) поступили 45,5 % больных. Тяжесть

Таблица 1. Характеристика больных *de novo* множественной миеломой при первом поступлении в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России

Table 1. Characteristics of patients with *de novo* multiple myeloma on first admission to National Research Center for Hematology

Показатель Variable	Число больных, абс. (%) Patients, abs. (%)
Число больных Patients	156
Соотношение мужчины/женщины Male/female ratio	75/81
Возраст, медиана (диапазон), лет Age, median (range), years	61 (23–87)
Распределение по возрасту, лет: Age distribution, years:	
23–59	69 (44,2)
60–87	87 (55,8)
Стадия ММ по Durie–Salmon: Durie–Salmon stage of MM:	
I	3 (1,9)
II	29 (18,6)
III	124 (79,5)
Стадия ММ по ISS: ISS stage of MM:	
I	31 (19,9)
II	35 (22,4)
III	90 (57,7)

Таблица 1 (окончание)
End of Table 1

Показатель Variable	Число больных, абс. (%) Patients, abs. (%)
Иммунохимический вариант ММ: Paraprotein class:	
G	93 (59,6)
A	23 (14,7)
свободные легкие цепи light chain	34 (21,8)
другие (несекретирующая, биклональная) other (non-secretory, biclonal)	6 (3,9)
ЛДГ >378 Е/л LDH >378 IU/L	77 (49,4)
Гиперкальциемия >2,65 ммоль/л Hypercalcemia >2.65 mmol/L	46 (29,5)
Гемоглобин <100 г/л Hemoglobin <100 g/L	79 (50,6)
Число лейкоцитов < 3,0×10 ⁹ /л WBC count <3.0×10 ⁹ /L	4 (2,6)
Нормальные иммуноглобулины класса G <95 МЕ/мл Normal IgG <95 IU/mL	135 (86,5)
Иммуноглобулины класса М <60 МЕ/мл IgM <60 IU/mL	127 (81,4)
Тяжесть состояния больных по шкале ECOG, баллы: ECOG performance status, score:	
1	39 (25)
2	46 (29,5)
3	47 (30,1)
4	24 (15,4)
Перевод из другого стационара Admission from other hospital	43 (27,6)
Госпитализация в ОРИТ при поступлении Admission to ICU	4 (2,6)
Сопутствующие заболевания Concomitant diseases	132 (84,6)
Почечная недостаточность Renal failure	49 (31,4)
Диализ-зависимая почечная недостаточность Dialysis-dependent renal failure	7 (4,5)
Парезы Paresis	13 (83)
Нижняя параплегия, нарушение функции тазовых органов Lower extremity paraplegia, dysfunction of the pelvic organs	9 (5,8)
Болевой синдром, требующий обезболивания наркотическими анальгетиками Pain requiring opioid analgesics	44 (28,2)
Инфекции при поступлении Infections on admission	29 (18,6)
Антибиотики в течение 1 мес до ПХТ Use of antibiotics during 1 month prior to CC	26 (16,7)

Примечание. ММ — множественная миелома; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; ОРИТ — отделение реанимации и интенсивной терапии; ПХТ — полихимиотерапия.

Note. MM — multiple myeloma; LDH — lactate dehydrogenase; ICU — intensive care unit; CC — chemotherapy cycles.

состояния была обусловлена как ММ, так и сопутствующими заболеваниями, которые имели 84,6 % больных, и их число у 1 больного варьировало от 1 до 5. Среди сопутствующих заболеваний преобладали гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет 2-го типа, характерные для больных старшей возрастной группы.

В дебюте заболевания отмечались болевой синдром, требующий обезболивания наркотическими анальгетиками у 44 (28,2 %) больных, анемия у 79 (50,6 %), гиперкальциемия у 46 (29,5 %), почечная недостаточность у 49 (31,4 %), в том числе с необходимостью проведения гемодиализа у 7 (4,5 %). Парезы и нижняя параплегия, нарушения функций тазовых органов осложняли состояние у 13 (8,3 %) и 9 (5,8 %) больных соответственно.

Гуморальный иммунодефицит был у большинства больных. Снижение концентрации нормальных иммуноглобулинов класса G было обнаружено у 86,5 % больных, иммуноглобулинов класса M — у 81,4 %.

При поступлении не было гранулоцитопении (гранулоцитов $<0,5 \times 10^9/\text{л}$), а лейкопения (число лейкоцитов $<3,0 \times 10^9/\text{л}$) регистрировалась у 4 (2,6 %) больных. После проведения 1-го курса ПХТ гранулоцитопения развилась лишь у 4 (2,6 %) больных и была кратковременной (от 3 до 5 дней).

На момент госпитализации в наш центр 26 (16,7 %) больных получали антибиотики.

Наблюдение за больными составляло от 21 до 82 дней (медиана 26 дней). За этот период (с момента поступления в ФГБУ «НМИЦ гематологии» и до 2-го курса ПХТ) были изучены частота и структура инфекционных осложнений, а также факторы, ассоциированные с их развитием.

Инфекционные осложнения в этот период возникли у 77 (49,4 %) больных, из них у 29 (37,7 %) были диагностированы при поступлении, а у 48 (62,3 %) — во время лечения (табл. 2). Инфекционный процесс имел изолированный характер у 47 (61 %) больных, а у 30 (39 %) наблюдалось поражение нескольких органов или систем. За время наблюдения было зарегистрировано 117 эпизодов инфекции. Среднее число эпизодов инфекции у 1 больного составило 1,52 (от 1 до 5 эпизодов). На рис. 1 представлена вероятность развития инфекционных осложнений у больных *de novo* ММ, которая составила 54,6 % с медианой возникновения 38 дней. Основная доля инфекций была зарегистрирована в первые 18 дней пребывания больных в стационаре.

Среди инфекционных осложнений преобладали клинически доказанные инфекции. Ведущую позицию среди инфекций, диагностированных как при поступлении, так и в процессе лечения, занимали пневмонии (89,7 и 62,3 % соответственно), далее следовали синуситы (17,2 и 10,4 %, соответственно) и инфекции мочевыводящих путей (13,8 и 27,3 % соответственно) (см. табл. 2). Пневмоцистная

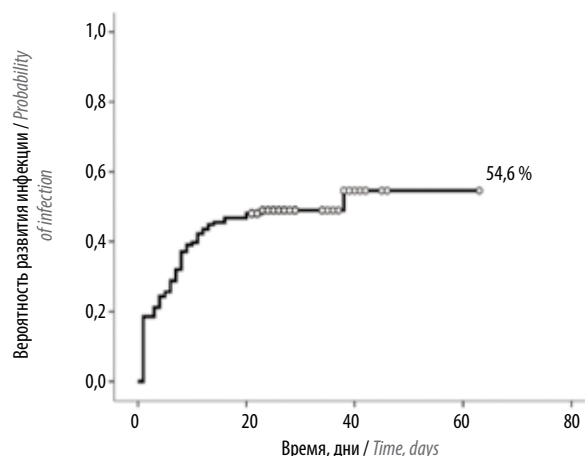


Рис. 1. Вероятность развития инфекции у больных *de novo* множественной миеломой в период 1-го курса полихимиотерапии

Fig. 1. The probability of infection in patients with *de novo* multiple myeloma during the 1st chemotherapy cycle

пневмония была диагностирована у 4 (5,2 %) больных, инвазивный аспергиллез легких — у 1 (1,3 %). За период наблюдения вероятность развития пневмонии у 156 больных *de novo* ММ составила 31 %, инфекции мочевыводящих путей — 16,1 %, герпесвирусной инфекции — 24,8 % (рис. 2). Возникновение пневмоний наблюдалось в более ранние сроки госпитализации по сравнению с другими инфекциями. Так, пневмонии в 41 (85 %) из 48 случаев были зарегистрированы в первые 10 дней пребывания больных в нашем центре, а основная доля инфекций мочевыводящих путей (90 %, 19 случаев из 21) и герпесвирусных инфекций (84 %, 16 случаев из 19) возникла до 21-го дня госпитализации.

При сравнении инфекционных осложнений у больных при поступлении и в период 1-го курса ПХТ были выявлены различия, которые заключались в увеличении доли инфекций мочевыводящих путей с 13,8

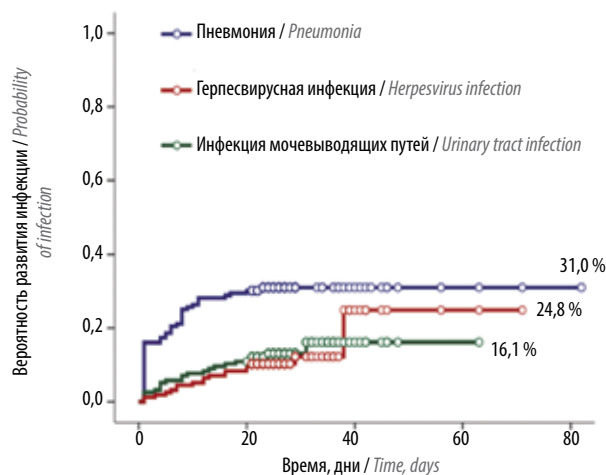


Рис. 2. Вероятность развития пневмонии, герпесвирусной инфекции и инфекции мочевыводящих путей у больных *de novo* множественной миеломой в период 1-го курса полихимиотерапии

Fig. 2. The probability of pneumonia, herpesvirus and urinary tract infection in patients with *de novo* multiple myeloma during the 1st chemotherapy cycle

Таблица 2. Инфекционные осложнения у больных *de novo* множественной миеломой при первом поступлении и в период первого курса полихимиотерапии**Table 2.** Infectious complications in patients with *de novo* multiple myeloma on first admission and during first chemotherapy cycle

Показатель Variable	Число больных с инфекцией, абс. (%) Patients with infections, abs. (%)	
	при поступлении on admission	в период 1-го курса ПХТ during 1st CC
Число больных Patients	29	77
Пневмония Pneumonia	26 (89,7)	48 (62,3)
Инфекция мочевыводящих путей: Urinary tract infection:	4 (13,8)	21 (27,3)
клинически доказанная clinically documented	2 (6,9)	11 (14,3)
микробиологически доказанная microbiologically documented	2 (6,9)	10 (13)
Герпесвирусная инфекция Herpesvirus infection	2 (6,9)	19 (24,7)
Синусит Sinusitis	5 (17,2)	8 (10,4)
Инфекция промежности Perineum infection	2 (6,9)	4 (5,2)
Бактериemia Bacteremia	—	4 (5,2)
Пневмоцистная пневмония Pneumocystis pneumonia	—	4 (5,2)
Лихорадка неясной этиологии Fever of unknown origin	—	4 (5,2)
Инфекция кожи и мягких тканей Skin and soft tissue infection	—	3 (3,9)
Инвазивный аспергиллез легких Invasive pulmonary aspergillosis	—	1 (1,3)
Диарея, обусловленная <i>Clostridium difficile</i> Diarrhea associated with <i>Clostridium difficile</i>	—	1 (1,3)

Примечание. ПХТ — полихимиотерапия.

Note. CC — chemotherapy cycles.

до 27,3 % и герпесвирусных инфекций с 6,9 до 24,7 % соответственно. Микробиологическое подтверждение инфекции мочевыводящих путей было у 10 (47,6 %) из 21 больных, из них у 5 были выделены *Enterococcus faecium* и у 5 — *Escherichia coli*. Из гемокультуры у 3 больных были выделены грамположительные бактерии (*Staphylococcus warneri* — 2, *S. pneumoniae* — 1) и у 1 — грамотрицательные (*E. coli* без продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС)).

У 4 (5,2 %) больных с температурой ≥ 38 °C не удалось выявить очаг инфекции и клинически значимые микроорганизмы. Эти случаи были отнесены к ЛНЭ.

Характеристика 1-го эпизода инфекции и последующих представлена в табл. 3. Повторные эпизоды

инфекции были зарегистрированы у 17 (22 %) больных. Достоверно чаще пневмонии диагностировали в 1-й эпизод инфекции в сравнении с последующим (59,7 % против 11,8 %, $p = 0,0003$), а инфекции кожи и мягких тканей — только в последующем эпизоде инфекции (17,7 % против 0, $p = 0,005$). Хотя статистически значимых отличий и не было получено, в последующем эпизоде инфекции в сравнении с 1-м преобладали инфекции мочевыводящих путей (41,2 % против 18,2 %, $p = 0,054$), а также герпесвирусные инфекции (35,3 % против 16,9 %, $p = 0,1$).

При анализе клинических проявлений инфекции следует отметить невысокую температуру вплоть до нормальных цифр при инфекционном процессе у больных ММ. Нормальная температура была

Таблица 3. Характеристика первого и последующего эпизодов инфекции у больных *de novo* множественной миеломой в период первого курса полихимиотерапии

Table 3. Characteristics of first and following episodes of infection in patients with *de novo* multiple myeloma during first chemotherapy cycle

Показатель Variable	Число больных с инфекцией, абс. (%) Patients with infections, abs. (%)		<i>p</i>
	1-й эпизод 1 st episode	последующий эпизод following episode	
Число больных Patients	77	17	—
Пневмония Pneumonia	46 (59,7)	2 (11,8)	0,0003
Инфекция мочевыводящих путей Urinary tract infection	14 (18,2)	7 (41,2)	0,054
Герпесвирусная инфекция Herpesvirus infection	13 (16,9)	6 (35,3)	0,1
Синусит Sinusitis	8 (10,4)	—	0,3
Пневмоцистная пневмония Pneumocystis pneumonia	4 (5,2)	—	1,0
Лихорадка неясной этиологии Fever of unknown origin	4 (5,2)	—	1,0
Инфекция промежности Perineum infection	3 (3,9)	1 (5,9)	0,6
Бактериemia Bacteremia	2 (2,6)	2 (11,8)	0,15
Инвазивный аспергиллез легких Invasive pulmonary aspergillosis	1 (1,3)	—	1,0
Инфекция кожи и мягких тканей Skin and soft tissue infection	—	3 (17,7)	0,005
Диарея, обусловленная <i>Clostridium difficile</i> Diarrhea associated with <i>Clostridium difficile</i>	—	1 (5,9)	0,2

зарегистрирована у 23 (30 %) из 77 больных с инфекцией, причем среди 29 больных с инфекцией при поступлении у 15 (51,7 %) была нормальная температура, а у 13 из них была выявлена пневмония, протекающая изолированно или в сочетании с другими инфекциями. В период ПХТ инфекционный процесс протекал без температуры в основном при герпесвирусных инфекциях (66,7 %, у 8 из 12 больных). У 4 больных с нормальной температурой были зарегистрированы грамположительная бактериemia (*S. warneri*), микробиологически доказанные инфекции мочевыводящих путей (*E. faecium*, *E. coli*), пневмония и синусит.

Проведен анализ факторов, ассоциированных с развитием инфекционных осложнений у больных *de novo* ММ при поступлении и в период 1-го курса ПХТ. Выявлены статистически значимые факторы, ассоциированные с развитием инфекции как у больных при первом поступлении в наш центр, так и в процессе ПХТ (табл. 4, 5) и к ним были отнесены статус 4 балла по шкале ECOG, перевод на лечение

из другого стационара, применение антибиотиков до 1-го курса ПХТ, анемия, гиперкальциемия, гуморальный иммунодефицит (см. табл. 4). Дополнительными статистически значимыми факторами, ассоциированными с развитием инфекции при поступлении, оказались III стадия ММ по Durie–Salmon (96,6 % против 75,6 %, $p = 0,01$), наличие парезов (24,1 % против 4,7 %, $p = 0,003$), а также нижней параплегии и нарушения функций тазовых органов (17,2 % против 3,1 %, $p = 0,01$), а во время лечения — III стадия ММ по классификации ISS (72,7 % против 43,1 %, $p = 0,0002$) и наличие почечной недостаточности (46,8 % против 20,3 %, $p = 0,0006$). Частота инфекционных осложнений у больных с I стадией ММ по ISS была статистически значимо ниже в сравнении с другими стадиями, и они были зарегистрированы при поступлении только у 3,4 % больных ($p = 0,01$) и во время ПХТ — у 7,8 % ($p = 0,0002$). Такие факторы, как иммунохимический вариант ММ, сопутствующие заболевания, необходимость проведения гемодиализа, число

Таблица 4. Факторы, ассоциированные с развитием инфекции у больных *de novo* множественной миеломой при первом поступлении в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России

Table 4. Risk factors associated with acquisition of infections in patients with *de novo* multiple myeloma on first admission to National Research Center for Hematology

Показатель Variable	Инфекции при 1-м поступлении, абс. (%) Infections on 1 st admission, abs. (%)		<i>p</i>
	есть present	нет absent	
Число больных Patients	29	127	—
Стадия ММ по Durie—Salmon: Durie—Salmon stage of MM:			
I	—	3 (2,4)	1,0
II	1 (3,4)	28 (22)	0,02
III	28 (96,6)	96 (75,6)	0,01
Стадия ММ по ISS: ISS stage of MM:			
I	1 (3,4)	30 (23,6)	0,01
II	8 (27,6)	27 (21,3)	0,5
III	20 (69)	70 (55,1)	0,2
Гиперкальциемия >2,65 ммоль/л Hypercalcemia >2.65 mmol/L	17 (58,6)	29 (22,8)	0,0005
Гемоглобин <100 г/л Hemoglobin <100 g/L	21 (72,4)	58 (45,7)	0,01
Нормальные иммуноглобулины класса G <95 МЕ/мл Normal IgG <95 IU/mL	29 (100)	106 (83,5)	0,01
Иммуноглобулины класса М <60 МЕ/мл IgM <60 IU/mL	29 (100)	98 (77,2)	0,002
Тяжесть состояния больных по шкале ECOG, баллы: ECOG performance status, score			
1	2 (6,9)	37 (29,1)	0,016
2	5 (17,2)	41 (32,3)	0,12
3	9 (31,1)	38 (29,9)	0,8
4	13 (44,8)	11 (8,7)	0,0001
Перевод из другого стационара Admission from other hospital	19 (65,5)	24 (18,9)	0,0001
Парезы Paresis	7 (24,1)	6 (4,7)	0,003
Нижняя параплегия, нарушение функции тазовых органов Lower extremity paraplegia, dysfunction of the pelvic organs	5 (17,2)	4 (3,1)	0,01
Антибиотики в течение 1 мес до ПХТ Use of antibiotics during 1 month prior to CC	15 (51,7)	11 (8,7)	0,0001

Примечание. ММ — множественная миелома; ПХТ — полихимиотерапия.

Note. MM — multiple myeloma; CC — chemotherapy cycles.

лейкоцитов при поступлении, не повлияли на возникновение инфекции при поступлении и во время лечения.

Антибиотики были назначены 68 (88,3 %) больным, из них 10 больных дополнительно получали противовирусные препараты. Противовирусная терапия в монорежиме проводилась 9 (11,7 %) больным. Антибиотики, используемые у больных ММ, и их эффективность представлены в табл. 6.

В лечении инфекций на 1-м этапе среди антибиотиков преобладало назначение цефтриаксона или цефоперазона (64,6 %), далее следовали цефтриаксон/сульбактам (16,1 %) и фторхинолоны (13,3 %). Карбапенем (эртапенем) на 1-м этапе был назначен только 2 (3 %) больным, переведенным в наш центр из других стационаров и имевшим при поступлении тяжелую пневмонию и инфекцию мочевыводящих путей, вызванную *E. coli* с продукцией БЛРС. Один

Таблица 5. Факторы, ассоциированные с развитием инфекционных осложнений у больных *de novo* множественной миеломой в период первого курса полихимиотерапии

Table 5. Risk factors associated with acquisition of infections in patients with *de novo* multiple myeloma during first chemotherapy cycle

Показатель Variable	Инфекции в период 1-го курса ПХТ, абс. (%) Infections during 1 st CC, abs. (%)		p
	есть present	нет absent	
Число больных Patients	77	79	—
Стадия ММ по ISS: ISS stage of MM:			
I	6 (7,8)	25 (31,6)	0,0002
II	15 (19,5)	20 (25,3)	0,4
III	56 (72,7)	34 (43,1)	0,0002
Гиперкальциемия >2,65 ммоль/л Hypercalcemia >2.65 mmol/L	32 (41,6)	14 (17,7)	0,0015
Гемоглобин <100 г/л Hemoglobin <100 g/L	50 (64,9)	29 (36,7)	0,0005
Нормальные иммуноглобулины класса G <95 МЕ/мл Normal IgG <95 IU/mL	72 (93,5)	63 (79,7)	0,017
Иммуноглобулины класса М <60 МЕ/мл IgM <60 IU/mL	68 (88,3)	59 (74,7)	0,039
Тяжесть состояния больных по шкале ECOG, баллы: ECOG performance status, score			
1	12 (15,6)	27 (34,2)	0,01
2	18 (23,4)	28 (35,5)	0,1
3	26 (33,7)	22 (27,8)	0,5
4	21 (27,3)	2 (2,5)	0,0001
Перевод из другого стационара Admission from other hospital	33 (42,9)	10 (12,7)	0,0001
Почечная недостаточность Renal failure	36 (46,8)	16 (20,3)	0,0006
Антибиотики в течение 1 мес до ПХТ Use of antibiotics during 1 month prior to CC	22 (28,6)	4 (5,1)	0,0001

Примечание. ММ — множественная миелома; ПХТ — полихимиотерапия.

Note. MM — multiple myeloma; CC — chemotherapy cycles.

из больных, получавший карбапенем на 1-м этапе, был госпитализирован непосредственно в ОРИТ.

Применение антибиотиков на 1-м этапе было эффективным в 60,3 % случаев, причем практически во всех случаях излечение было достигнуто в режиме монотерапии. Только в 1 случае было добавление триметоприма/сульфометоксазола к цефоперазону по поводу пневмоцистной пневмонии. Замена антибиотиков 1-го этапа потребовалась в 27 (39,7 %) случаях по причине неэффективности. В качестве антибиотиков 2-го этапа преобладало назначение карбапенемов (29,4 %, $n = 20$). Несколько чаще назначали имипенем/циластатин или меропенем (20,6 %), чем эртапенем (14,7 %). Показанием для назначения карбапенемов чаще всего служила пневмония (у 18 из 20 больных), у 2 больных были синуситы

в сочетании с инфекцией мочевыводящих путей, вызванной *E. coli* (в 1 случае с продукцией БЛРС, во 2-м — без продукции БЛРС). Необходимость в замене антибиотиков 1-го этапа карбапенемами была у 12 (60 %) из 20 больных, переведенных из других стационаров и имевших инфекционный процесс при поступлении, причем у 11 (91,7 %) из 12 больных была пневмония.

Необходимость перевода больных в ОРИТ в период проведения 1-го курса ПХТ возникла у 8 пациентов, за исключением 2, поступивших непосредственно в ОРИТ в 1-й день госпитализации в наш центр. У 6 из 8 больных причиной перевода была острая дыхательная недостаточность вследствие пневмонии.

Летальность после 1-го курса химиотерапии составила 1,9 % ($n = 3$). Летальные исходы были

Таблица 6. Применение антибиотиков и их эффективность у больных *de novo* множественной миеломой в период первого курса полихимиотерапии**Table 6.** Using and efficacy of antibiotics in patients with *de novo* multiple myeloma during first chemotherapy cycle

Показатель Variable	Число больных, абс. (%) Patients, abs. (%)	Излечение, абс. (%) Convalescence, abs. (%)
Число больных Patients	68	—
Антибиотики 1-го этапа 1 st line antibiotics	68 (100)	41 (60,3)
амоксциллин/клавуланат amoxicillin/clavulanate	2 (3)	1 (50)
цефтриаксон или цефоперазон ceftriaxone or cefoperazone	44 (64,6)	25 (56,8)*
цефоперазон/сульбактам cefoperazone/sulbactam	11 (16,1)	6 (54,5)
фторхинолоны fluoroquinolones	9 (13,3)	7 (77,8)
эртапенем ertapenem	2 (3)	2 (100)
Антибиотики 2-го этапа 2 nd line antibiotics	27 (39,7)	24 (88,9)
цефоперазон/сульбактам cefoperazone/sulbactam	5 (7,4)	5 (100)
фторхинолоны fluoroquinolones	2 (2,9)	2 (100)
карбапенемы carbapenems	20 (29,4)	17 (85)
эртапенем ertapenem	10 (14,7)	6 (60)
имипенем/меропенем imipenem/meropenem	14 (20,6)	11 (78,6)

*Сочетание цефоперазона с триметопримом сульфаметоксазолом у 1 больного.

*Concomitant use of cefoperazone and trimethoprim/sulfamethoxazole in 1 patient.

зарегистрированы на 25, 42 и 71-е сутки пребывания в ФГБУ «НМИЦ гематологии» по причине пневмонии и острой дыхательной недостаточности. Все умершие больные были переведены из другого стационара, имели статус по шкале ECOG 4 балла, III стадию ММ по ISS, пневмонию при поступлении, получали антибиотики до перевода в наш центр.

Обсуждение

Частота инфекционных осложнений у больных ММ существенно ниже в сравнении с больными острыми лейкозами и составляет 6,8 % против 68,4 % соответственно. В то же время именно инфекции являются одной из основных причин летальности, особенно на ранних этапах лечения ММ [12]. Летальные исходы, регистрируемые в течение 1-го года лечения ММ, составляют от 6 до 31,7 % и обусловлены прежде всего инфекционными осложнениями [13]. Так, в исследовании В.М. Augustson соавт., включавшем 3107 больных *de novo* ММ с 1980 по 2002 г., была зарегистрирована 10 % летальность в течение 60 дней. Основной причиной смерти больных были инфекции, которые составили 45 % от 299 летальных исходов, а среди них преобладали пневмонии (66 %) [2]. Исследователями из Швеции были получены

сопоставимые результаты, согласно которым летальность в течение 60 дней составила 9,9 %, а в течение года — 26,7 % при анализе данных 9253 больных, включенных в исследование с 1988 по 2004 г. Среди причин летальных исходов как в первые 2 мес, так и в течение года преобладали инфекции и составили 22 % [4]. В исследовании И.Ю. Тороповой и соавт. при анализе частоты инфекционных осложнений у больных гемобластомами в многопрофильном стационаре летальность больных ММ на индукционном этапе лечения в период 4 курсов ПХТ была 28 % (9 из 32 больных) [14]. Причем из исследования были исключены 2 больных в связи с летальным исходом по причине тяжелой двусторонней пневмонии до начала программного лечения.

В нашей работе летальность от момента госпитализации в наш центр и до 2-го курса ПХТ (медиана наблюдения за больными 26 дней) составила 1,9 % и все летальные исходы были обусловлены пневмонией и острой дыхательной недостаточностью, как в работах других исследователей.

Число исследований по анализу инфекций у больных ММ невелико, тем не менее в них подчеркнута высокая вероятность развития инфекционных осложнений на ранних этапах лечения. В многоцентровом

рандомизированном исследовании Frontline Investigation of Revlimid and Dexamethasone vs. Standard Thalidomide (FIRST) инфекционные осложнения были зарегистрированы у 1055 (65,5 %) из 1613 больных ММ в течение первых 18 мес лечения, из них 340 (21,1 %) были отнесены к тяжелым. Среднее число эпизодов инфекции у одного больного составило 1,9. Наибольшее число эпизодов инфекции было зафиксировано именно в 1-й месяц лечения (16,4 %). Отмечено, что 1-й эпизод тяжелой инфекции возник у 56,2 % из 340 больных в течение первых 4 мес от начала лечения, а в каждый последующий месяц лечения регистрировали не более 20 новых случаев тяжелой инфекции [15].

Расширение современных диагностических возможностей позволило уменьшить долю ЛНЭ в структуре инфекционных осложнений больных гемобластомами, и в настоящее время ведущими показаниями к проведению противомикробной терапии являются клинически и микробиологически доказанные инфекции, даже у больных острыми лейкозами [16]. Выявить источник инфекции наиболее сложно в период нейтропении. Однако у больных ММ она развивается редко, особенно на фоне лечения современными препаратами и, как правило, бывает недлительной. Так, в исследовании FIRST 75 % тяжелых инфекционных осложнений в первые 4 мес лечения возникали вне нейтропении [15].

Несмотря на низкую частоту детекции нейтропении, нами была выявлена немалая частота инфекционных осложнений у больных *de novo* ММ на 1-м курсе ПХТ, и вероятность их развития составила 54,8 %. Только у 5,2 % больных не удалось верифицировать очаг инфекции и выделить микроорганизмы. Столь низкую частоту ЛНЭ можно объяснить как отсутствием гранулоцитопении у больных *de novo* ММ, так и активным поиском возможного очага инфекции, включая проведение компьютерной томографии легких. Подтверждением являются результаты других исследователей. Так, в проспективном исследовании B.W. Teh и соавт. зарегистрировали 771 эпизод инфекции у 199 больных ММ (медиана наблюдения 33 мес) и отметили, что среди инфекционных осложнений преобладали клинически доказанные инфекции (44,6 %), далее следовали микробиологически доказанные инфекции (35,5 %) и лихорадка неясной этиологии (19,9 %) [17]. По результатам исследования многопрофильного стационара частота развития лихорадки неясной этиологии у больных ММ на этапе индукции также была ниже в сравнении с больными острыми лейкозами и лимфомами (21,2 % против 51–60 %) [14].

Спектр инфекционных осложнений у больных гемобластомами неодинаков по причине разных патофизиологических механизмов иммунодефицита, интенсивности программ лечения, развития гранулоцитопении и ее длительности. В нашем исследовании ведущую позицию среди инфекционных осложнений

занимали пневмонии (62,3 %), причем среди больных с инфекцией при поступлении этот показатель составил 89,7 %. В других исследованиях пневмонии в структуре инфекционных осложнений составляли 42,4 % [14, 17]. Более высокая частота регистрации пневмоний в нашем исследовании могла быть обусловлена ограниченным периодом анализа от 21 до 82 дней, а в большинстве исследований этот период занимал от 60 до 180 дней, и, возможно, более активным проведением диагностических исследований. Частота регистрации бактериемии и инфекций кожи и мягких тканей в исследовании B.W. Teh и соавт. составила 13 и 12,2 % соответственно [17], в нашем — 5,2 и 3,9 % соответственно.

Наряду с бактериальными инфекциями отмечен высокий риск развития вирусных инфекций, среди которых преобладали инфекции, вызванные *Herpes zoster* [5]. Вирусы являются значимой причиной инфекции у больных ММ, особенно на фоне курсов химиотерапии, включающих бортезомиб, который оказывает сильное иммуносупрессивное воздействие на Т-клетки [18]. Использование бортезомиба увеличивает вероятность реактивации герпесвирусных инфекций и частота инфекции, вызванной *Herpes zoster*, составляла от 13 до 36 % [5]. В нескольких исследованиях было показано снижение частоты реактивации герпесвирусов до 4 % в результате профилактики противовирусными препаратами [19]. У больных, включенных в наше исследование, частота герпесвирусных инфекций составила 24,7 %. Только у 2 больных инфекция, вызванная *Herpes simplex*, была диагностирована при поступлении, а у 17 (89,5 %) из 19 больных герпесвирусная инфекция возникла в процессе химиотерапии.

Особенностью течения инфекционного процесса у больных ММ была невысокая температура вплоть до нормальных цифр. У части больных, имевших инфекцию, нормальная температура могла быть вследствие применения анальгетических и глюкокортикостероидных препаратов, а также антибиотиков как до поступления в наш центр, так и во время проведения ПХТ. Также следует отметить, что у больных ММ повышение температуры редко носит специфический характер, обусловленный заболеванием [3].

В нашей работе статистически значимыми факторами, ассоциированными с развитием инфекции в процессе лечения, были статус 4 балла по шкале ECOG, перевод на лечение из другого стационара, применение антибиотиков до 1-го курса химиотерапии, III стадия ММ по классификации ISS, наличие анемии, гиперкальциемии, почечной недостаточности и гуморального иммунодефицита. C. Dumontet и соавт. также выделяли статус по шкале ECOG ≥ 2 баллов и концентрацию гемоглобина ≤ 110 г/л среди факторов, ассоциированных с развитием тяжелых инфекций в первые 4 мес терапии [15]. В этом исследовании, в отличие от нашего, статистическими значимыми

в развитии инфекции были также концентрации лактатдегидрогеназы ≥ 200 Ед/л и бета-2-микроглобулина ≥ 6 мг/л в сыворотке крови. В исследовании В.В. Тей и соавт., как и в нашей работе, в период индукции значимым фактором развития оказалась стадия заболевания по ISS ≥ 2 и дополнительно высокая кумулятивная доза глюкокортикостероидов в течение 1 мес ($p < 0,01$) [17].

Заключение

Исследование продемонстрировало высокую частоту инфекционных осложнений (49,5 %) у больных *de novo* ММ в период проведения 1-го курса ПХТ, причем у 37,7 % из них инфекции были диагностированы в день госпитализации. Ведущими были пневмонии (62,3 %), далее следовали инфекции мочевыводящих путей (27,3 %) и герпесвирусные инфекции (24,7 %). Пневмонии развивались в более ранние сроки пребывания больных в стационаре, а инфекции мочевыво-

дящих путей и герпесвирусные инфекции — в более поздние. Особенностью клинических проявлений инфекционных осложнений была нормальная температура (30 %), что подтверждает необходимость проведения ряда диагностических исследований, включая компьютерную томографию легких, у больных с минимальными клиническими симптомами. Факторами, ассоциированными с развитием инфекционных осложнений, были III стадия заболевания, тяжелое состояние, перевод из другого стационара, гуморальный иммунодефицит, почечная недостаточность. Основными антибиотиками, используемыми в лечении инфекционных осложнений, были цефалоспорины III поколения (цефтриаксон или цефоперазон). Необходимость в применении карбапенемов была у 29 % больных, в основном при пневмониях, причем в половине случаев назначался эртапенем. Летальные исходы были у 3 (1,9 %) больных по причине пневмонии и острой дыхательной недостаточности.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Moreau P., San Miguel J., Sonneveld P. et al. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2017;28(4):52–61. DOI: 10.1093/annonc/mdx096. PMID: 28453614.
- Augustson B.M., Begum G., Dunn J.A. et al. Early mortality after diagnosis of multiple myeloma: analysis of patients entered onto the United Kingdom Medical Research Council trials between 1980 and 2002 — Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party. *J Clin Oncol* 2005; 23(36):9219–26. DOI: 10.1200/JCO.2005.03.2086. PMID: 16275935.
- Nucci M., Anaissie E. Infections in patients with multiple myeloma in the era of high-dose therapy and novel agents. *Clin Infect Dis* 2009; 49(8):1211–25. DOI: 10.1086/605664. PMID: 19769539.
- Blimark C.H., Holmberg E., Mellqvist U.H. et al. Multiple myeloma and infections: a population-based study on 9253 multiple myeloma patients. *Haematologica* 2015;100(1):107–13. DOI:10.3324/haematol.2014.107714. PMID: 25344526.
- Teh B.W., Slavin M.A., Harrison S.J., Worth L.J. Prevention of viral infections in patients with multiple myeloma: the role of antiviral prophylaxis and immunization. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2015;13(11):1325–36. DOI: 10.1586/14787210.2015.1083858. PMID: 26489539.
- Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Palumbo A. et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15(12):538–48. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5. PMID: 25439696.
- Durie B.G., Salmon S.E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment and survival. *Cancer* 1975;36(3):842–854. PMID: 1182674.
- Greipp P.R., San Miguel J., Durie B.G. et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2005;23(15):3412–20. DOI: 10.1200/JCO.2005.04.242. PMID: 15809451.
- Oken M.M., Creech R.H., Tormey D.C. et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982;5(6):649–55. PMID: 7165009.
- Менделеева Л.П., Покровская О.С., Рехтина И.Г. Протокол диагностики и лечения множественной миеломы. В кн.: Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Т. 2. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2018. С. 405–496. [Mendeleva L.P., Pokrovskaya O.S., Rekhtina I.G. Protocol of diagnosis and treatment of multiple myeloma. In: Algorithms of diagnosis and treatment protocols of blood diseases. Ed.: V.G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2018. Pp. 405–496. (In Russ.)].
- Клясова Г.А., Охмат В.А. Антимикробная терапия. В кн.: Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Т. 2. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2018. С. 1067–1113. [Klyasova G.A., Okhmat V.A. Antimicrobial therapy. In: Algorithms of diagnosis and treatment protocols of blood diseases. Ed.: V.G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2018. Pp. 1067–1113. (In Russ.)].
- Pagano L., Cairn M., Rossi G. et al. A prospective survey of febrile events in hematological malignancies. *Ann Hematol* 2012;91(5):767–74. DOI: 10.1007/s00277-011-1373-2. PMID: 22124621.
- Rios-Tamayo R., Sainz J., Martinez-Lopez J. et al. Early mortality in multiple myeloma: the time-dependent impact of comorbidity: A population-based study in 621 real-life patients. *Am J Hematol* 2016;91(7):700–4. DOI: 10.1002/ajh.24389. PMID: 27074204.
- Торопова И.Ю., Паровичникова Е.Н., Клясова Г.А. и др. Клинический мониторинг инфекционных осложнений у больных гемобластозами на фоне программной химиотерапии. *Гематология и трансфузиология* 2011;56(6):10–9. [Toropova I.Yu., Parovichnikova E.N., Klyasova G.A. et al. Clinical monitoring of infectious complications in hemoblastosis patients during programmed chemotherapy. *Gematologiya i transfusiologiya = Hematology and Transfusiology* 2011;56(6):10–9. (In Russ.)].
- Dumontet C., Hulin C., Dimopoulos M.A. et al. A predictive model for risk of early grade ≥ 3 infection in patients with multiple myeloma not eligible for transplant: analysis of the FIRST trial. *Leukemia* 2018;32(6):1404–13. DOI: 10.1038/s41375-018-0133-x. PMID: 29784907.
- Охмат В.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н. и др. Инфекционные осложнения у взрослых больных острыми лимфобластными лейкозами на разных этапах химиотерапии по протоколу ОЛЛ-2009. *Онкогематология*

- 2017;12(3):31–40. [Okhmat V.A., Klyasova G.A., Parovichnikova E.N. et al. Infections on different chemotherapy cycles in adult patients with acute lymphoblastic leukemia treated with ALL-2009 protocol. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2017;12(3):31–40. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-3-31-40.
17. Teh B.W., Harrison S.J., Wort L.J., et al. Risks, severity and timing of infections in patients with multiple myeloma a longitudinal cohort study in the era of immunomodulatory drug therapy. *Br J Haematol* 2015;171(1):100–8. DOI: 10.1111/bjh.13532. PMID: 26105211.
18. Li J., Li Y., Huang B. et al. Drug-induced modulation of T lymphocytes as a potential mechanism of susceptibility to infections in patients with multiple myeloma during bortezomib therapy. *Cell Biochem Biophys* 2015; 71(1):457–64. DOI: 10.1007/s12013-014-0224-x. PMID: 25343940.
19. de la Rubia J., Cejalvo M.J., Ribas P. Infectious complications in patients with newly diagnosed multiple myeloma: A complication from the past? *Leukemia & Lymphoma* 2015;57(2):258–68. DOI: 10.3109/10428194.2015.1088647. PMID: 26428053.

Вклад авторов

А.А. Новикова: концепция, дизайн и написание статьи, сбор и обработка данных, анализ и интерпретация результатов;
 Г.А. Клясова: концепция, дизайн и написание статьи, обработка данных, анализ и интерпретация результатов, окончательное одобрение рукописи;
 Е.О. Грибанова: концепция, предоставление материалов исследования, участие в написании статьи, анализ и интерпретация результатов, окончательное одобрение рукописи;
 В.А. Охмат: проведение статистического анализа;
 В.В. Рыжко: предоставление материалов исследования, интерпретация результатов;
 В.Г. Савченко: предоставление материалов исследования; окончательное одобрение рукописи.

Authors' contributions

A.A. Novikova: concept, design and article writing, data collection, analysis and interpretation of results;
 G.A. Klyasova: concept, design and article writing, data collection, provision of materials, analysis and interpretation of results, final approval of the article;
 E.O. Gribanova: concept, provision of materials, participating in article writing, interpretation of data, final approval of the article;
 V.A. Okhmat: statistical analysis;
 V.V. Ryzhko: provision of materials, interpretation of data;
 V.G. Savchenko: provision of materials, final approval of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Новикова / A.A. Novikova: <https://orcid.org/0000-0001-5339-2675>
 Г.А. Клясова / G.A. Klyasova: <https://orcid.org/0000-0001-5973-5763>
 Е.О. Грибанова / E.O. Gribanova: <https://orcid.org/0000-0002-4155-7820>
 В.А. Охмат / V.A. Okhmat: <https://orcid.org/0000-0002-6195-4508>
 В.В. Рыжко / V.V. Ryzhko: <https://orcid.org/0000-0003-1221-3495>
 В.Г. Савченко / V.G. Savchenko: <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 05.07.2018. **Принята к публикации:** 31.07.2018.

Article received: 05.07.2018. **Accepted for publication:** 31.07.2018.

Редкие случаи расхождения лабораторных признаков при диагностике лимфомы Беркитта у детей

И.А. Демина¹, О.И. Илларионова¹, Т.Ю. Вержбицкая^{2,3}, Г.А. Цаур^{2,3}, Е.Б. Русанова⁵, М.В. Горчакова⁵, Е.Е. Зуева^{5,6}, М.Б. Белогурова⁷, Г.И. Улейская⁸, Л.А. Щекина⁸, А.Н. Казакова¹, Е.А. Зеркаленкова¹, Ю.В. Ольшанская¹, Ю.Г. Абугова¹, Л.Г. Фечина^{2,3}, Н.В. Мякова¹, Е.В. Самочатова¹, А.А. Масчан¹, А.М. Попов¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149 Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

³ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026 Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

⁴Обособленное структурное подразделение «Российская детская клиническая больница» ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России; Россия, 119571 Москва, Ленинский проспект, 117;

⁵ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8;

⁶Ариэльский университет, факультет естественных наук, кафедра молекулярной биологии; Израиль, 40700 Ариэль;

⁷ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»; Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68а, лит. А;

⁸ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31»; Россия, 197110 Санкт-Петербург, проспект Динамо, 3

Контакты: Александр Михайлович Попов uraltymetry@gmail.com

Введение. Основными критериями постановки диагноза «лимфома Беркитта» (ЛБ) являются определение зрелого иммунофенотипа бластных клеток с экспрессией поверхностного IgM, выявление L3 морфологического варианта и наличие характерных перестроек гена *c-myc*.

Цель исследования — описание вариантов расхождения лабораторных признаков при диагностике ЛБ.

Материалы и методы. В настоящее исследование было включено 10 пациентов (8 мальчиков и 2 девочки) в возрасте от 1 до 18 лет. Основным критерием включения послужило выявление противоречий между данными иммунофенотипирования (ИФТ), морфологического и цитогенетического анализов.

Результаты. Нами описаны 2 случая с отсутствием перестроек гена *c-myc*. У 2 пациентов определялся L2 вариант морфологии, который противоречил наличию типичных для ЛБ перестроек гена *c-myc*. В 1 случае были описаны недифференцируемые бласты при наличии поверхностного IgM и отсутствии перестроек гена *c-myc*. У 8 пациентов отсутствовала экспрессия поверхностного IgM. Из них у 2 пациентов противоречивыми были данные одновременно ИФТ и морфологии, и основой для постановки диагноза стало обнаружение типичной транслокации *t(8;14)(q24;q32)*.

Заключение. Случаи, представленные в настоящей статье, и случаи, описанные в литературе, демонстрируют важность внимательного и комплексного подхода при оценке результатов лабораторных исследований в диагностике ЛБ.

Ключевые слова: лимфома Беркитта, бластные клетки в костном мозге, лабораторная диагностика

Для цитирования: Демина И.А., Илларионова О.И., Вержбицкая Т.Ю. и др. Редкие случаи расхождения лабораторных признаков при диагностике лимфомы Беркитта у детей. Онкогематология 2018;13(3):76–82

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-76-82

Rare cases of laboratory tests discrepancies in diagnostics of pediatric Burkitt lymphoma/leukemia

I.A. Demina¹, O.I. Illarionova¹, T.Yu. Verzhbitskaya^{2,3}, G.A. Tsaur^{2,3}, E.B. Rusanova⁵, M.V. Gorchakova⁵, E.E. Zueva^{5,6}, M.B. Belogurova⁷, G.I. Uleiskaya⁸, L.A. Shchekina⁸, A.N. Kazakova¹, E.A. Zerkalenkova¹, Yu.V. Olshanskaya¹, Yu.G. Abugova¹, L.G. Fechina^{2,3}, N.V. Miakova¹, E.V. Samochatova¹, A.A. Maschan¹, A.M. Popov¹

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia;

²Sverdlovsk Regional Clinical Children's Hospital No 1; 32 Serafimy Deryabinoy St., Ekaterinburg 620149, Russia;

³Research Institute of Medical Cell Technologies; 22a Karla Marksa St., Ekaterinburg 620026, Russia;

⁴Russian Children Clinical Hospital, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 117 Leninskiy Prospekt, Moscow 119571, Russia;

⁵I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; 6-8 L'va Tolstogo St., Saint Petersburg 197022, Russia;

⁶Ariel University, Faculty of Natural Sciences, Department of Molecular Biology. Ariel 40700, Israel

⁷St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Medical Assistance (Oncological); 68a Leningradskaya St., Pesochnyi, Saint Petersburg 197758, Russia

⁸City Clinical Hospital No. 31; 3 Dynamo Prospekt, Saint Petersburg 197110, Russia

Introduction. The main features of bone marrow blasts cells in Burkitt lymphoma/leukemia (BL) are L3 morphology, mature immunophenotype of blasts with surface IgM expression, and presence of typical MYC gene rearrangements.

The aim of the study was to show discrepancy examples in laboratory signs of BL.

Patients and methods. 10 patients (8 boys and 2 girls) aged 1 to 18 years were included in the present study. The inclusion criterion was the identification of discrepancies between flow cytometric, morphological and cytogenetic data.

Results. In 2 cases there were no rearrangements of the MYC gene. In 2 patients, the L2 morphological variant went against the presence of typical MYC gene rearrangements. In one case, undifferentiated blasts cells were described by morphology together with presence of surface IgM, and atypical genetics. In 8 patients, there was no expression of surface IgM. Of these, patients with absence of cytomorphological data cytometric and genetic data were controversial.

Conclusion. The cases presented in this study and the cases described in the literature demonstrate the importance of an attentive and comprehensive approach in evaluating the results of laboratory tests in the diagnosis of BL.

Key words: Burkitt lymphoma/leukemia, bone marrow blasts cells, laboratory investigation

For citation: Demina I.A., Illarionova O.I., Verzhbitskaya T.Yu. et al. Rare cases of laboratory tests discrepancies in diagnostics of pediatric Burkitt lymphoma/leukemia. *Onkologematologiya = Oncohematology* 2018;13(3):76–82

Лимфома Беркитта (ЛБ) – высокоагрессивная В-клеточная лимфома, составляющая примерно 2,5 % всех неходжкинских лимфом. Впервые как самостоятельное заболевание она была в прошлом веке описана Д. Беркиттом у африканских детей [1]. Все клинические группы ЛБ имеют сходные фенотип и профиль экспрессии генов, что отличает ее от других агрессивных В-клеточных лимфом [2, 3].

Диагностика ЛБ основывается на комбинации данных морфологического, цитогенетического и иммунофенотипического анализа [4]. В большинстве случаев картина костного мозга (КМ) при цитоморфологическом исследовании характеризуется пролиферацией опухолевых клеток морфологического варианта L3 по FAB-классификации [5]. Иммунофенотип также достаточно постоянен (BIV вариант острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) по классификации EGIL [6]) и включает экспрессию поверхностного IgM, пан-В-клеточных антигенов, BCL6, а также отсутствие белка BCL2. Более 90 % случаев ЛБ имеют перестройки в гене *c-myc*. Чаще всего встречается $t(8;14)(q24; q32)$. Перестройки $t(2;8)(p12; q24)$ и $t(8;22)(q24; q11)$ выявляются значительно реже [7]. Однако даже обнаружение классической перестройки гена *c-myc* не является абсолютным указанием на наличие ЛБ. Было установлено, что только в 61 % случаев наличия этих перестроек клетки имели морфологию L3, в 77 % – BIV-иммунофенотип, а в 85 % выявлялись дополнительные хромосомные аномалии [7]. Ранее нами было показано, что морфологический вариант L3 у детей встречается лишь у 75 % пациентов с BIV-ОЛЛ. В остальных случаях бласты имеют морфологический вариант L1, L2 или присутствуют клетки, которые можно отнести к 2 морфологическим вариантам [8].

Цель работы – описание вариантов расхождения лабораторных признаков при диагностике лимфомы Беркитта.

Материалы и методы

Нами были ретроспективно проанализированы данные иммунофенотипических, морфологических и цитогенетических исследований костного мозга 10 пациентов с верифицированным патоморфологическим диагнозом ЛБ (8 мальчиков и 2 девочки) в возрасте от 1 до 18 лет. Все пациенты были обследованы в период с 2010 по 2016 г. Основным критерием отбора послужило выявление противоречий между данными ИФТ, морфологии и цитогенетического анализа при наличии патоморфологического диагноза ЛБ.

Пациенты были обследованы в лабораториях ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва), Центра детской онкологии и гематологии ГБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница № 1» (Екатеринбург) и ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России (Санкт-Петербург).

Анализ иммунофенотипа клеток КМ проводили с использованием 4–8-цветной панели. Использовались моноклональные антитела (МКАТ), меченные флуоресцеинизотиоцианатом (FITC), R-фикоэритрином (PE), перидининхлорофилл-протеином (PerCP), аллофикоцианином (APC), tandemными конъюгатами: PE с цианином 7 (Cy7), PerCP с цианином 5.5 (Cy5.5) и APC с CyHbc/7, а также с красителями BV421 и BV510. В анализе применяли МКАТ к следующим антигенам: CD45, CD19, CD3, CD10, CD34, CD13, CD33, CD117, CD15, CD58, CD38, CD20, CD22, CD79a, CD7, CD5, NG2, IgM, k, l, TdT, MPO. Окрашивание образцов МКАТ выполняли согласно инструкции фирмы-производителя. Результаты анализировали с помощью программного обеспечения FACS Diva 6.1 (BD) и Kaluza 1.5a (Beckman Coulter, США). Анализировали не менее 10 тыс. ядросодержащих клеток. Опухолевые клетки выделяли на точечных графиках по экспрессии CD45, значениям параметра бокового светорассеяния

и экспрессии линейно-ассоциированного маркера CD19. Популяция клеток считалась позитивной, если более 20 % клеток экспрессировали исследуемый антиген на мембране или более 10 % внутриклеточно [6]. В качестве негативного контроля использовали сохранившиеся в образце нормальные клетки.

Стандартное кариотипирование проводили методом G-banding после суточного культивирования без митогенной стимуляции по ранее описанной методике [9], результаты записывали согласно международной цитогенетической номенклатуре ICSN 2016 [10]. Исследование методом FISH проводили с рядом специфических проб согласно инструкции производителей. Перестройки гена *c-myc* определяли с помощью зонда Vysis LSI C-MYC Breakapart (Abbott Molecular, США) на разрыв хромосомного региона 8q24.

Результаты

Общие закономерности распределения нетипичных результатов лабораторных исследований представлены на рис. 1.

В первых 2 случаях по результатам проведенного исследования FISH классические хромосомные

	slgM	L3	MYC+
Пациент № 1 / Patient 1			
Пациент № 2 / Patient 2			
Пациент № 3 / Patient 3			
Пациент № 4 / Patient 4			
Пациент № 5 / Patient 5			
Пациент № 6 / Patient 6			
Пациент № 7 / Patient 7			
Пациент № 8 / Patient 8			
Пациент № 9 / Patient 9			
Пациент № 10 / Patient 10			

Рис. 1. Наличие (зеленый цвет) или отсутствие (красный цвет) данного лабораторного признака лимфомы Беркитта у 10 исследованных пациентов. Серым цветом обозначено отсутствие данных
Fig. 1. Presence (green color) or absence (red color) of this laboratory Burkitt's lymphoma sign in 10 studied patients

перестройки гена *c-myc* не были обнаружены при наличии поверхностной экспрессии IgM. В 1 случае L3-морфология бластов и наличие экстрамедуллярного поражения яичников позволили по совокупности данных установить диагноз ЛБ. Во 2-м случае морфологическое описание бластных клеток не позволило четко классифицировать их по типу. В 3-м случае L2-морфология не соответствовала основному клиническому диагнозу ЛБ. Все случаи с 4-го по 10-й имели общую черту — отсутствие поверхностной экспрессии IgM. Среди них у 1 пациента (№ 8) диагнозу ЛБ не соответствовала также морфологическая принадлежность бластных клеток — они были отнесены к варианту L2. Однако в 6 из этих 7 случаев была выявлена перестройка t(8;14)(q24; q32), а у 1 пациента — t(8;22)(q24; q11). Также у 1 пациента были выявлены одновременно две перестройки: t(8;14)(q24; q32) и t(14;18)(q32; q21). L2 морфология бластных клеток была обнаружена в 2 случаях из 9, для которых эта информация была доступна. В 1 случае морфология L2 сочеталась с атипичным иммунофенотипом с отсутствием поверхностного IgM. В 1 случае морфологическая принадлежность бластных клеток к L2 противоречила результатам и иммунофенотипирования, и цитогенетического анализа. У 1 пациента нетипичными оказались данные одновременно ИФТ и морфологии, и основой для постановки диагноза стало обнаружение типичной транслокации *c-myc* t(8;14)(q24; q32). Из пациентов, по которым не имелось данных о наличии или отсутствии экстрамедуллярных поражений, в 1 случае отсутствовал поверхностный IgM при иммунофенотипировании, но диагноз был установлен на основе цитогенетических и морфологических данных. У другого данные цитогенетического анализа противоречили иммунофенотипированию и морфологии. Подробно основные данные иммунофенотипирования, морфологического и цитогенетического обследования пациентов представлены в таблице. Рассмотрим несколько особенно интересных с диагностической точки зрения случаев. У пациента № 2 отсутствие перестройки t(8;14)(q24; q32) противоречило L3-морфологии и зрелому иммунофенотипу. Для уточнения диагноза было проведено иммуногистохимическое исследование материала экстрамедуллярного образования. Были обнаружены клетки опухоли среднего и крупного размера, с небольшим ободком цитоплазмы, крупным круглым ядром с ядрышками и дисперсным хроматином. Они обладали высокой митотической активностью. Определялось небольшое количество макрофагов при малом увеличении микроскопа, формировавших картину «звездного неба». Клетки инфильтрата были представлены CD20 позитивными В-лимфоцитами с коэкспрессией CD10, BCL6, CD38, HGAL, C-Myc (40 %). Отсутствовала экспрессия BCL2, MUM1, TdT, CD3. Уровень экспрессии Ki-67 — 100 %. Это позволило установить окончательный диагноз ЛБ.

Пациент № 4 имел определенные

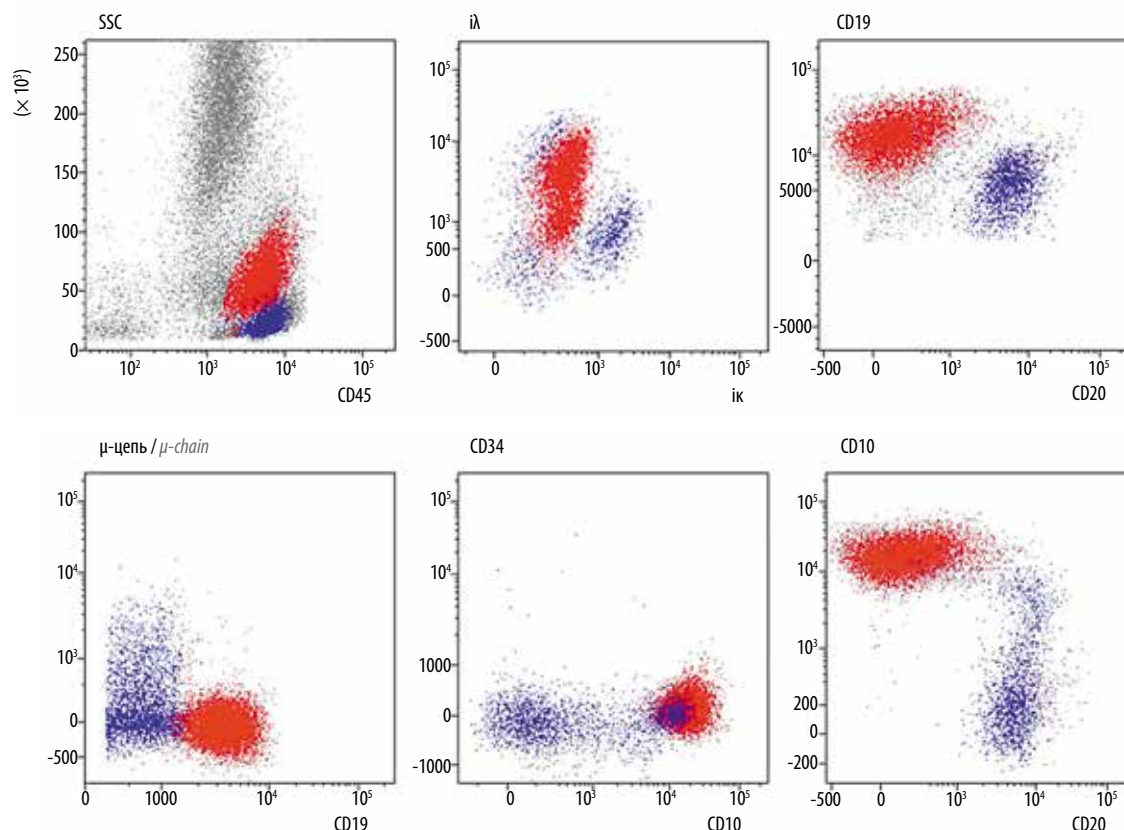


Рис. 2. Иммунофенотип бластов пациента № 4. Красным цветом выделены опухолевые клетки, синим — В-лимфоциты
Fig. 2. Blast cells immunophenotype in patient 4. Tumor cells are marked red, blue is B-lymphocytes

иммунофенотипические особенности, существенно затрудняющие диагностику. В отличие от классического иммунофенотипа с экспрессией IgM, CD10, CD19, CD20 и отсутствием маркера ранних предшественников CD34, у данного пациента отсутствовали IgM и CD20, в то время как в цитоплазме бластов была обнаружена λ -цепь Ig (рис. 2).

При МРТ-исследовании было обнаружено диффузное поражение костей черепа. До получения данных цитогенетического анализа пациент лечился по протоколу ALL—MB-2008 для группы промежуточного риска с рандомизацией на ветвь PEG- [11]. Однако обнаружение $t(8;14)(q24; q32)$ вкупе с L3-морфологией бластов заставило пересмотреть диагноз и перевести пациента на лечение по протоколу B-NHL [12]. В настоящее время пациент находится в полной продолжающейся ремиссии.

Необходимо отметить, что зачастую сложности в дифференциальной диагностике ЛБ и острого В-лимфобластного лейкоза возможно преодолеть с помощью комплексного обследования и анализа данных, так как даже наличие типичных транслокаций не является решающим при постановке диагноза и выборе тактики лечения. Отдельно приведем пример подобного случая. У пациента (девочка, 2 года) была выявлена транслокация $t(8;14)(q24; q32)$, однако при иммунофенотипировании КМ иммунофенотип бластов соответствовал ва-

рианту ВП-ОЛЛ. Была выявлена экспрессия CD34, CD10, CD19 при отсутствии CD20, а также поверхностной или внутриклеточной экспрессии IgM (рис. 3). В спинномозговой жидкости также были обнаружены бласты с фенотипом $CD10^+CD19^+CD45^{dim}$. В целом иммунофенотип опухолевых клеток соответствовал скорее ВП-ОЛЛ, нежели ЛБ [13]. Морфологически бласты были отнесены к L2-варианту. В клинической картине преобладали слабость, бледность кожных покровов, геморрагическая сыпь, лихорадка. В общем анализе крови на фоне глубокой анемии, тромбоцитопении отмечалось 92 % лимфоцитов. Состояние прогрессивно ухудшалось, появились боли в конечностях, рвота. Был установлен диагноз ВП-ОЛЛ и лечение проводилось по протоколу ALL—MB-2008. Выявление $t(8;14)(q24; q32)$ не привело к смене терапии. На 15-й день терапии в КМ методом проточной цитометрии было определено 1,24 % опухолевых клеток. Пациент был успешно выведен в ремиссию к окончанию индукционной терапии (36-й день), при этом минимальная остаточная болезнь (МОБ) в этой точке наблюдения не выявлялась. Пациент сохранил МОБ-негативную полную клинико-гематологическую ремиссию.

Обсуждение

Лимфома Беркитта является агрессивной В-клеточной лимфомой с характерными морфологическими, иммунофенотипическими и молекулярными

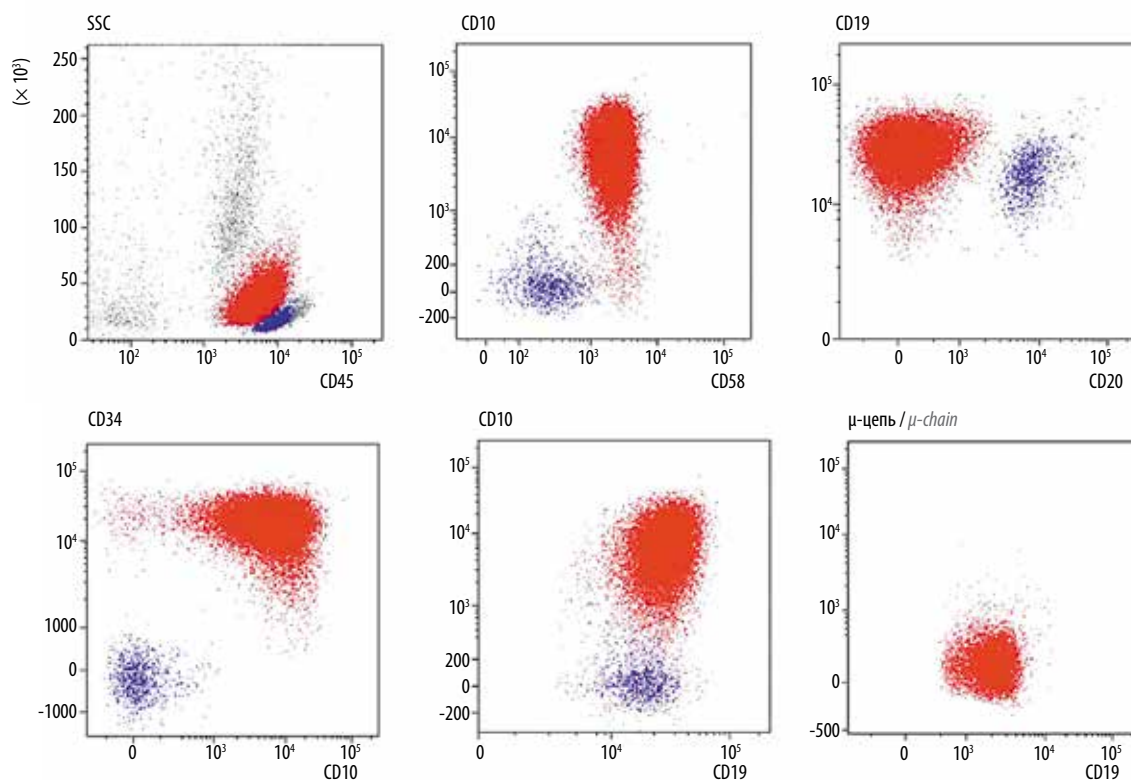


Рис. 3. Иммунофенотип ВП ВП-ОЛЛ бластных клеток при наличии $t(8;14)(q24;q32)$ и морфологии L2. Красным цветом выделены бластные клетки, синим — В-лимфоциты

Fig. 3. BII BCP-ALL blasts cells immunophenotype in the presence of $t(8;14)(q24;q32)$ and L2 morphology. Tumor cells are marked red, blue is B-lymphocytes

особенностями и довольно однородным профилем экспрессии генов [14, 15]. При гистологическом исследовании опухолевого материала выявляется картина «звездного неба» при микроскопии с малым увеличением. Цитоморфологически бластные клетки относятся к L3-варианту по FAB-классификации. Генетическим маркером ЛБ является наличие перестроек в гене *c-myc* 8-й хромосомы, в основном с вовлечением гена *IGH*, либо генов легких цепей иммуноглобулинов. Также для ЛБ характерна поверхностная экспрессия IgM, так как биологически ЛБ происходит из клеток герминативного центра [16].

Опубликован ряд работ, описывающих клинические случаи ЛБ и ВП-ОЛЛ как у детей, так и у взрослых, с различными aberrantными вариантами иммунофенотипа, ранее не выявляемыми хромосомными перестройками и несоответствиями данных лабораторных исследований и основного диагноза [17]. Так, К. Kelemen и соавт. были подробно описаны 4 случая aberrantного иммунофенотипа ЛБ без экспрессии поверхностного IgM [18]. В нашем исследовании у 1 пациента также наблюдалось отсутствие экспрессии CD20, который чаще всего экспрессируется при зрелоклеточных В-линейных лимфомах. В данном случае это было ассоциировано с отсутствием поверхностного IgM и наличием перестройки $t(8;14)(q24;q32)$. При этом стоит отметить, что бластные клетки относились к морфологическому

варианту L3. Иммунофенотип был, пожалуй, наиболее вариативной частью морфотипа бластных клеток при ЛБ. Среди описываемых нами 10 случаев только 3 имели поверхностную экспрессию IgM. В то же время экспрессии поверхностного иммуноглобулина недостаточно, чтобы исключить ВП-ОЛЛ [8].

Описаны редкие случаи обнаружения нехарактерных для ЛБ мутаций и дополнительных хромосомных аномалий. Среди этих случаев есть небольшое число пациентов, имеющих перестройки гена *KMT2A*, особенно $t(9;11)(p22;q23)$ [19, 20]. В одной работе [21] представлен случай ВП-ОЛЛ из зрелых клеток с морфологией L3 и ранее не выявляемой при этой патологии перестройкой $t(11;15)(q23;q14)$. Описан и вариант ЛБ у ребенка 10 лет с L3, $t(8;14)$ и частичной тетрасомией 1q [22]. В нашем исследовании были выявлены 2 случая с отсутствием классических перестроек гена *c-myc*. Кроме того, у 1 пациента обнаружены одновременно 2 перестройки $t(8;14)(q24;q32)$, $t(14;18)(q32;q21)$ при отсутствии экспрессии поверхностного IgM.

В наших случаях у 2 пациентов определялся вариант морфологии L2, который противоречил наличию типичных для ЛБ перестроек гена *c-myc*. В 1 случае были описаны недифференцируемые бластные клетки при наличии и поверхностного IgM, и перестроек гена *c-myc*, и экстрамедуллярных поражений.

В опубликованном в 2016 г. обновлении классификации Всемирной организации здравоохранения отмечено, что для ЛБ не существует абсолютного диагностического критерия. Даже перестройки гена *c-myc* не являются абсолютно специфичными для ЛБ. Их можно обнаружить и при других онкогематологических заболеваниях. То же самое относится к показателям как морфологическим, так и иммунофенотипическим [8]. Предложено дополнить иммунофенотипическую панель маркерами Bcl2 и Bcl6, но в случаях, когда бласты имеют фенотип предшественников, данные маркеры не помогают в уточнении диагноза [23].

Случаи, представленные в настоящей статье, и случаи, описанные в литературе, демонстрируют важность тщательного и мультидисциплинарного подхода при оценке результатов лабораторных исследований. Поэтому для точной дифференциальной диагностики ОЛЛ и В-клеточных лимфом необходимо проводить комплексное обследование пациентов с подозрением на ЛБ с учетом клинической картины, иммунофенотипа, морфологического варианта и наличия специфических хромосомных перестроек. Отсутствие необходимого набора лабораторных данных несет опасность неправильной и несвоевременной диагностики, что может привести к неадекватной терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Burkitt D. A sarcoma involving the jaws in African children. *Br J Surg* 1958;46(197):218–23. PMID: 13628987.
- Lenze D., Leoncini L., Hummel M. et al. The different epidemiologic subtypes of Burkitt lymphoma share a homogenous micro RNA profile distinct from diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia* 2011;25(12):1869–76. DOI: 10.1038/leu.2011.156. PMID: 21701491.
- Piccaluga P.P., De Falco G., Kustagi M. et al. Gene expression analysis uncovers similarity and differences among Burkitt lymphoma subtypes. *Blood* 2011;117(13):3596–608. DOI: 10.1182/blood-2010-08-301556. PMID: 21245480.
- Leoncini L., Raphael M., Stein H. et al. Burkitt lymphoma. In: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. et al. (eds). *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. IARC press, 2008. P. 262–264.
- Swerdlow S., Campo E., Harris N.L. et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC, 2008;262–4.
- Bene M., Castoldi G., Knapp W. et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995;9(10):1783–6. PMID: 7564526.
- Angi M., Kamath V., Yuvarani S. et al. The t(8;14)(q24.1;q32) and its variant translocations: A study of 34 cases. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2017;10(3):126–34. DOI: 10.1016/j.hemonc.2017.03.002. PMID: 28390216.
- Дёмина И.А., Вержбицкая Т.Ю., Кашпор С.А. и др. Гетерогенность В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (BIV-иммуновариант) у детей. *Онкогематология* 2017;12(4):34–40. [Demina I.A., Verzhbitskaya T.Yu., Kashpor S.A. et al. Heterogeneity of childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia (EGIL subtype BIV). *Onkogematologiya = Oncohematology* 2017;12(4):34–40 (In Russ.).] DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-4-34-40.
- Creutzig U., van den Heuvel-Eibrink M.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. DOI: 10.1182/blood-2012-03-362608. PMID: 22879540.
- ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016). Eds.: McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M. (Reprint of: *Cytogenetic and Genome Research* 2016;149:1–2).
- Карачунский А.И., Румянцев А.Г., Румянцев А.Г. Эволюция лечения острого лимфобластного лейкоза у детей: критическое использование мирового опыта в России. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2011;10(2):15–31. [Karachunskiy A.I., Rumyantsev Yu.V., Rumyantsev A.G. Evolution of therapy for acute lymphoblastic leukemia in children: Critical use of experience, gained in the World, in Russia. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii = Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2011;10(2):15–31 (In Russ.).]
- Самочатова Е.В., Шелихова Л.Н., Мякова Н.В. и др. Возможности и проблемы современной терапии неходжкинских лимфом у детей и подростков. *Педиатрия* 2011;90(4):37–43. [Samochatova E.V., Shelikhova L.N., Myakova N.V. et al. Opportunities and problems of modern non-Hodgkin's lymphomas therapy in children and adolescents. *Pediatria = Pediatrics* 2011;90(4):37–43 (In Russ.).]
- Дёмина И.А., Вержбицкая Т.Ю., Кашпор С.А. и др. Иммунофенотипическая характеристика опухолевых клеток в костном мозге при лимфоме/лейкозе Беркитта: возможности дифференциальной диагностики с острым лимфобластным лейкозом. *Онкогематология* 2017;12(1):55–61. [Demina I.A., Verzhbitskaya T.Yu., Kashpor S.A. et al. Immunophenotypic features of bone marrow tumor cell in Burkitt lymphoma/leukemia: B-lineage acute lymphoblastic leukemia diagnostic opportunities. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2017;12(1):55 (In Russ.).] DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-1-55-61.
- Dave S.S., Fu K., Wright G.W. et al. Lymphoma/leukemia molecular profiling project: molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med* 2006;354(23):2431–42. DOI: 10.1056/NEJMoa055759. PMID: 16760443.
- Hummel M., Bentink S., Berger H. et al. Molecular mechanisms in malignant lymphomas network project of the Deutsche Krebshilfe: a biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med* 2006;354(23):2419–30. DOI: 10.1056/NEJMoa055351. PMID: 16760442.
- Dunleavy K., Little R.F., Wilson W.H. Update on Burkitt Lymphoma. *Hematol Oncol Clin N Am* 2016;30(6):1333–43. DOI: 10.1016/j.hoc.2016.07.009. PMID: 27888884.
- Kansal R., Deeb G., Barcos M. et al. Precursor B lymphoblastic leukemia with surface light chain immunoglobulin restriction: a report of 15 patients. *Am J Clin Pathol* 2004;121(4):512–25. DOI: 10.1309/WTXC-Q5NR-ACVX-TYBY. PMID: 15080303.
- Kelemen K., Brazier R.M., Gatter K. et al. Immunophenotypic variations of Burkitt lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2010;134(1):127–38. DOI: 10.1309/AJCP93LJPTRQPDKR. PMID: 20551277.
- Kim B., Lee S.-T., Kim H.-J. et al. Acute Lymphoblastic Leukemia with Mature B-Cell Phenotype and t(9;11;11)(p22;q23;p11.2): A Case Study and Literature Review. *Ann Lab Med* 2014;34(2):166–9. DOI: 10.3343/alm.2014.34.2.166. PMID: 24624357.
- Blin N., Méchinaud F., Talmant P. et al. Mature B-cell lymphoblastic leukemia with

- MLL rearrangement: an uncommon and distinct subset of childhood acute leukemia. *Leukemia* 2008;22(5):1056–9. DOI: 10.1038/sj.leu.2404992. PMID: 18007578.
21. Smith M.C., Kressin M.K., Crawford E., et al. B Lymphoblastic Leukemia With a Novel t(11;15)(q23;q15) and Unique Burkittoid Morphologic and Immunophenotypic Findings in a 9-Year-Old Boy. *Lab Med* 2015;46(4):320–6. DOI: 10.1309/LM0BOC84GSQGHYKD. PMID: 26489677.
 22. Sato Y., Kurosawa H., Fukushima K. et al. Burkitt-Type Acute Lymphoblastic Leukemia With Precursor B-Cell Immunophenotype and Partial Tetrasomy of 1q: A Case Report. *Medicine* (Baltimore) 2016;95(10):e2904. DOI: 10.1097/MD.0000000000002904. PMID: 26962787.
 23. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised 4th edition. International Agency for Research on Cancer. Lyon, 2017.

Вклад авторов

И.А. Демина: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, обзор публикаций, написание и редактирование текста статьи; О.И. Илларионова, Т.Ю. Вержбицкая, Е.Б. Русанова, М.В. Горчакова, Г.И. Улейская, Е.Е. Зуева, Л.А. Щекина: получение данных иммунофенотипирования;

Г.А. Цаур, А.Н. Казакова, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Ольшанская: получение цитогенетических данных;

М.Б. Белогурова, Ю.Г. Абугова: получение клинических данных;

Л.Г. Фечина, Н.В. Мякова, Е.В. Самочатова, А.А. Масчан: общее руководство исследованием;

А.М. Попов: разработка дизайна исследования, получение иммунофенотипических данных, написание и редактирование текста статьи.

Authors' contributions

I.A. Demina: study design, data analysis, publications review, article editing;

O.I. Illarionova, T.Yu. Verzhbitskaya, E.B. Rusanova, M.V. Gorchakova, E.E. Zueva, G.I. Uleyskaya, L.A. Schekina: immunophenotyping;

G.A. Tsaur, A.N. Kazakova, E.A. Zerkalnikova, Yu.V. Olshanskaya: cytogenetic testing;

M.B. Belogurova, Yu.G. Abugova: clinical data collecting;

L.G. Fechina, N.V. Myakova, E.V. Samochatova, A.A. Maschan: study managing;

A.M. Popov: study design, immunophenotyping, article editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

И.А. Демина / I.A. Demina: <https://orcid.org/0000-0002-4317-2094>

О.И. Илларионова / O.I. Illarionova: <https://orcid.org/0000-0003-2685-674X>

Т.Ю. Вержбицкая / T.Yu. Verzhbitskaya: <https://orcid.org/0000-0001-9329-1828>

Г.А. Цаур / G.A. Tsaur: <https://orcid.org/0000-0002-9881-6221>

Е.А. Зеркаленкова / E.A. Zerkalnikova: <https://orcid.org/0000-0001-9634-5828>

Ю.В. Ольшанская / Yu.V. Olshanskaya: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>

Л.Г. Фечина / L.G. Fechina: <https://orcid.org/0000-0002-1885-3912>

Н.В. Мякова / N.V. Myakova: <http://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

А.А. Масчан / A.A. Maschan: <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

А.М. Попов / A.M. Popov: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest. Информированное согласие.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 11.05.2018. Принята к публикации: 01.08.2018.

Article received: 11.05.2018. Accepted for publication: 01.08.2018.

Физиологические и патофизиологические аспекты активации тромбоцитов крови через рецептор CLEC-2

А.А. Мартянов^{1, 2, 3}, В.Н. Канева^{1, 2}, М.А. Пантелеев^{1, 2, 3, 4}, А.Н. Свешникова^{1, 2, 3}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет; Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2;

³Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН; Россия, 119991 Москва, ул. Косыгина, 4;

⁴Московский физико-технический институт (государственный университет), факультет биологической и медицинской физики; Россия, 141700 Долгопрудный, Институтский переулок, 9

Контакты: Михаил Александрович Пантелеев mapanteleev@yandex.ru

Рецептор семейства лектиноподобных типа C (C-type lectin-like, CLEC) CLEC-2 был обнаружен на тромбоцитах человека около 10 лет назад. Основным эндогенным лигандом CLEC-2 является мембранный белок подоплатин, экспрессируемый клетками эндотелия лимфатических сосудов, ретикулярными фибробластами в лимфатических узлах и подоцитами почечной капсулы. Также подоплатин экспонируется на поверхности клеток некоторых опухолей (меланом, глиом). Комплекс CLEC-2–подоплатин активно вовлечен в процессы эмбрионального развития (разделение лимфатических и кровеносных сосудов, ангиогенез), поддержания целостности капилляров при воспалительных процессах и предотвращения смешения крови и лимфы в венах с высоким эндотелием. Также образование комплексов CLEC-2–подоплатин происходит при метастазировании некоторых опухолей, сепсисе и развитии тромбозов глубоких вен. Перспективными препаратами из числа существующих для лечения связанных с CLEC-2 заболеваний являются ибрутиниб и аспирин. В настоящем обзоре обсуждаются известные физиологические и патологические возможности CLEC-2 и перспективы таргетной терапии ассоциированных с действием CLEC-2 заболеваний.

Ключевые слова: тромбоцит, молекулярная сигнализация, тирозинкиназы, CLEC-2, метастазирование, тромбоз глубоких вен.

Для цитирования: Мартянов А.А., Канева В.Н., Пантелеев М.А., Свешникова А.Н. Физиологические и патофизиологические аспекты активации тромбоцитов крови через рецептор CLEC-2. Онкогематология 2018;13(3):83–90

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-83-90

Physiological and pathophysiological aspects of blood platelet activation through CLEC-2 receptor

A.A. Martyanov^{1, 2, 3}, V.N. Kaneva^{1, 2}, M.A. Panteleev^{1, 2, 3, 4}, A.N. Sveshnikova^{1, 2, 3}

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology; 1 Samory Mashela St., Moscow 117198, Russia;

²Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics; 1, bldg. 2 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia;

³Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences; 4 Kosygina St., Moscow 119991, Russia;

⁴Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Faculty of Biological and Medical Physics; 9 Institutskiy Pereulok, Dolgoprudnyi 141700, Russia

Platelet activating receptor CLEC-2 has been identified on platelet surface a decade ago. The only confirmed endogenous CLEC-2 agonist is podoplanin. Podoplanin is a transmembrane protein expressed by lymphatic endothelial cells, reticular fibroblastic cells in lymph nodes, kidney podocytes and by cells of certain tumors. Association of CLEC-2 with podoplanin is involved in processes of embryonic development (blood-lymph vessel separation and angiogenesis), maintaining of vascular integrity of small vessels during inflammation and prevention of blood-lymphatic mixing in high endothelial venules. However, CLEC-2 and podoplanin are contributing to tumor metastasis progression, Salmonella sepsis and deep-vein thrombosis. This makes CLEC-2 and podoplanin a perspective target for pharmacological treatment. Aspirin and Ibrutinib are considered to be perspective for abrogation of podoplanin-induced platelet activation via CLEC-2. The present review discusses already known pathological and physiological roles of CLEC-2 and possibilities of a targeted therapy for CLEC-2 associated diseases.

Key words: platelet, molecular signaling, tyrosine-kinases, CLEC-2, metastasis, deep vein thrombosis.

For citation: Martyanov A.A., Kaneva V.N., Panteleev M.A., Sveshnikova A.N. Physiological and pathophysiological aspects of blood platelet activation through CLEC-2 receptor. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(3):83–90

Введение

Тромбоциты — циркулирующие в кровотоке безъядерные дисковидные тельца, отшнуровавшиеся от мегакариоцитов в красном костном мозге, — играют главную роль в первичной остановке кровотечения. Повреждение эндотелия приводит к обнажению компонентов внеклеточного матрикса — ламинина, коллагена, фибронектина. Взаимодействие с ними приводит к активации тромбоцитов. При этом тромбоциты изменяют свою форму, приобретают адгезивные способности и секретируют разнообразные активаторы и цитокины, способствующие активации новых тромбоцитов, приносимых током крови. Они также выделяют вазоконстрикторы и индуцируют процессы воспаления в стенках сосудов [1].

Выполнение тромбоцитами физиологических задач осуществляется благодаря присутствию на их поверхности различных рецепторов. Так, агрегация и адгезия тромбоцитов происходят за счет рецепторов GPIb (рецептор к фактору Виллебранда) [2] и интегринов, основным из которых является рецептор к фибриногену $\alpha_{IIb}\beta_3$ [3].

Активация тромбоцитов благодаря рецепторам, ассоциированным с G-белками (P_2Y_1 , P_2Y_{12} , PAR 1, PAR 4), или рецепторам, ассоциированным с тирозинкиназами (GP-VI, CLEC-2, FcγRIIa), приводит к повышению концентрации свободных ионов кальция в цитозоле тромбоцита. В результате происходит перестройка цитоскелета тромбоцита и экзоцитоз гранул, содержащих медиаторы вторичной активации (в том числе аденозиндифосфат (АДФ)), а также синтез гидрофобных активаторов, в первую очередь тромбоксана A_2 (TxA_2).

Баланс между недостаточным (кровоточивость) и избыточным (тромбоз) ответом тромбоцита на активацию обусловлен наличием в кровотоке ингибиторов, выделяемых клетками сосудистого эндотелия — простациклином (PGI_2) и оксидом азота (NO). Оба этих соединения способны полностью предотвратить

активацию тромбоцитов даже в ответ на сильные стимулы (рис. 1а) [4]. Другой способ предотвратить активацию тромбоцита — связывание с лигандом одного из рецепторов, содержащих последовательность аминокислот («мотив») ITIM (Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif, тирозинсодержащий ингибирующий мотив иммунорецепторов) [4–6]. При этом происходит активация внутриклеточного каскада фосфатаз, которые предотвращают активацию участников активационных каскадов (рис. 1б).

Рецептор CLEC-2 был обнаружен в процессе скрининга генома человека на предмет лектинподобных рецепторов С-типа. Показано, что мРНК, кодирующая CLEC-2, экспрессируется в клетках печени, костного мозга, в моноцитах, дендритных клетках, гранулоцитах и NK-клетках [7, 8]. Механизмы активации тромбоцита через CLEC-2 и роль, которую этот рецептор играет в процессе тромбообразования, сейчас активно изучают.

Цель данного обзора — систематизация имеющихся данных литературы о тромбоцитарном рецепторе CLEC-2, его физиологическом и патофизиологическом участии в индукции внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах и возможности использовать этот сигнальный каскад в качестве источника новых мишеней для терапии онкологических заболеваний, а также тромбозов глубоких вен.

Роль CLEC-2

Физиологическая

Одной из основных функций взаимодействия выставляемого на поверхности тромбоцитов CLEC-2 с подопланином на клетках эндотелия лимфатических сосудов является разделение кровеносной и лимфатической систем при эмбриональном развитии [9, 10]. Существует 3 гипотезы о механизме разделения:

1) разделение благодаря образованию тромбоцитарного агрегата в месте расхождения (рис. 2а, I);

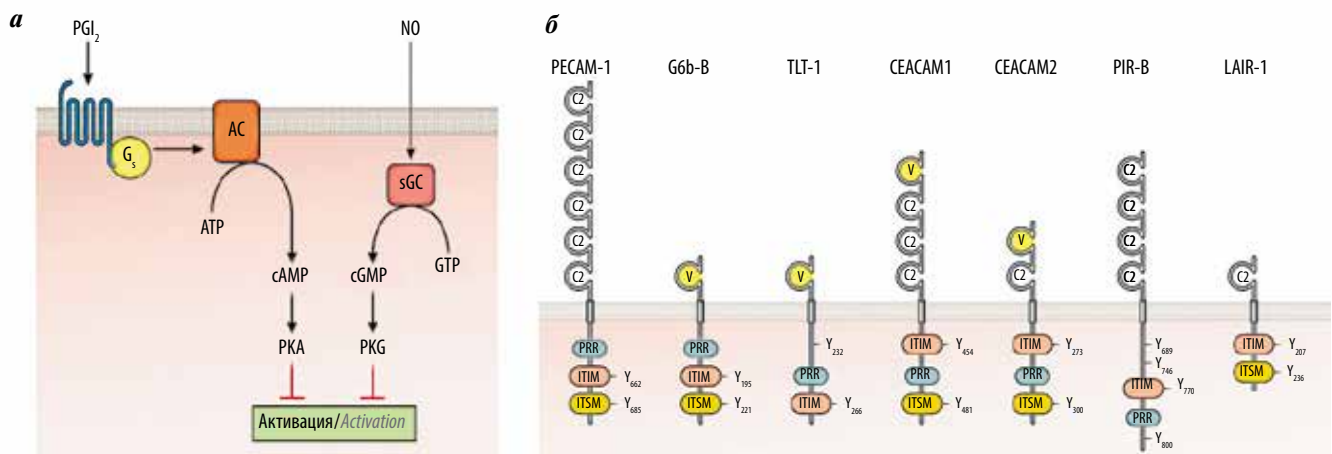


Рис. 1. Способы предотвращения активации тромбоцитов: а — ингибирование активации тромбоцитов PGI_2 и NO; б — ITIM рецепторы на поверхности тромбоцитов крови человека (воспроизведено из [4])

Fig. 1. Ways to prevent platelet activation: а — PGI_2 and NO inhibition of platelets activation; б — ITIM receptors on the surface of human blood platelets (a reproduction from [4])

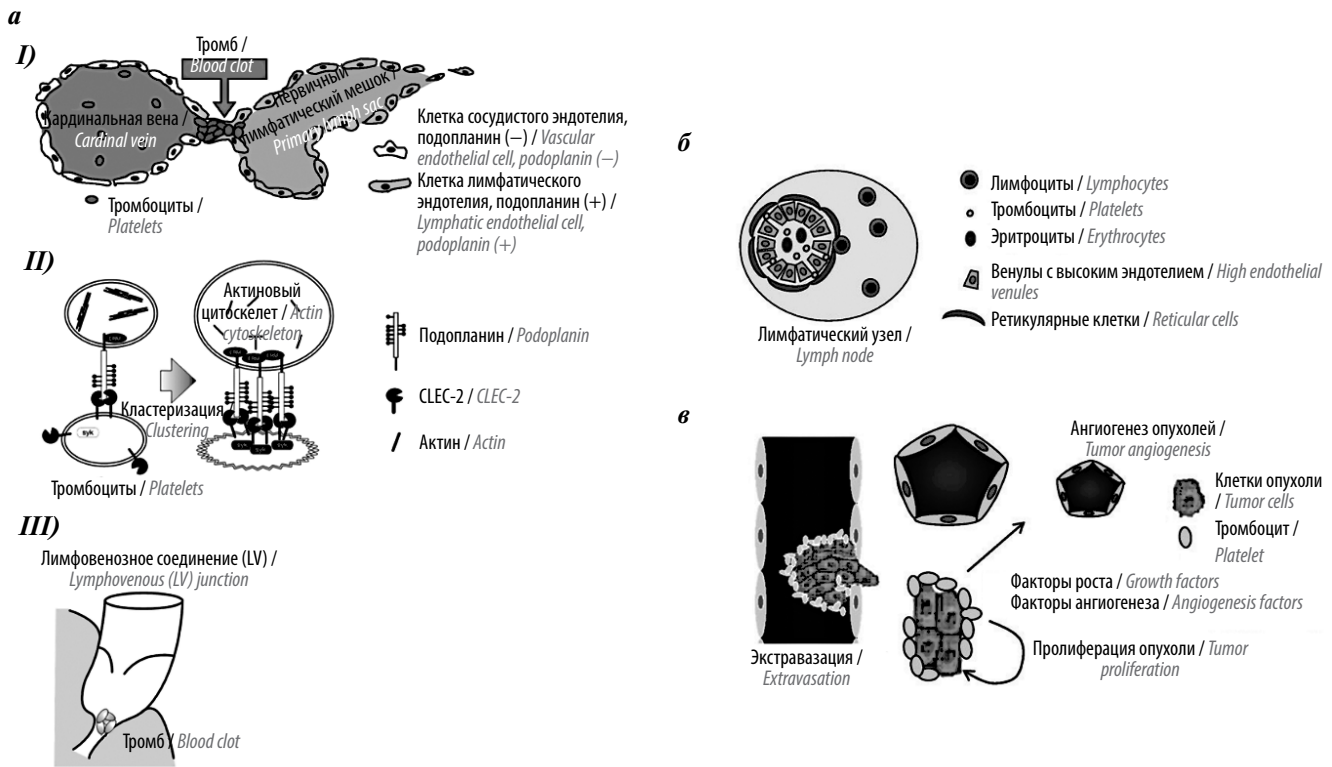


Рис. 2. Роли CLEC-2 в организме: а – участие CLEC-2 и подоплагина в разделении кровеносных и лимфатических сосудов (I – разделение благодаря образованию тромбоцитарного агрегата в месте расхождения; II – разделение за счет факторов роста, содержащихся в гранулах тромбоцитов, выходящих при активации; III – активация клеток лимфатического эндотелия за счет кластеризации подоплагина кластеризующимися молекулами CLEC-2); б – тромбоцитарный CLEC-2 и подоплагин при поддержании целостности лимфатических узлов при иммунном ответе; в – участие тромбоцитарного CLEC-2 в процессе метастазирования подоплагин-экспрессирующих опухолей (воспроизведено из [9])

Fig. 2. The role of CLEC-2 in the separation of blood and lymphatic vessels (I – separation after the formation of a platelet aggregate at the site of separation; II – separation caused by growth factors from platelet granules released after platelet activation; III – lymphatic endothelial cell activation caused by CLEC-2-mediated clustering of podoplanin); б – platelet CLEC-2 and podoplanin in maintaining the lymph nodes integrity in the immune response; в – platelet CLEC-2 in metastasis of podoplanin-expressing tumors (a reproduction from [9])

2) разделение за счет факторов роста, содержащихся в гранулах тромбоцитов, выходящих при активации (рис. 2а, II);

3) активация клеток лимфатического эндотелия за счет кластеризации подоплагина кластеризующимися молекулами CLEC-2 (рис. 2а, III) [9].

Другая важная роль тромбоцитарного рецептора CLEC-2 – взаимодействие с подоплатином в нейро-эпителии. Связываясь с подоплатином, тромбоциты активируются и секретируют гранулы, вовлекая перитциты [9, 10]. Перитциты продуцируют внеклеточный матрикс, способствуя формированию сосудистого русла, поддерживая его целостность и предотвращая кровотечения.

Известно, что во взрослом организме взаимодействие CLEC-2 тромбоцитов и подоплагина ретикулярных клеток важно для предотвращения кровотечений в венулах с высоким эндотелием. Считается, что экспонируемый тромбоцитами сфингозин-1-фосфат участвует в процессе производства VE-кадгерина, что способствует поддержанию целостности сосудов. Так, у мышей, дефицитных по CLEC-2, подоплатину или сфингозин-1-фосфату, при стимуляции иммунного ответа происходит смещение

крови и лимфы в лимфатических узлах. Также предполагается, что активация тромбоцитов некоторым, в настоящее время неизвестным, лигандом CLEC-2 необходима для поддержания целостности сосудистых стенок капилляров при воспалительных реакциях, однако механизмы этого явления не были достаточно исследованы (рис. 2б) [9].

Формирование окклюзивных тромбов у дефицитных по CLEC-2 мышей необратимо нарушено [11]. Более того, при одновременном ингибировании сигналов CLEC-2 и GP-VI FeCl₃-индуцированного тромбоза не происходит [11].

Также известно, что CLEC-2 тромбоцитов способствует регенерации печени после частичной гепатэктомии или хронических травм печени [9].

Наконец, показано, что в процессе заживления ран происходит временное увеличение экспрессии подоплагина в кератиноцитах. Связывание тромбоцитов с подоплатином через CLEC-2 вызывает рост экспрессии E-кадгерина, приводя к ингибированию миграции базальных кератиноцитов. Таким образом, тромбоциты становятся основой для реэпителизации при первичном заживлении ран [9].

Патофизиологическое значение

Особый интерес представляет исследование патогенеза взаимодействия CLEC-2 и подопланина в развитии опухолей. Важно подчеркнуть существование нескольких путей влияния. Клетки некоторых опухолей (например, меланом или глиом) экспонируют на своей поверхности подоплатин, связывающий и активирующий тромбоциты. Во-первых, образовавшаяся тромбоцитарная «шуба» защищает опухоль от вызываемых потоком крови сдвиговых стрессов и NK-клеток [10, 12]. Таким образом, CLEC-2 тромбоцитов способствует метастазированию. Во-вторых, факторы роста, секретируемые тромбоцитами после активации CLEC-2, стимулируют ангиогенез и рост опухолей (см. рис. 2в) [9]. Достоверно показано, что нарушение взаимодействия CLEC-2 и подопланина способно полностью остановить метастазирование только гематогенных опухолей [12]. Так, меланомы мышей типа B16F10, культивировавшиеся в присутствии тромбоцитов, демонстрировали ускоренную пролиферацию в сравнении с клетками, культивированными в присутствии дефицитных по CLEC-2 тромбоцитов [13].

С другой стороны, дефицит CLEC-2 приводит к уплотнению сосудов в опухолях, а также ингибирует в них процесс тромбообразования, что способствует более эффективной доставке кислорода и питательных веществ к опухолям, косвенно способствуя их пролиферации. Дефицитные по CLEC-2 животные значительно лучше выживают при прививании клеток меланомы, что может быть также обусловлено подавлением тромбоэмболии легочной артерии, а также косвенным ингибированием воспалительных процессов и кахексии [14].

Также была продемонстрирована роль CLEC-2 в патологическом тромбообразовании у людей. Так,

тромбоз при попадании бактерий *Salmonella* в печень развивается при участии рецептора тромбоцитов CLEC-2. Бактерии активируют макрофаги через TLR-рецепторы, что способствует выходу на поверхность подопланина. Это приводит к активации и агрегации тромбоцитов [15].

Важным открытием стал тот факт, что антагонисты CLEC-2 и подопланина способны предотвращать тромбозы глубоких вен, вызванные частичной окклюзией сосудов [16]. У дефицитных по тромбоцитарному CLEC-2 мышей тромбоза глубоких вен не наблюдалось. Интересно, что антитела к CLEC-2/подопланину не полностью прекращали рост тромбов [16]. Поскольку подоплатин не представлен на клетках сосудистого эндотелия, не ясно, какая молекула выступает в роли активатора CLEC-2.

Сигнальные аспекты активации тромбоцитов при участии рецептора CLEC-2

Эндогенные лиганды CLEC-2

На сегодняшний день достоверно известно о существовании единственного эндогенного активатора тромбоцитарного CLEC-2 — подопланина. Он экспрессируется на клетках лимфатического эндотелия, подоцитах и альвеолоцитах [17,18].

Связывание выставляемого клетками лимфатического эндотелия подопланина и CLEC-2 приводит к перестроению актинового цитоскелета в эндотелиальных клетках, уменьшению количества стресс-фибрилл и увеличению количества филоподий (рис. 3) [10].

Подоплатин является специфическим маркером лимфатических сосудов. Поскольку развитие большинства опухолей происходит с активным лимфангио-

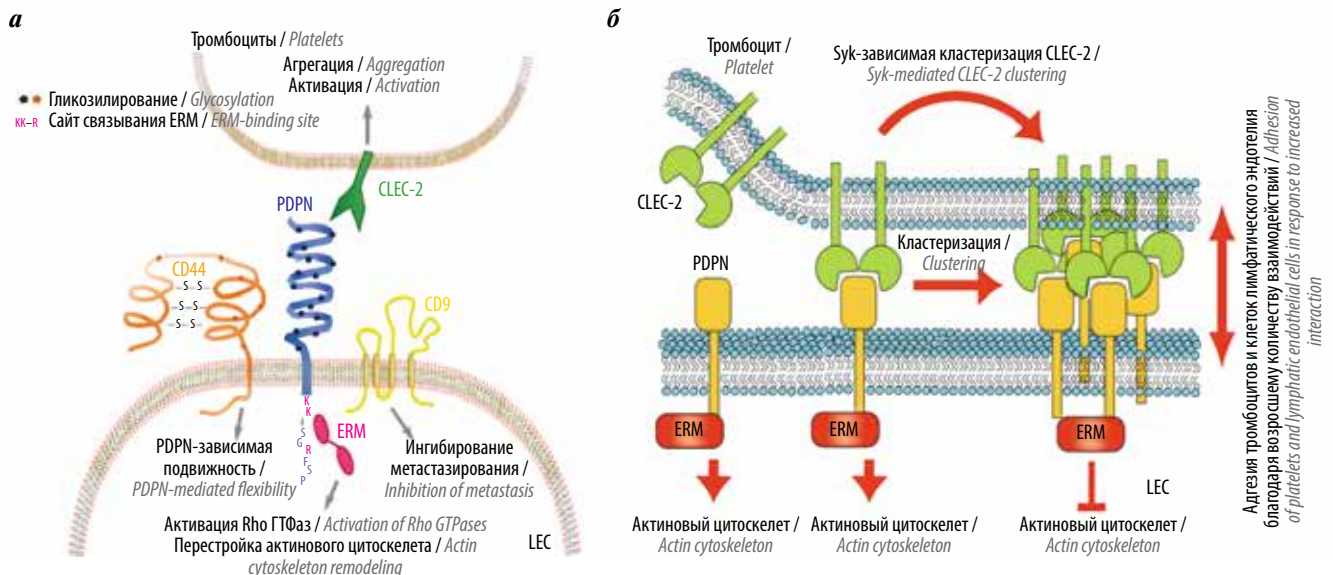


Рис. 3. Взаимодействие CLEC-2 и подопланина: а — события, происходящие при связывании подопланина и CLEC-2 (воспроизведено из [10]); б — Syk-зависимая кластеризация молекул CLEC-2 приводит к кластеризации подопланина и перестройке актинового цитоскелета клеток лимфатического эндотелия (воспроизведено из [19])

Fig. 3. The interaction of CLEC-2 and podoplanin: а — events occurring after binding of podoplanin and CLEC-2 (reproduced from [10]); б — Syk dependent clustering of CLEC-2 molecules leads to clustering of podoplanin and rearrangement of the actin cytoskeleton of lymphatic endothelial cells (reproduced from [19])

генезом, увеличение количества подопланина может использоваться как диагностический маркер [10,12].

Также предполагается существование других эндогенных лигандов, однако на сегодняшний день таковых не найдено [13].

Экзогенные активаторы CLEC-2

Известно, что тромбоциты также могут активироваться при связывании CLEC-2 с некоторыми экзогенными лигандами. Родоцитин (также известный как агрегин) — белок, добываемый из яда малайской гадюки *Calloselasma rhodostoma*. Способность тромбоцитов агрегировать в ответ на стимуляцию родоцитином была показана в 1998 г. [20]. Только в 2006 г. было открыто, что родоцитин активирует тромбоцит через CLEC-2 [21]. Тетрамер родоцитина связывает 2 молекулы CLEC-2 и может самостоятельно индуцировать мультимеризацию рецептора на поверхности тромбоцитов [22–24].

Фукоидан, добываемый из водорослей *Fucus vesiculosus*, также является активатором тромбоцитарного CLEC-2. Это было показано на дефицитных по тромбоцитарному CLEC-2 мышах [25].

Внутриклеточная сигнализация от рецептора CLEC-2

Цитоплазматический домен CLEC-2 при фосфорилировании по одному из остатков тирозина способен связывать малые тирозинкиназы семейств Src (Src family kinases, SFK) и Syk (Spleen tyrosine kinase), что приводит к их частичной активации [26]. При первичной активации тромбоцитов через рецептор CLEC-2 важную роль играют липидные рафты — мембранные микродомены, обогащенные холестерином. После связывания CLEC-2 с молекулами активатора происходит зависящая от тирозинкиназ кластеризация рецепторов в рафтах [19]. Молекулы рецепторов «застревают» в рафтах, и их высокая локальная концентрация приводит к усилению общего сигнала.

Существует 2 модели активации тромбоцитов через рецептор CLEC-2. Первая модель основывается на предположении, что только Syk-киназы могут фосфорилировать CLEC-2 [27]:

- 1) после активации CLEC-2 транслоцируется в липидные рафты [28, 29];
- 2) как только в зоне доступа киназ оказываются активированные молекулы рецепторов, изначально активные Syk киназы фосфорилируют CLEC-2 [26];
- 3) это приводит к полной активации Syk, которые, фосфорилируя ряд белков-адаптеров, активируют фосфолипазу C и таким образом запускают кальциевую сигнализацию.

Другая модель активации через рецептор CLEC-2 предполагает, что CLEC-2 фосфорилируют SFK [30, 31]. Данная модель подразумевает участие в процессе тирозинкиназы Брутона (Bruton's tyrosine kinase, Btk), однако конкретный механизм процесса не ясен [31, 32].

CLEC-2-индуцированная сигнализация в тромбоцитах зависит от вторичных медиаторов активации — АДФ и ТхА₂ [28]. При стимуляции тромбоцитов агонистами CLEC-2 происходит выход плотных гранул, содержащих АДФ, а также активация циклооксигеназы COX-1 и образование ТхА₂ из арахидоновой кислоты [30]. Схема сигнальных событий в тромбоцитах при активации CLEC-2 приведена на рис. 4.

CLEC-2 как мишень для фармакологического воздействия

Подходы к использованию CLEC-2 или подопланина в качестве мишеней для лекарств только начинают развиваться [9, 10, 12]. Перспективным представляется использование антител к подопланину/CLEC-2 для остановки метастазирования. Поскольку человеческий подопланин связывается с CLEC-2 посредством PLAG3 и PLAG4 (Platelet Aggregation Stimulated Domain) доменов, в качестве мишени обычно выбирают один из них. Существует ряд моноклональных антител, связывающихся с PLAG3/PLAG4 доменами подопланина и предотвращающих активацию и агрегацию тромбоцитов — NZ-1, P2-0, MS-1, PG4D2/PG4D2 [12]. Антитела к подопланину оказались эффективными при предотвращении развития метастазов меланом у мышей. Применимость данных антител еще не была изучена в клинических исследованиях.

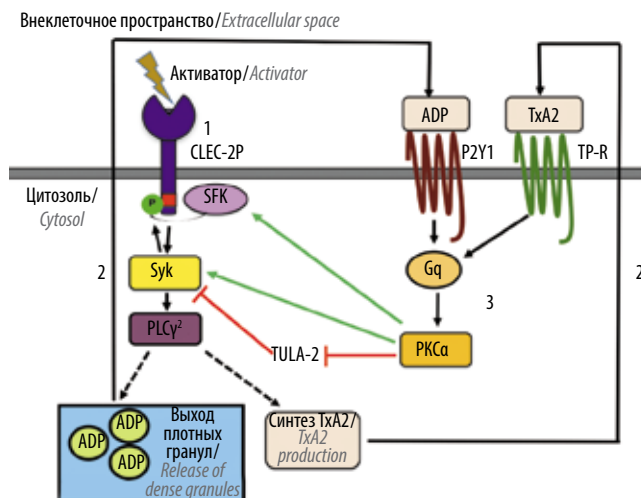


Рис. 4. Схема сигнальных событий в тромбоцитах при активации CLEC-2: 1 — CLEC-2 связывается с молекулой активатора и кластеризуется. Это приводит к активации тирозинкиназ Syk и SFK, которые активируют PLCγ2; 2 — активация PLCγ2 запускает кальциевую сигнализацию и приводит к экзоцитозу плотных гранул, содержащих АДФ, а также к синтезу тромбоспандина А2; 3 — вторичная сигнализация происходит через ассоциированные с G-белками рецепторы и через протеинкиназу C усиливает первичный сигнал (воспроизведено из [30])

Fig. 4. Signal events in platelets when CLEC-2 is activated: 1 — CLEC-2 binds to the activator molecule and is clustered. This leads to activation of Syk and SFK tyrosine kinases, which activate PLCγ2; 2 — activation of PLCγ2 triggers calcium signaling and leads to exocytosis of dense granules containing ADP, as well as to the thromboxane A2 synthesis; 3 — secondary signaling occurs through G-protein associated receptors and through protein kinase C enhances primary signal (adapted from [30])

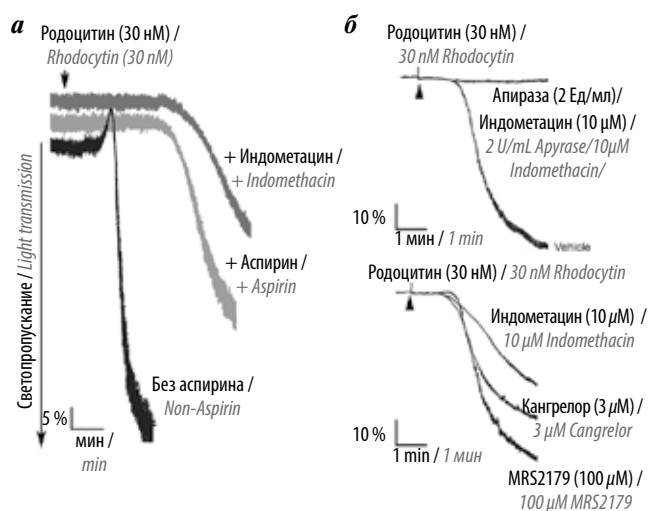


Рис. 5. Агрегация тромбоцитов в ответ на родоцитин после инкубации с аспирином и индометацином (ингибиторы COX-1, приводящие к отсутствию вторичной активации тромбоксаном A2) была значительно нарушена (а) [30]; агрегация тромбоцитов при ингибировании как синтеза тромбоксана A2 (индометацин), так и АДФ-индуцированной сигнализации (апираза, кангрелор, MRS2179) значительно нарушена (б) [28]

Fig. 5. Platelet aggregation in response to rhodocytin after incubation with aspirin and indomethacin (COX-1 inhibitors, leading to no secondary activation of thromboxane A2) was significantly impaired (a) [30]; platelet aggregation when inhibiting both the thromboxane A2 synthesis (indomethacin) and ADP induced signaling (apyrase, kangrelor, MRS2179) is significantly impaired (b) [28]

Одним из возможных ингибиторов активации тромбоцитов через CLEC-2 может быть аспирин, при использовании которого происходит ингибирование циклооксигеназы COX-1 и пути активации

тромбоцитов через синтез TxA_2 [30]. Таким образом, связанная с тромбоксаном вторичная активация тромбоцитов при контакте с подоплатинэкспрессирующими клетками опухолей становится менее выраженной. На рис. 5а приведены результаты по агрегометрии тромбоцитов после активации родоцитином — аспирин и индометацин заметно ослабили агрегацию тромбоцитов.

Притом что описано множество антител к подоплатину, сам рецептор CLEC-2 редко рассматривают в качестве мишени [9]. Описано низкомолекулярное соединение 2CP, связывающее CLEC-2 напрямую, которое предотвращает связывание с подоплатином и другими агонистами CLEC-2. 2CP оказался эффективным в комбинации с цитостатиком цисплатином при исследовании на мышинной модели метастазирования. Также была показана эффективность антитела 2A2B10 при исследовании на мышах с меланомой [10, 12].

Ингибирование вторичной активации тромбоцитов также может быть выполнено посредством блокирования сигнализации, вызываемой АДФ. На рис. 5б показано, что добавление апиразы (фермент, гидролизующий АТФ и АДФ до АМФ) одновременно с индометацином полностью предотвратило активацию тромбоцитов. Другими перспективными соединениями для ингибирования вторичной сигнализации после CLEC-2-индуцированной активации тромбоцитов являются клопидогрел, тикагрелор, тиклопидин и их аналоги [28, 30, 33] (см. рис. 5б).

Среди ингибиторов компонентов сигнального каскада CLEC-2 можно выделить ибрутиниб, основной мишенью которого является тирозинкиназа Брутона (Btk) [31, 34] (рис. 6а). Несмотря на то что роль

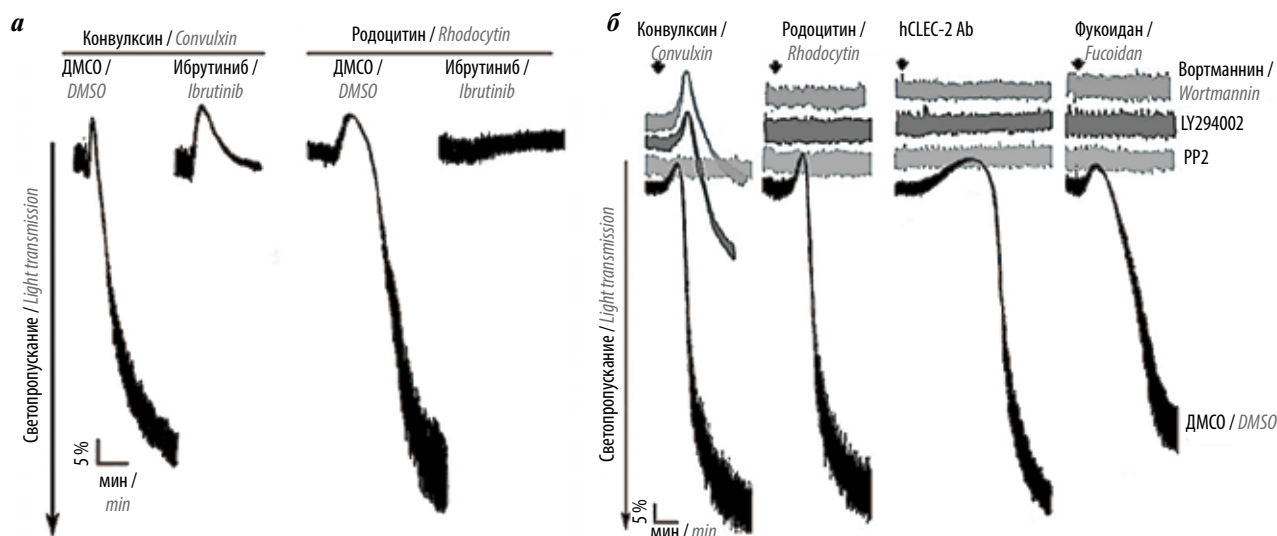


Рис. 6. При добавлении ибрутиниба (ингибитор Btk, применяемый при терапии) нарушается агрегация тромбоцитов при активации GP-VI (конвульксин), тогда как при активации CLEC-2 (родоцитин) нарушается и активация, и агрегация (а). Аналогичные результаты были получены при ингибировании PI3K киназы вортманнином, LY294002 (пан-PI3K ингибиторы), в то время как ингибирование активности SFK (PP2) нарушило активацию и для CLEC-2, и для GP-VI (б) (воспроизведено из [31])

Fig. 6. a — with the addition of ibrutinib (Btk inhibitor used in therapy), platelet aggregation is impaired when GP-VI activated (convulxin), whereas CLEC-2 activation (rhodocytin) disrupts both activation and aggregation. Similar results were obtained by inhibition of PI3K kinase by wortmannin, LY294002 (pan-PI3K inhibitors), while inhibition of SFK (PP2) activity disrupted activation for both CLEC-2 and GP-VI (b) (a reproduction from [31])

Btk в сигнальном каскаде CLEC-2 не уточнена, показано, что ибрутиниб эффективно блокирует CLEC-2-индуцированную активацию тромбоцитов [31]. Исследования влияния ибрутиниба на метастазирование опухолей, экспрессирующих подоплатин, а также на развитие тромбозов глубоких вен или сепсис не проводились. Другой целью в сигнальном каскаде CLEC-2 может быть фосфоинозитид-3-киназа (PI3K). Показано, что добавление ингибиторов активности данной киназы вортманнина и LY294002 способно полностью предотвратить активацию тромбоцитов агонистами CLEC-2. Аналогичные результаты были получены при ингибировании SFK киназ с помощью ингибитора PP2 [31] (рис. 6б). Однако использовать ингибиторы PI3K и SFK в клинических условиях невозможно из-за высокой неселективности их воздействия.

Заключение

Притом что изучение значения рецептора CLEC-2 продолжается, уже сейчас становится очевидна его

перспективная мишень для антитромбоцитарной терапии. CLEC-2 вовлечен в такие физиологические процессы, как разделение кровеносной и лимфатической систем, поддержание целостности микрососудов при воспалительных процессах и лимфангиогенез. Также CLEC-2 и его лиганд подоплатин являются активными участниками метастазирования, патологического лимфангиогенеза при росте опухолей и тромбозов глубоких вен и сепсиса.

В качестве ингибиторов активации тромбоцитов через CLEC-2 также могут выступать антагонисты рецепторов к АДФ (кангрелор, клопидогрел, тикагрелор, тиклопидин и др.) и ингибиторы циклооксигеназы COX-1 (аспирин), производящей синтез тромбоксана A₂. Перспективным является применение ингибитора Btk ибрутиниба.

Поскольку особенности молекулярной сигнализации, индуцируемой CLEC-2 в тромбоцитах, продолжают уточняться, появляются новые мишени для антитромбоцитарной терапии с участием тромбоцитарного рецептора CLEC-2.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Камкин А., Каменский А. Фундаментальная и клиническая физиология. М.: Академия, 2004. [Kamkin A., Kamenskiy A. Fundamental and Clinical Physiology. Moscow: Akademia, 2004 (In Russ.)].
2. Canobbio I., Balduini C., Torti M. Signaling through the platelet glycoprotein Ib-V-IX complex. *Cell Signal* 2004;16(12):1329–44. DOI: 10.1016/j.cellsig.2004.05.008. PMID: 15381249.
3. Payrastre B., Missy K., Trumel C. et al. The integrin alpha IIb/beta3 in human platelet signal transduction. *Biochem Pharmacol* 2000;60(8):1069–74. DOI: 10.1016/S0006-2952(00)00417-2. PMID: 11007943.
4. Coxon C.H., Geer M.J., Senis Y.A. ITIM receptors: More than just inhibitors of platelet activation. *Blood* 2017;129(26):3407–18. DOI: 10.1182/blood-2016-12-720185. PMID: 28465343.
5. Du X. Self-control of platelets: a new ITIM story. *Blood* 2014;124(15):2322–3. DOI: 10.1182/blood-2014-08-593830. PMID: 25301334.
6. Watson S.P., Asazuma N., Atkinson B. et al. The Role of ITAM- and ITIM-coupled Receptors in Platelet Activation by Collagen. *Thromb Haemost* 2001;86(1):276–88. PMID: 11487016.
7. Colonna M., Samaridis J., Angman L. Molecular characterization of two novel C-type lectin-like receptors, one of which is selectively expressed in human dendritic cells. *Eur J Immunol* 2000;30(2):697–704. DOI: 10.1002/1521-4141(200002)30:2<697::AID-IMMU697>3.0.CO;2-M. PMID: 10671229.
8. Mourão-Sá D., Robinson M.J., Zelenay S. et al. CLEC-2 signaling via Syk in myeloid cells can regulate inflammatory responses. *Eur J Immunol* 2011;41(10):3040–53. DOI: 10.1002/eji.201141641. PMID: 21728173.
9. Suzuki-Inoue K., Osada M., Ozaki Y. Physiologic and pathophysiologic roles of interaction between C-type lectin-like receptor 2 and podoplanin: partners from in utero to adulthood. *J Thromb Haemost* 2017;15(2):219–29. DOI: 10.1111/jth.13590. PMID: 27960039.
10. Astarita J.L., Acton S.E., Turley S.J. Podoplanin: Emerging functions in development, the immune system, and cancer. *Front Immunol* 2012;3:283. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00283. PMID: 22988448.
11. Haining E.J., Cherpokova D., Wolf K. et al. CLEC 2 contributes to hemostasis independently of classical hemITAM signaling in mice. *Blood* 2017;130(20):2224–8. DOI: 10.1182/blood-2017-03-771907. PMID: 28835437.
12. Takemoto A., Miyata K., Fujita N. Platelet-activating factor podoplanin: from discovery to drug development. *Cancer Metastasis Rev* 2017;36(2):225–34. DOI: 10.1007/s10555-017-9672-2. PMID: 28674748.
13. Suzuki-Inoue K., Osada M., Ozaki Y. Physiologic and pathophysiologic roles of interaction between C-type lectin-like receptor 2 and podoplanin: partners from in utero to adulthood. *J Thromb Haemost* 2017;15(2):219–29. DOI: 10.1111/jth.13590. PMID: 27960039.
14. Shirai T., Inoue O., Tamura S. et al. C-type lectin-like receptor 2 promotes hematogenous tumor metastasis and prothrombotic state in tumor-bearing mice. *J Thromb Haemost* 2017;15(3):513–25. DOI: 10.1111/jth.13604. PMID: 28028907.
15. Hitchcock J.R., Cook C.N., Bobat S. et al. Cunningham, Inflammation drives thrombosis after Salmonella infection via CLEC-2 on platelets. *J Clin Invest* 2015;125(12):4429–46. DOI: 10.1172/JCI79070. PMID: 26571395.
16. Payne H., Ponomaryov T., Watson S.P., Brill A. Mice with a deficiency in CLEC-2 are protected against deep vein thrombosis. *Blood* 2017;129(14):2013–20. DOI: 10.1182/blood-2016-09-742999. PMID: 28104688.
17. Kato Y., Fujita N., Kunita A. et al. Molecular Identification of Aggrus/T1α as a Platelet Aggregation-inducing Factor Expressed in Colorectal Tumors. *J Biol Chem* 2003;278(51):51599–605. DOI: 10.1074/jbc.M309935200. PMID: 14522983.
18. Kaneko M.K., Kato Y., Kitano T., Osawa M. Conservation of a platelet activating domain of Aggrus/podoplanin as a platelet aggregation-inducing factor. *Gene* 2006;378:52–7. DOI: 10.1016/j.gene.2006.04.023. PMID: 16766141.
19. Pollitt A.Y., Poulter N.S., Gitz E. et al. Syk and src family kinases regulate c-type lectin receptor 2 (clec-2)-mediated clustering of podoplanin and platelet adhesion to lymphatic endothelial cells. *J Biol Chem* 2014;289(52):35695–710. DOI: 10.1074/jbc.M114.584284. PMID: 25368330.

20. Shin Y., Morita T. Rhodocytin, a functional novel platelet agonist belonging to the heterodimeric C-type lectin family, induces platelet aggregation independently of glycoprotein Ib. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 245(3):741–5. DOI: 10.1006/bbrc.1998.8516. PMID: 9588185.
21. Suzuki-Inoue K., Kato Y., Inoue O. et al. Involvement of the snake toxin receptor CLEC-2, in podoplanin-mediated platelet activation, by cancer cells. *J Biol Chem* 2007;282(36):25993–26001. DOI: 10.1074/jbc.M702327200. PMID: 17616532.
22. Watson A.A., Eble J.A., O'Callaghan C.A. Crystal structure of rhodocytin, a ligand for the platelet-activating receptor CLEC-2. *Protein Sci* 2008;17(9):1611–6. DOI: 10.1110/ps.035568.108. PMID: 18583525.
23. Nagae M., Morita-Matsumoto K., Kato M. et al. A platform of C-type lectin-like receptor CLEC-2 for binding O-glycosylated podoplanin and nonglycosylated rhodocytin. *Structure* 2014;22(12):1711–21. DOI: 10.1016/j.str.2014.09.009. PMID: 25458834.
24. Watson A.A., Christou C.M., James J.R. et al. The platelet receptor CLEC-2 is active as a dimer. *Biochemistry* 2009;48(46):10988–96. DOI: 10.1021/bi901427d. PMID: 19824697.
25. Manne B.K., Getz T.M., Hughes C.E. et al. Fucoidan is a novel platelet agonist for the C-type lectin-like receptor 2 (CLEC-2). *J Biol Chem* 2013;288(11):7717–26. DOI: 10.1074/jbc.M112.424473. PMID: 23341451.
26. Hughes C.E., Sinha U., Pandey A. et al. Critical role for an acidic amino acid region in platelet signaling by the HemITAM (hemim-immunoreceptor tyrosine-based activation motif) containing receptor CLEC-2 (C-type lectin receptor-2). *J Biol Chem* 2013;288(7):5127–35. DOI: 10.1074/jbc.M112.411462. PMID: 23264619.
27. Hughes C.E., Finney B.A., Koentgen F. et al. The N-terminal SH2 domain of Syk is required for (hem) ITAM, but not integrin, signaling in mouse platelets. *Blood* 2015;125(1):144–55. DOI: 10.1182/blood-2014-05-579375. PMID: 25352128.
28. Pollitt A.Y., Grygielska B., Leblond B. et al. Phosphorylation of CLEC-2 is dependent on lipid rafts, actin polymerization, secondary mediators, and Rac. *Blood* 2010;115(914):2938–2946. DOI: 10.1182/blood-2009-12-257212. PMID: 20154214.
29. Hughes C.E., Pollitt A.Y., Mori J. et al. CLEC-2 activates Syk through dimerization. *Blood* 2010;115(14):2947–55. DOI: 10.1182/blood-2009-08-237834. PMID: 20154219.
30. Badolia R., Inamdar V., Manne B.K. et al. Gq pathway regulates proximal C-type lectin-like receptor-2(CLEC-2) signaling in platelets. *J Biol Chem* 2017; 292(35):14516–31. DOI: 10.1074/jbc.M117.791012. PMID: 28705934.
31. Manne B.K., Badolia R., Dangelmaier C. et al. Distinct pathways regulate Syk protein activation downstream of immune tyrosine activation motif (ITAM) and hemITAM receptors in platelets. *J Biol Chem* 2015;290(18):11557–68. DOI: 10.1074/jbc.M114.629527. PMID: 25767114.
32. Gibbins J.M., Briddon S., Shutes A. et al. The p85 subunit of phosphatidylinositol 3-kinase associates with the Fc receptor gamma chain and linker for activator of T cells (LAT) in platelets stimulated by collagen and convulxin. *J Biol Chem* 1998;273(51):34437–43. DOI: 10.1074/jbc.273.51.34437. PMID: 9852111.
33. Manne B.K., Badolia R., Dangelmaier C.A., Kunapuli S.P. C-type lectin like receptor 2 (CLEC-2) signals independently of lipid raft microdomains in platelets. *Biochem Pharmacol* 2015;93(2):163–70. DOI: 10.1016/j.bcp.2014.11.005. PMID: 25462818.
34. Akinleye A., Chen Y., Mukhi N. et al. Ibrutinib and novel BTK inhibitors in clinical development. *J Hematol Oncol* 2013;6:59. DOI: 10.1186/1756-8722-6-59. PMID: 23958373.

Благодарность. Авторы выражают благодарность чл.-корр. РАН Фазоилу Инноятовичу Атауллаханову (ЦТП ФХФ РАН) за поддержку и вдохновение при выполнении данной работы.

Acknowledgement. We are very grateful to Fasoil Innayatovich Ataullakhanov, member of the Russian Academy of Sciences (Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology) for his valuable support and inspiration.

Вклад авторов

А.А. Мартянов: обзор публикаций по теме статьи, дизайн и написание статьи;

В.Н. Канева: участие в написании статьи;

М.А. Пантелеев: окончательное одобрение рукописи;

А.Н. Свешникова: концепция и дизайн статьи, окончательное одобрение рукописи.

Authors' contributions

A.A. Martyanov: literature review, design and article writing;

V.N. Kaneva: article writing;

M.A. Panteleev: final approval of the article;

A.N. Sveshnikova: concept and design of the article, final approval of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Мартянов / A.A. Martyanov: <https://orcid.org/0000-0003-0211-6325>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 17-74-20045.

Financing. The study was supported by Russian Science Foundation, grant N 17-74-20045.

Статья поступила: 06.04.2018. **Принята к публикации:** 31.07.2018.

Article received: 06.04.2018. **Accepted for publication:** 31.07.2018.

Сравнительные методологические исследования включения L-аспарагиназы в эритроциты

Д.В. Борсакова^{1,2}, М.Е. Плахотник^{1,3}, Л.Д. Колева^{1,2}, Е.А. Бовт^{1,2},
Ю.Г. Александрович^{1,2}, Ф.И. Атауллаханов^{1,2,4}, Е.И. Синауридзе^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН»;
Россия, 119991 Москва, Ленинский просп., 38А, к. 1;

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины;
Россия, 119192 Москва, Ломоносовский просп., 27, к. 1;

⁴Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет;
Россия, 119991 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2

Контакты: Дарья Валерьевна Борсакова d.borsakova@gmail.com

Введение. L-аспарагиназа широко используется в терапии острого лимфобластного лейкоза у детей и взрослых, но применение препарата ограничено из-за широкого спектра побочных эффектов и анафилактических реакций. Для решения этих проблем в качестве лекарственной формы может быть использована L-аспарагиназа, загруженная в эритроциты. При этом фермент защищен эритроцитарной мембраной от иммунной системы и протеаз плазмы, но продолжает работать внутри клетки, так как ее мембрана проницаема для аспарагина. Это увеличивает время полувыведения препарата и снижает анафилактические реакции. Включить L-аспарагиназу в эритроциты можно различными осмотическими методами. Каждый из них характеризуется количеством включенного фермента, долей выживших клеток, а также показателями качества загруженных препаратом эритроцитов. Для применения данной лекарственной формы в клинике ключевую роль играет также возможность обеспечить стерильность препарата.

Цель работы — сравнить 3 осмотических метода включения L-аспарагиназы в эритроциты (гипоосмотический лизис, диализ и проточный диализ) с целью выбора наиболее перспективного метода для применения в клинике.

Материалы и методы. Суспензию эритроцитов здоровых доноров (гематокрит 60–70 %) смешивали с L-аспарагиназой из *E. coli* и подвергали в гипоосмотических условиях обратимому лизису, диализу в диализных мешках или проточному диализу с использованием педиатрических диализаторов. После процедуры эритроциты приводили к исходной осмоляльности добавлением гипертонического раствора и инкубировали 30 мин при температуре 37 °С, а затем отмывали в изотоничном фосфатно-солевом буфере с рН 7,4. В суспензиях эритроцитов до и после процедуры включения фермента измеряли объем, гематокрит и активность L-аспарагиназы, а также гематологические показатели и осмотическую резистентность клеток.

Результаты. Выбрана оптимальная осмоляльность гипотонического буфера для включения фермента, которая составила 90–110 мОсм/кг. Выходы инкапсуляции были равны $4,2 \pm 2,0$; $6,0 \pm 2,3$ и $16,2 \pm 2,2$ % для методов гипотонического лизиса, диализа и проточного диализа соответственно. Гематологические индексы полученных эритроцитов-носителей отличались от соответствующих показателей исходных эритроцитов, но не различались существенно для разных методов включения.

Заключение. Сравнение исследованных параметров позволяет сделать вывод, что наиболее перспективным для использования в клинике является включение L-аспарагиназы в эритроциты методом проточного диализа с использованием диализаторов.

Ключевые слова: эритроциты-носители, L-аспарагиназа, обратимый гипоосмотический лизис, гипоосмотический диализ, проточный диализ

Для цитирования: Борсакова Д.В., Плахотник М.Е., Колева Л.Д. и др. Сравнительные методологические исследования включения L-аспарагиназы в эритроциты. Онкогематология 2018;13(3):91–101.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-91-101

Comparative methodological studies of L-asparaginase encapsulation into erythrocytes

D.V. Borsakova^{1,2}, M.E. Plakhotnik^{1,3}, L.D. Koleva^{1,2}, E.A. Bovt^{1,2},
Yu.G. Alexandrovich^{1,2}, F.I. Ataulakhonov^{1,2,4}, E.I. Sinauridze^{1,2}

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia;

²Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences;
38A, bldg. 1 Leninskiy Prospekt, Moscow 119991, Russia;

³Lomonosov Moscow State University, Faculty of Fundamental Medicine; 27, bldg. 1, Lomonosovskiy Prospekt, Moscow 119192, Russia;

⁴Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics; 1, bldg. 2 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia

Background. *L*-asparaginase is an enzyme, widely used in the therapy of acute lymphoblastic leukemia in children and adults, but its use is limited due to a wide range of side effects and anaphylactic reactions. *L*-asparaginase loaded into erythrocytes can solve these problems. This enzyme is protected from the immune system and plasma proteases due to erythrocyte membrane, but continues to work inside the cell because its membrane is permeable to *L*-asparagine. Thus, the half-life of the drug increases and anaphylactic reactions reduce. The encapsulation of *L*-asparaginase into erythrocytes can be performed by various osmotic methods. Each of them is characterized by the amount of encapsulated enzyme, the cell yield, as well as by the quality indices of the survived erythrocytes. An important parameter of each method is the possibility to provide sterility of this dosage form for the clinical use.

The aim of the study was the comparing of three osmotic methods of *L*-asparaginase encapsulation into erythrocytes (hypo-osmotic lysis, dialysis and flow dialysis) to select the most promising method for clinical use.

Materials and methods. A suspension of erythrocytes of healthy donors (hematocrit 60–70%) was mixed with *L*-asparaginase from *E. coli*. The procedures of hypotonic reversible lysis, dialysis in dialysis bags, or flow dialysis using pediatric dialyzers were performed. The physiological osmolality was restored in suspensions after the procedure by the addition of a hypertonic solution, and they were incubated for 30 min at 37 °C. Then the cells were washed in isotonic phosphate-buffered saline with pH 7.4. Activity of *L*-asparaginase, volume, hematocrit, hematological indices and osmotic cell fragility of erythrocytes were measured in the suspensions of erythrocytes before and after the enzyme encapsulation procedure.

Results. An optimal osmolality of the hypotonic buffer for each method was selected and was equal to 90–110 mOsm/kg. The yields of encapsulation were 4.2 ± 2.0 , 6.0 ± 2.3 and 16.2 ± 2.2 % for hypotonic lysis, dialysis and flow dialysis, respectively. The hematological indices of the obtained erythrocyte-carriers differed from the corresponding parameters of the initial erythrocytes, but did not differ significantly for different methods.

Conclusion. Comparative investigation of mentioned above parameters allowed choosing the method of flow dialysis as the most promising for clinical use.

Key words: erythrocytes-carriers, *L*-asparaginase, reversible hypo-osmotic lysis, hypo-osmotic dialysis, flow dialysis

For citation: Borsakova D.V., Plakhotnik M.E., Koleva L.D. et al. Comparative methodological studies of *L*-asparaginase encapsulation into erythrocytes. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2018;13(3):91–101

Введение

L-аспарагиназа является ферментом, который катализирует превращение *L*-аспарагина в *L*-аспарагиновую кислоту. Благодаря способности разрушать аспарагин, *L*-аспарагиназа из *E. coli* обладает цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам и широко применяется при лечении острого лимфобластного лейкоза и лимфосарком у взрослых и детей [1]. Препарат обладает рядом побочных эффектов, вызванных в основном нарушением синтеза белков из-за снижения концентрации аспарагина. Кроме того, у некоторых пациентов препарат вызывает острые аллергические реакции, вплоть до анафилактического шока [2]. Реакция иммунной системы также сильно укорачивает время пребывания препарата в кровотоке [3]. Эти проблемы частично были решены применением *L*-аспарагиназы, связанной с полиэтиленгликолем (ПЭГ-аспарагиназы) [4], и рекомбинантной аспарагиназы из другого источника (*Erwinia chrysanthemi*) [3]. Несмотря на то что ПЭГ-аспарагиназа обладает более долгим периодом пребывания в кровотоке и сниженной иммуногенностью, у пациентов все же развиваются побочные эффекты и аллергические реакции на полиэтиленгликоль. *L*-аспарагиназа из *Erwinia chrysanthemi* менее иммуногенна, но обладает более коротким периодом полувыведения, чем фермент из *E. coli* [3].

Чтобы уменьшить побочные эффекты, а также увеличить время жизни препарата в кровотоке, некоторые авторы попытались включить *L*-аспарагиназу

в эритроциты человека [5–13]. Такая лекарственная форма фермента обладает рядом преимуществ по сравнению с другими системами доставки: эритроциты биосовместимы и биodeградируемы, их мембрана защищает фермент от протеолитической дегградации и реакций иммунной системы, а продолжительное время жизни эритроцита в организме позволяет препарату дольше циркулировать в крови [14]. При этом аспарагин, проникая внутрь эритроцитов, продолжает разрушаться [11]. Для включения препарата в эритроциты можно использовать как донорские, так и аутологичные эритроциты, которые обладают тем преимуществом, что не вызывают аллоиммунизации или агглютинации. Однако для приготовления лекарств, включенных в эритроциты-носители, у детей существуют ограничения, связанные с допустимым объемом забора крови. Это необходимо учитывать при разработке метода создания таких эритроцитов с лекарством внутри (фармакоцитов).

Для включения лекарств в эритроциты можно использовать различные методы, такие как электропорация, фармакологически вызванный эндоцитоз и различные варианты осмотического метода [14]. Самым распространенным для включения высокомолекулярных препаратов стал осмотический метод. Он достаточно прост, позволяет обработать большое количество эритроцитов и получить высокий процент включения препарата, а также фармакоциты, по характеристикам близкие к нативным эритроцитам. Основой любого осмотического метода является

инкубация эритроцитов в гипотонической среде, которая приводит к их сферуляции, т.е. набуханию, в результате чего форма эритроцита становится сферической. Клетки увеличиваются в объеме и достигают точки, когда в мембране эритроцитов образуются поры, через которые могут проходить высокомолекулярные соединения.

Для включения L-аспарагиназы в эритроциты применяли различные модификации осмотического метода:

- обратимый гипоосмотический лизис, при котором эритроциты прямо разводят водой или гипоосмотическим буфером, содержащим фермент, и после нескольких минут инкубации при 4 °С нормализуют осмоляльность суспензии добавлением гипертонического раствора. Затем фармакоциты запечатывают путем инкубации в этой среде в течение 30 мин при 37 °С [6, 11];

- гипоосмотический диализ, при котором эритроциты помещают в диализные мешки (пропускающие молекулы с молекулярной массой менее 12–15 кДа). Их погружают в гипоосмотический буфер и проводят диализ от 30 до 120 мин при 4 °С. После диализа также восстанавливают тоничность суспензии и запечатывают полученные фармакоциты (см. ранее) [7, 8];

- ступенчатый диализ — одна из разновидностей диализного метода. Его проводят как обычный диализ, но в процессе инкубации несколько раз меняют гипоосмотический раствор, постепенно снижая его осмоляльность, а запечатывают фармакоциты, диализуя их против изотонического буфера [15];

- метод предварительного набухания (сферуляция без лизиса). Эритроциты помещают в гипотонический буфер с высоким содержанием калия, в котором они подвергаются процессу сферуляции, а затем на суспензию наслаивают гемолизат эритроцитов и поверх этого слоя водный раствор L-аспарагиназы. Смесь центрифугируют при 500 g в течение 4 мин. Затем процесс добавления гемолизата, раствора L-аспарагиназы и центрифугирования повторяют несколько раз — до тех пор, пока не достигается точка лизиса (при этом на поверхности осадка визуально наблюдаются белые тени эритроцитов). Запечатывание и отмывание полученных фармакоцитов проводят описанным ранее стандартным методом [9];

- метод проточного диализа. Вместо диализного мешка используют диализатор, применяемый в аппаратах «искусственной почки». Он представляет собой пучок полых волокон из полупроницаемой мембраны, пропускающей молекулы с молекулярной массой менее 12–15 кДа, окруженный кожухом. По внутреннему контуру диализатора (в полости волокон) пропускают суспензию эритроцитов с добавленным препаратом, а по внешнему контуру (пространство снаружи волокон) противотоком — гипоосмотический буфер. После диализа к эритроцитам добавляют гипертонический

раствор. Фармакоциты запечатывают и отмывают стандартным образом [10, 13].

Для приготовления фармакоцитов в клинике необходимо выбрать наиболее оптимальный метод. Однако работ, где сравниваются свойства фармакоцитов, полученных разными методами, совсем мало. Так, в работе [12] проводили сравнение некоторых характеристик фармакоцитов, полученных методом обратимого гипоосмотического лизиса [11], диализа [8] и ступенчатого диализа [15]. Авторы исследовали концентрации аденозинтрифосфата (АТФ), восстановленного глутатиона, глюкозо-6-фосфата, скорость утилизации глюкозы, скорость утечки калия из эритроцита, а также скорость гемолиза и показали, что метод обратимого гипоосмотического лизиса характеризуется самой маленькой эффективностью включения и значительными изменениями биохимических характеристик эритроцитов после процедуры. Максимальная эффективность включения наблюдалась для метода диализа, а метод ступенчатого диализа, разработанный авторами, позволял на 20 % менее эффективно включить L-аспарагиназу в эритроциты, однако свойства полученных фармакоцитов были значительно ближе к свойствам нативных клеток, чем для других методов.

Кроме эффективности включения и биохимических характеристик фармакоцитов, для сравнения различных методов следует принимать во внимание также простоту технического исполнения метода в клинике, возможность соблюдения стерильности и требований к качеству и безопасности трансфузий, а также возможность работать в широком диапазоне объемов эритроцитов (чтобы использовать как донорские клетки, так и небольшие количества аутологичных эритроцитов). С этой точки зрения наиболее простым в реализации кажется метод обратимого гипоосмотического лизиса. Методы диализа также можно применять в клинике с использованием стерильных одноразовых расходных материалов. Об этом свидетельствуют успешные клинические исследования фармакоцитов с L-аспарагиназой, полученных методом проточного диализа [16, 17].

Таким образом, все перечисленные методы потенциально можно адаптировать для клинического применения. Для оптимального проведения процедуры необходимо найти компромисс между эффективностью инкапсуляции L-аспарагиназы и степенью повреждения эритроцитов, вызванного воздействием гипоосмотической среды [14].

Цель работы — выбрать наиболее перспективный для использования в клинике метод включения L-аспарагиназы в эритроциты, для чего провести подбор оптимальных условий включения фермента в клетки при использовании методов обратимого гипоосмотического лизиса, гипоосмотического диализа или проточного диализа и сравнить эффективность включения, а также гематологические показатели

и осмотическую резистентность фармакоцитов, полученных этими методами при оптимальных условиях включения.

Материалы и методы

Материалы

В работе были использованы лиофилизаты препарата L-аспарагиназы из *E. coli* Аспарагиназа Medac (Medac, Германия) и Веро-аспарагиназа (Верофарм, Россия) по 5000 и 10000 МЕ. Были использованы также глюкоза, АТФ, пируват, инозин, $MgCl_2$, одно- и двузамещенные фосфаты натрия, аспартат- β -гидроксамат, 8-гидроксихинолин, Na_2CO_3 и трихлоруксусная кислота фирмы Sigma-Aldrich (Сент-Луис, США); одно- и двузамещенные фосфаты калия, NaCl, аденин фирмы AppliChem GmbH (Дармштадт, Германия); Трис (Tris) фирмы Reanal (Будапешт, Венгрия); забуференный фосфатом физиологический раствор (фосатно-солевой буфер, pH 7,4; PBS) фирмы Биолот (Санкт-Петербург, Россия) и бычий сывороточный альбумин (BSA) фирмы BioClot GmbH (Айденбах, Германия).

Выделение эритроцитов и подготовка растворов

Для получения фармакоцитов методами обратимого гипоосмотического лизиса и гипоосмотического диализа кровь здоровых доноров после пункции локтевой вены забирали в стандартные вакуумные пробирки фирмы Vacuette, содержащие 3,2 % (0,109 M) трехзамещенный цитрат натрия. Соотношение цитрат:кровь составляло 1:9. Эритроциты осаждали путем центрифугирования при 1000 g в течение 8 мин. Плазму и лейкоцитомбослой удаляли, а осевшие эритроциты отмывали 3 раза в четырехкратном объеме раствора PBS с последующим центрифугированием в течение 8 мин при 1000 g. Для получения эритроцитов-носителей методом проточного диализа использовали стандартную эритроцитную взвесь здоровых доноров, приготовленную в отделении трансфузиологии и хранившуюся не более 5 дней в растворе SAGM, содержащем хлорид натрия, аденин, глюкозу и маннитол (0,877; 0,017; 0,818 и 0,525 г на 100 мл раствора соответственно). Отмывали эритроциты однократно в четырехкратном объеме раствора PBS с тем же режимом центрифугирования. Все эритроцитные взвеси перед процедурой охлаждали до 4 °C в течение 1 ч. Заранее охлаждали также гипоосмотический раствор, содержащий 2 mM $MgCl_2$; 34 mM KH_2PO_4/K_2HPO_4 ; 1,5 mM АТФ; 5 mM глюкозы и NaCl от 0 до 35 mM в зависимости от целевой осмоляльности раствора (pH 7,4). Раствор L-аспарагиназы готовили путем разведения лиофилизата буфером (0,015 M Tris-HCl + 0,015 % BSA, pH 7,3) до конечной активности 2000 МЕ/мл.

Методы включения L-аспарагиназы в эритроциты

Все использованные в работе осмотические методы включения фермента в эритроциты существенно различались только в 1-й части процедуры (по воздействию гипоосмотической среды на эритроциты),

но почти совпадали в части запечатывания и отмывания полученных фармакоцитов, поэтому сначала будут отдельно рассмотрены процедуры гипоосмотической обработки клеток для каждого метода.

Процедура обратимого гипоосмотического лизиса.

К 1,7 мл гипотонического раствора добавляли 20 мкл предварительно разведенного в буфере препарата L-аспарагиназы с активностью 2000 МЕ/мл (см. ранее). К 100 мкл суспензии эритроцитов с гематокритом 78 ± 3 % добавляли 400 мкл смеси гипотонического раствора и L-аспарагиназы и инкубировали 3 мин при 4 °C. После этого фармакоциты запечатывали (см. далее).

Процедура гипоосмотического диализа. В диализный мешок (Dialysis tubing cellulose membrane D9777, Sigma-Aldrich) помещали 1 мл эритроцитной взвеси с гематокритом 70 % и 20 мкл раствора L-аспарагиназы. Диализ суспензии эритроцитов проводили против гипоосмотического буфера (5 mM KH_2PO_4 ; 2 mM $MgCl_2$; 5 mM глюкозы; 1,5 mM АТФ, pH 7,4) в течение 2 ч при 4 °C. Соотношение объема суспензии и объема гипоосмотического раствора составляло 1:100. Равномерное перемешивание раствора в течение процедуры диализа обеспечивали с помощью магнитной мешалки.

Процедура проточного диализа. К 45 мл суспензии эритроцитов с гематокритом 60 % добавляли 360 мкл раствора L-аспарагиназы (с активностью 2000 МЕ/мл). Диализ проводили в системе, состоящей из педиатрического диализатора FX Paed фирмы Fresenius (Бад-Хомбург, Германия), стерильных мешков и магистралей, которые перед процедурой промывали физиологическим раствором в течение 10 мин (рис. 1). Гипоосмотический раствор по магистрали внешнего контура прокачивали с помощью перистальтического насоса со скоростью 20 мл/мин, а эритроцитную взвесь по магистрали внутреннего контура прокачивали противотоком с помощью другого перистальтического насоса со скоростью 3 мл/мин. Во время диализа мешок с эритроцитной взвесью перемешивали на шейкере (с частотой 150 мин⁻¹). После того как эритроцитная взвесь полностью проходила внутренний контур, по нему пропускали физиологический раствор в объеме 20 мл.

Запечатывание и отмывка эритроцитов. Запечатывающий гиперосмотический раствор, содержащий 55 mM NaCl; 30 mM NaH_2PO_4 ; 458 mM KCl; 20 mM АТФ; 3 mM $MgCl_2$; 1,5 mM аденина; 8,4 mM глюкозы; 1,5 mM пирувата и 30 mM инозина (pH 7,4; 2000 мОсм/кг) добавляли в следующих пропорциях:

- после процедуры гипоосмотического лизиса – по 90 мкл в каждую пробу;
- после процедуры гипоосмотического диализа – в объеме 1/3 объема суспензии эритроцитов после диализа;
- после процедуры проточного диализа объем раствора рассчитывали по формуле

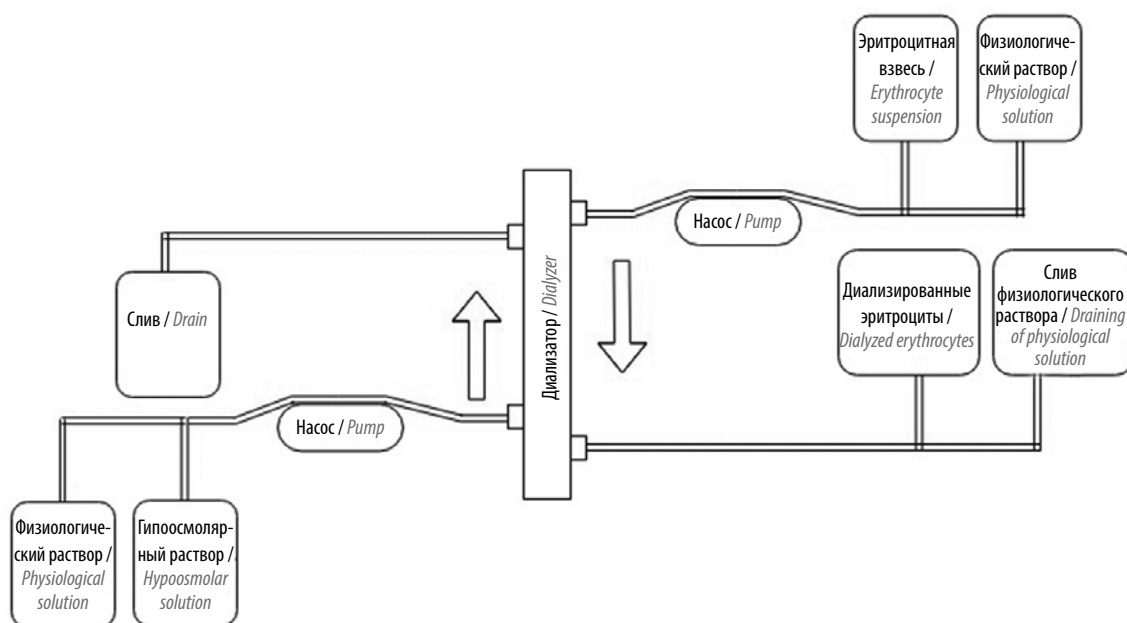


Рис. 1. Схема установки для проточного диализа. Справа от диализатора — внутренний контур (контур крови), слева — внешний контур. Стрелками указаны направления потоков

Fig. 1. Scheme of the apparatus for flow dialysis. To the right of the dialyzer is the inner circuit (blood contour), to the left — the outer circuit. The arrows indicate the flow directions

$$V_{\text{раствора}} = V_{\text{сусп}} \times (\text{Осм}_{\text{целев}} - \text{Осм}_{\text{исх}}) / (\text{Осм}_{\text{раствора}} - \text{Осм}_{\text{целев}}),$$
 где $V_{\text{сусп}}$ — объем суспензии эритроцитов после диализа; $\text{Осм}_{\text{исх}}$ — исходная осмоляльность диализированной суспензии, которую принимали равной осмоляльности гипотонического раствора; $\text{Осм}_{\text{целев}}$ — конечная осмоляльность суспензии, которой необходимо достичь, равная 350 мОсм/кг, и $\text{Осм}_{\text{раствора}}$ — осмоляльность гипертонического раствора, равная 2000 мОсм/кг.

Далее все пробы инкубировали при 37 °С в течение 30 мин. После инкубации клетки отмывали путем пятикратного центрифугирования в четырехкратном объеме буфера PBS в течение 8 мин при 1000 g. После процедуры проводили измерение объема и гематокрита полученных суспензий фармакоцитов.

Измерение активности L-аспарагиназы

Пробы для измерения активности L-аспарагиназы в суспензиях клеток до и после процедур лизиса/диализа/проточного диализа готовили, добавляя 10 мкл суспензии эритроцитов к 990 или 90 мкл дистиллированной воды (mQ) соответственно. Измерение проводили по методике, описанной в [18]. К лизатам суспензий эритроцитов объемом 10 мкл добавляли по 90 мкл 10 мМ раствора аспартат-β-гидроксамата (АНА) в буфере, содержащем Tris-HCl 15 мМ и 0,015 % BSA (pH 7,3), инкубировали 30 мин при 37 °С и добавляли по 125 мкл трихлоруксусной кислоты (24,5 % по массе). Затем пробы центрифугировали 10 мин при 2500 g, отбирали по 20 мкл надосадка и добавляли к нему по 200 мкл хромофора (1 часть 2 % раствора 8-гидроксихинолина в этаноле и 3 части 1М

карбоната натрия). Смеси нагревали для полного развития окраски при 99 °С в течение 5 мин и измеряли оптическую плотность на 710 нм на микропланшетном ридере VersaMax (Molecular Devices, Калифорния, США). Активность фермента в пробах вычисляли относительно калибровочных стандартных растворов L-аспарагиназы в диапазоне от 15 до 1000 МЕ/л, растворенных в буфере, содержащем Tris-HCl 15 мМ и 0,015 % BSA (pH 7,3), которые были измерены параллельно с образцами.

Измерение эритроцитарных индексов

Все пробы для определения гематологических показателей эритроцитов готовили разведением 20 мкл исходной суспензии эритроцитов или полученных фармакоцитов в 40 мкл PBS. Измерения среднего объема эритроцитов (MCV, фл), среднего содержания гемоглобина в клетке (MCH, пг) и средней концентрации гемоглобина в клетке (MCHC, г/дл) проводили на гематологическом анализаторе Micros 60 фирмы Horiba ABX (Франция).

Измерение осмотической резистентности эритроцитов

Для измерения осмотической резистентности пробы исходной суспензии или полученных фармакоцитов разводили в PBS до гематокрита 5 %. Измерения проводили по методике, описанной в [19]. В кюветы 96-луночного планшета вносили по 300 мкл гипоосмотических растворов с pH 7,4 и различной осмоляльностью от 0 (вода) до 297 мОсм/кг. В каждую кювету добавляли по 6 мкл пробы и инкубировали взвеси 30 мин при комнатной температуре. Затем в кюветы вносили 40 мкл гипертонического раствора, содержащего 96,2 мМ Na₂HPO₄; 15,6 мМ NaH₂PO₄; 1,54 М NaCl

(рН 7,4). Измерение оптической плотности проб проводили на длине волны 620 нм на планшетном ридере Anthos Zenyth 340rt (Biochrom, Кембридж, Англия). Процент нелизированных клеток определяли как отношение (%) оптической плотности, измеренной в конкретной пробе, к оптической плотности той же пробы при нулевом лизисе (в растворе с физиологической осмоляльностью). Величину осмотической резистентности характеризовали значением осмоляльности раствора, при котором 50 % исходных клеток было лизировано (H_{50}), а также значением ширины распределения кривой осмотической резистентности (W), т.е. разности осмоляльностей растворов, при которых наблюдалось 10 и 90 % лизиса.

Осмоляльность всех растворов измеряли на осмометре ОСКР-1М (КИВИ Осмометрия, Санкт-Петербург, Россия).

Расчет процента инкапсуляции L-аспарагиназы и выхода клеток

Для оценки эффективности процедуры включения фермента были рассчитаны выходы инкапсуляции,

представляющие собой процент фермента, оказавшегося включенным в фармакоциты после процедуры, и выход клеток, характеризующий процент клеток, сохранившихся после процедуры включения. Эти показатели были рассчитаны по следующим формулам:

$$\text{Выход клеток (\%)} = V_{\text{конеч}} \times H_{\text{конеч}} \times 100 / (V_{\text{исх}} \times H_{\text{исх}});$$

$$\text{Инкапсуляция L-аспарагиназы (\%)} = A_{\text{конеч}} \times V_{\text{конеч}} \times 100 / (A_{\text{исх}} \times V_{\text{исх}}),$$

где $A_{\text{исх}}$ и $A_{\text{конеч}}$ — активности фермента в исходной суспензии эритроцитов до процедуры и конечной суспензии фармакоцитов с включенной L-аспарагиназой соответственно; $V_{\text{исх}}$ и $V_{\text{конеч}}$ — объемы; $H_{\text{исх}}$ и $H_{\text{конеч}}$ — гематокриты этих суспензий соответственно.

Результаты

Зависимость эффективности инкапсуляции и выхода эритроцитов от осмоляльности гипоосмотического буфера
На рис. 2 представлены усредненные результаты

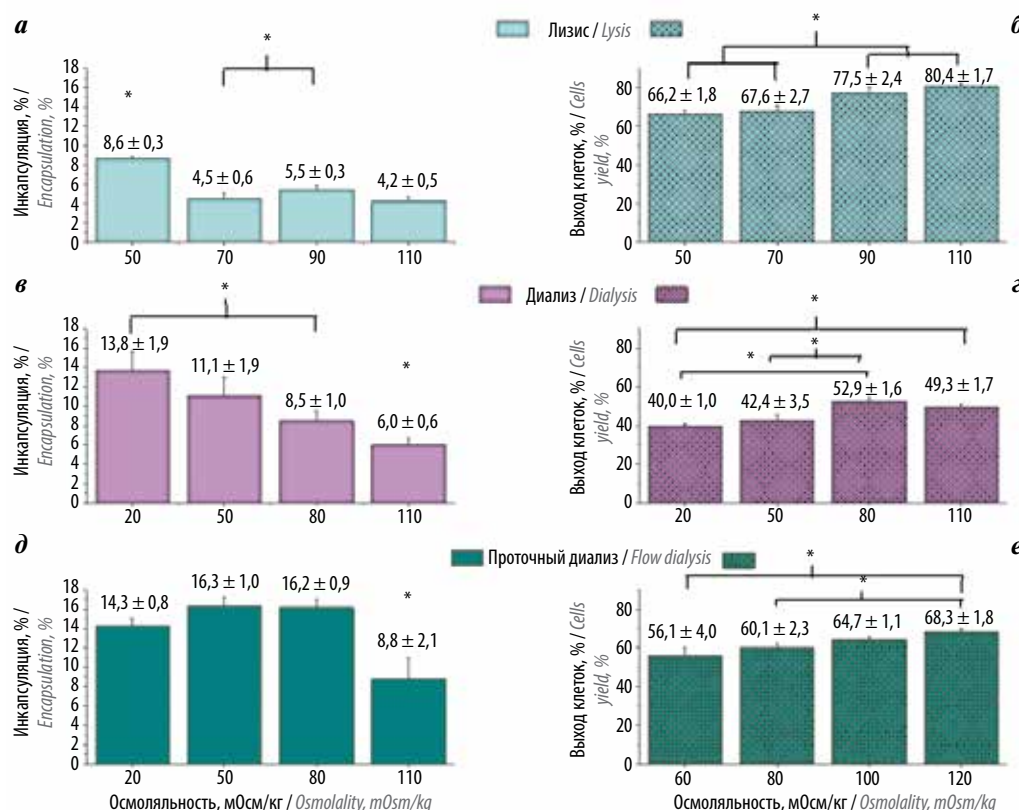


Рис. 2. Зависимости эффективности включения L-аспарагиназы в эритроциты (а, в, д) и выхода клеток (б, г, е) от осмоляльности гипоосмотического буфера: а, б — эритроциты получены методом обратимого гипоосмотического лизиса при осмоляльностях 50 (n = 12), 70 (n = 17), 90 (n = 17) и 110 мОсм/кг (n = 17); в, г — эритроциты получены методом гипоосмотического диализа при осмоляльностях 20 (n = 6), 50 (n = 6), 80 (n = 12) и 110 мОсм/кг (n = 12); д, е — эритроциты получены методом проточного диализа при осмоляльностях буфера 60, 80, 100, 120 мОсм/кг (для каждой осмоляльности n = 6). Представлены средние значения ± стандартная ошибка среднего. *Отличие отмеченной группы от всех других достоверно либо различия между указанными группами достоверны (ANOVA, p < 0,05).

Fig. 2. Dependence of L-asparaginase incorporation efficiency (a, в, д) and cell yield (б, г, е) on osmolality of the hypoosmotic buffer: а, б — erythrocytes were obtained by reversible hypo-osmotic lysis with osmolality of 50 (n = 12), 70 (n = 17), 90 (n = 17) and 110 mOsm/kg (n = 17); в, г — erythrocytes were obtained by hypoosmotic dialysis with osmolality of 20 (n = 6), 50 (n = 6), 80 (n = 12) and 110 mOsm/kg (n = 12); д, е — erythrocytes were obtained by flow dialysis with osmolality of buffer 60, 80, 100, 120 mOsm/kg (for each osmolality n = 6). The mean values ± the standard error are presented. *The difference of the noted group from all others is statistically significant, or the differences between these groups are statistically significant (ANOVA, p < 0.05).

измерения процента инкапсуляции и выхода клеток при различных осмоляльностях гипоосмотического буфера, полученные для разных методов включения L-аспарагиназы в эритроциты. При проведении процедуры гипоосмотического лизиса инкапсуляция резко снижалась при осмоляльности буфера выше 50 мОсм/кг (см. рис. 2а). Выход клеток для этой процедуры, наоборот, возрастал с увеличением осмоляльности лизирующего буфера от 70 до 90 мОсм/кг (см. рис. 2б). При гипоосмотическом диализе инкапсуляция L-аспарагиназы также снижалась с ростом осмоляльности диализирующего буфера (см. рис. 2в), а выход клеток, наоборот, увеличивался (см. рис. 2г). В результате процедуры проточного диализа инкапсуляция L-аспарагиназы оставалась постоянной в диапазоне осмоляльностей 60–100 мОсм/кг, но выше этого диапазона достоверно снижалась (см. рис. 2д). Выход клеток в этом методе при увеличении осмоляльности диализующего раствора постепенно увеличивался (см. рис. 2е).

Для метода проточного диализа осмоляльность 100 мОсм/кг является пороговой, после которой инкапсуляция L-аспарагиназы снижается. При этом выход клеток выше этой осмоляльности практически не увеличивается. Для методов лизиса и диализа максимальное включение было достигнуто при самой низкой осмоляльности диализующего раствора (50 и 20 мОсм/кг соответственно), но выход клеток при этом был минимален (66,2 и 40,0 % для метода лизиса и диализа соответственно). С учетом того, что во всех исследованных методах выход клеток достоверно увеличивается начиная с осмоляльности 80–90 мОсм/кг, по-видимому, для всех этих методов (включая метод проточного диализа) оптимумом можно считать осмоляльность гипоосмотического буфера 80–110 мОсм/кг.

Изменение гематологических показателей эритроцитов после процедуры включения фермента разными методами в зависимости от осмоляльности гипоосмотического буфера

Эритроцитарные индексы исходных эритроцитов и полученных фармакоцитов были измерены для всех исследованных методов включения фермента при различных осмоляльностях гипоосмотического раствора. Полученные результаты представлены на рис. 3.

Средний объем фармакоцитов был меньше соответствующего объема нативных клеток (на 15–30 %), но практически не изменялся при различных осмоляльностях гипоосмотического буфера для всех исследованных методов включения (см. рис. 3а, б, в).

Среднее количество гемоглобина в эритроцитах в ходе проведения процедуры обратимого лизиса при осмоляльностях 50–90 мОсм/кг снижалось значительно (примерно на 60–70 %), в то время как при осмоляльности 110 мОсм/кг количество остаточного гемоглобина в эритроците возросло до 50 % от первоначального значения (см. рис. 3г).

После процедуры диализа количество гемоглобина в эритроцитах снижалось не так значительно (примерно на 40 % при самой низкой использованной осмоляльности – 20 мОсм/кг) и постепенно увеличивалось с ростом осмоляльности буфера. При осмоляльности 110 мОсм/кг это количество уже составляло 75 % от первоначального значения (см. рис. 3д). После процедуры проточного диализа количество гемоглобина в эритроцитах падало примерно на 50 % от исходного при любой осмоляльности гипоосмотического буфера в области 60–120 мОсм/кг (см. рис. 3е).

Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах после гипоосмотического воздействия также падала. При лизисе в диапазоне осмоляльностей 50–110 мОсм/кг концентрация гемоглобина падала на 50–60 % (см. рис. 3ж), после диализа эта концентрация падала не больше чем на 30 % при самой низкой исследованной осмоляльности (см. рис. 3з), а после проточного диализа падение концентрации гемоглобина в клетках составляло примерно 30–40 % (см. рис. 3и). Таким образом, по гематологическим показателям также можно заключить, что оптимум осмоляльности гипоосмотического буфера для всех методов лежит в области 90–100 мОсм/кг. При этих осмоляльностях начинается достоверное увеличение среднего содержания гемоглобина в клетке и приближение среднего объема эритроцита к нормальному значению.

Изменение осмотической резистентности эритроцитов после процедуры обратимого гипоосмотического лизиса, диализа или проточного диализа

Осмотическая резистентность эритроцитов изменяется после воздействия на них осмотической нагрузки. Кривые осмотической резистентности фармакоцитов, полученных всеми исследованными методами при одинаковой осмоляльности буфера (100–110 мОсм/кг), имеют общую тенденцию сдвига в сторону большей резистентности, чем исходные эритроциты (50 % фармакоцитов в этих суспензиях было лизировано при более низкой осмоляльности буфера) (рис. 4). Наиболее выражен сдвиг кривой в сторону увеличения резистентности у эритроцитов после проточного диализа. Чуть более резистентными, чем нативные эритроциты, оказались фармакоциты, полученные методом обратимого гипотонического лизиса, а ближе всех к нативным эритроцитам оставались фармакоциты, полученные методом диализа. Меняется также форма кривой осмотической резистентности. После гипоосмотического воздействия она становится более пологой. Это значит, что эритроциты становятся более разнородными по способности противостоять гипоосмотической среде.

В таблице суммированы параметры, характеризующие эффективность включения и характеристики фармакоцитов, полученные для 3 исследованных методов включения L-аспарагиназы в эритроциты при проведении процедур в оптимальных условиях (при осмоляльности гипоосмотического буфера

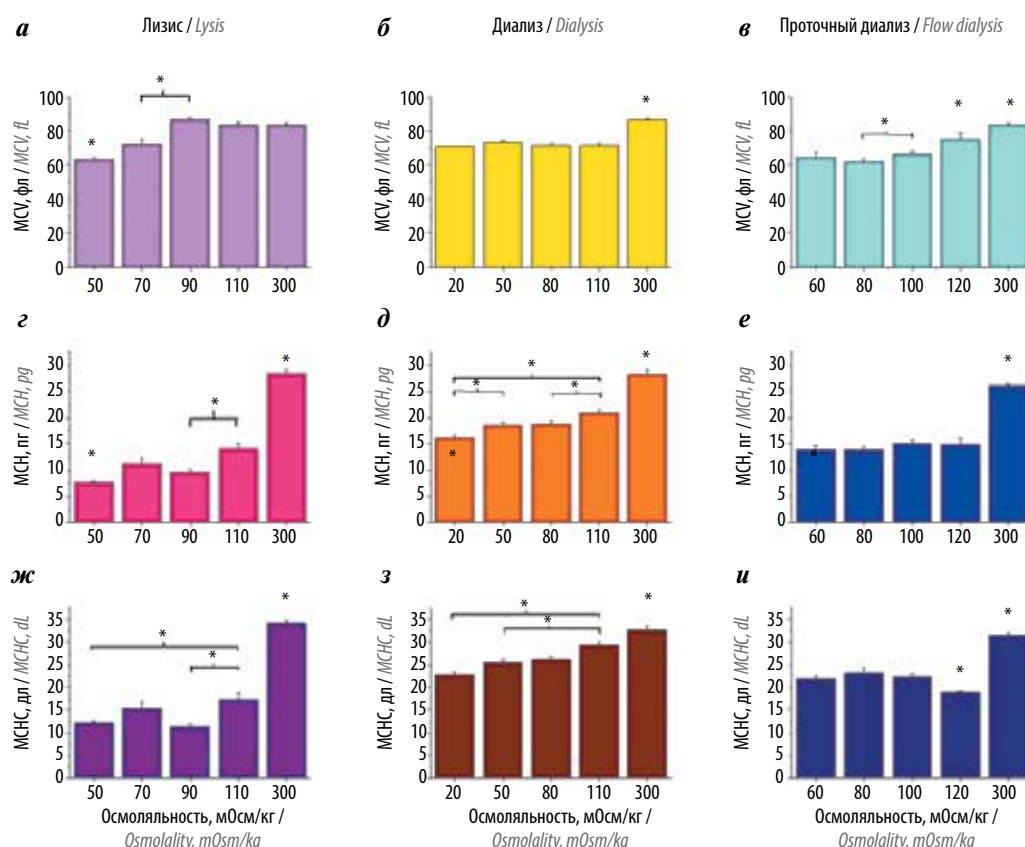


Рис. 3. Изменения среднего объема эритроцита (MCV) (а, б, в), среднего содержания гемоглобина (MCH) (г, д, е) и средней концентрации гемоглобина в клетке (MCHC) (ж, з, и) по сравнению с аналогичными показателями исходных эритроцитов (при осмотическом буфера 300 мОсм/кг) в зависимости от осмотическости гипоосмотического буфера, использованного при включении L-аспарагиназы в эритроциты методом обратимого гипоосмотического лизиса, гипоосмотического диализа и проточного диализа; а, г, ж — эритроциты после процедуры обратимого гипоосмотического лизиса при осмотическости 50 (n = 12), 70 (n = 19), 90 (n = 12), 110 мОсм/кг (n = 25) и исходные эритроциты (300 мОсм/кг, n = 19); б, д, з — эритроциты после процедуры гипоосмотического диализа при осмотическости 20 (n = 8), 50 (n = 9), 80 (n = 12), 110 мОсм/кг (n = 14) и исходные эритроциты (300 мОсм/кг, n = 18); в, е, и — эритроциты после процедуры проточного диализа при осмотическости 60 (n = 7), 80 (n = 10), 100 (n = 5), 120 мОсм/кг (n = 6) и исходные эритроциты (300 мОсм/кг, n = 22). Представлены средние значения ± стандартная ошибка среднего. *Отличие группы от всех других достоверно либо различия между указанными группами достоверны (ANOVA, p < 0,05)

Fig. 3. Changes in the mean erythrocyte volume (MCV) (a, б, в), mean hemoglobin content (MCH) (г, д, е) and mean hemoglobin concentration (MCHC) (ж, з, и) compared to those of the original erythrocytes (with buffer osmolality of 300 mOsm/kg) depending hypo-osmotic buffer osmolality used when L-asparaginase was encapsulated into erythrocytes by reversible hypo-osmotic lysis, hypo-osmotic dialysis and flow dialysis; а, г, ж — erythrocytes after reversible hypo-osmotic lysis with osmolality of 50 (n = 12), 70 (n = 19), 90 (n = 12), 110 mOsm/kg (n = 25) and initial erythrocytes (300 mOsm/kg, n = 19); б, д, з — erythrocytes after hypoosmotic dialysis with osmolality of 20 (n = 8), 50 (n = 9), 80 (n = 12), 110 mOsm/kg (n = 14) and initial erythrocytes (300 mOsm/kg, n = 18); в, е, и — erythrocytes after flow dialysis with osmolality 60 (n = 7), 80 (n = 10), 100 (n = 5), 120 mOsm/kg (n = 6) and initial erythrocytes (300 mOsm/kg, n = 22). The mean values ± the standard error are presented. *The difference of the group from all others is statistically significant, or the differences between these groups are statistically significant (ANOVA, p < 0.05)

100–110 мОсм/кг). Выход инкапсуляции оказался самым высоким для метода проточного диализа. Для этого метода также лучше всего сохранилась ширина распределения клеток по осмотической резистентности, хотя сама кривая была сдвинута в сторону увеличения этой резистентности сильнее, чем для других методов инкапсуляции (см. таблицу).

Выходы клеток в разных методах достоверно различались, снижаясь в ряду обратимый гипоосмотический лизис > проточный диализ > гипоосмотический диализ. Эритроцитарные индексы фармакоцитов всегда отличались от нормальных показателей исходных эритроцитов, однако разные показатели в ходе различных процедур включения варьировали по-разному. Так, средний объем эритроцита был ближе всего

к нормальному значению после процедуры лизиса, а количество и концентрация остаточного гемоглобина — после процедуры диализа (см. таблицу).

Обсуждение

При сравнении 3 методов по показателю инкапсуляции L-аспарагиназы можно сделать вывод о том, что только метод проточного диализа дает эффективное включение фермента в эритроциты (в 3 раза выше, чем метод диализа, и в 4 раза выше, чем метод лизиса) (см. таблицу). Выход клеток выше всего после процедуры лизиса, что связано, по-видимому, с отсутствием технологических потерь клеток, не связанных непосредственно с лизисом, тогда как в методах диализа и проточного диализа выход клеток связан с частич-

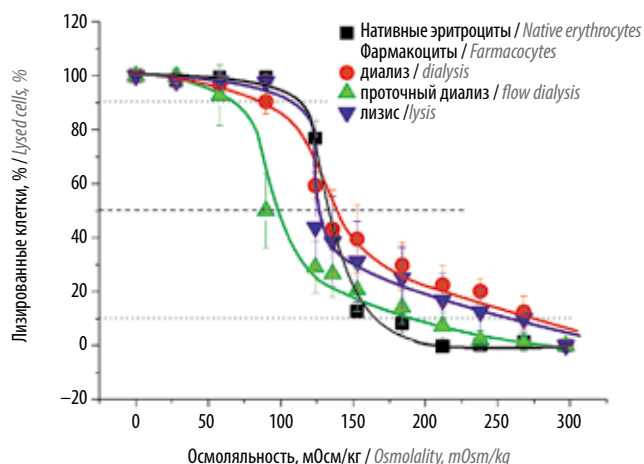


Рис. 4. Кривые осмотической резистентности исходных эритроцитов и фармакоцитов, полученных методом обратимого гипоосмотического лизиса, диализа и проточного диализа при осмоляльности буфера 100–110 мОсм/кг. Представлены средние значения $\pm$ стандартное отклонение

Fig. 4. Osmotic resistance curves of initial erythrocytes and pharmacocytes obtained by reversible hypo-osmotic lysis, dialysis and flow dialysis with buffer osmolality 100–110 mOsm/kg. The mean values $\pm$ the standard deviation are presented

Сравнение выхода клеток, процента инкапсуляции фермента и показателей качества фармакоцитов после процедур обратимого гипоосмотического лизиса, гипоосмотического диализа и проточного диализа

Comparison of cell yield, percentage of enzyme encapsulation and pharmacocytes quality indicators after reversible hypoosmotic lysis, hypoosmotic dialysis and flow dialysis

Параметр Parameter	Нативные эритроциты Native erythrocytes	Лизис Lysis	Диализ Dialysis	Проточный диализ Flow dialysis
Инкапсуляция L-аспарагиназы, % Encapsulation of L-asparaginase, %	—	4,2 $\pm$ 2,0 (n = 17)	6,0 $\pm$ 2,3 (n = 12)	16,2 $\pm$ 2,2* (n = 6)
Выход клеток, % Cell yield, %	—	80,4 $\pm$ 6,9* (n = 17)	49,3 $\pm$ 5,8* (n = 12)	64,7 $\pm$ 2,6* (n = 6)
MCV, фл MCV, fL	83,3 $\pm$ 5,8 (n = 61)	83,4 $\pm$ 9,4* (n = 25)	71,5 $\pm$ 3,9* (n = 14)	66,0 $\pm$ 5,1* (n = 6)
MCH, пг MCH, pg	27,8 $\pm$ 3,2 (n = 61)	14,0 $\pm$ 5,0 (n = 25)	21,0 $\pm$ 2,2* (n = 14)	15,1 $\pm$ 1,6 (n = 6)
MCHC, г/дл MCHC, g/dL	33,4 $\pm$ 3,7 (n = 61)	17,8 $\pm$ 7,0 (n = 25)	29,2 $\pm$ 2,2* (n = 14)	22,23 $\pm$ 1,9 (n = 6)
Осмотическая резистентность (H ₅₀), мОсм/кг Osmotic resistance (H ₅₀), mOsm/kg	133,3 $\pm$ 10,6 (n = 16)	125,3 $\pm$ 21,7 (n = 5)	140,8 $\pm$ 16,9* (n = 8)	93,7 $\pm$ 13,1 (n = 14)
Осмотическая резистентность (W), мОсм/кг Osmotic resistance (W), mOsm/kg	52,4 $\pm$ 14,7 (n = 16)	148,8 $\pm$ 29,1 (n = 5)	185,5 $\pm$ 15,0* (n = 8)	138,1 $\pm$ 18,9 (n = 14)

Примечание. Представлены средние значения $\pm$ стандартное отклонение; n — количество экспериментов; MCV — средний объем эритроцита; MCH — среднее содержание гемоглобина в клетке; MCHC — средняя концентрация гемоглобина в клетке; H₅₀ — осмоляльность, при которой 50 % клеток лизировано; W — ширина распределения клеток по осмотической резистентности, равная разности осмоляльностей, при которых лизировано 10 и 90 % клеток.

*Отличие отмеченной группы (метода) от 2 других достоверно (ANOVA, p < 0,05).

Note. The mean $\pm$ standard deviation is presented; n — the number of experiments; MCV — mean erythrocyte volume; MCH — mean hemoglobin content in the cell; MCHC — mean hemoglobin concentration in the cell; H₅₀ — osmolality in which 50% of the cells are lysed; W — width of cells distribution according to osmotic resistance equal to the difference of osmolality at which 10 and 90% of cells are lysed.

*The difference of the marked group (method) from the two other is statistically significant (ANOVA, p < 0.05).

ной потерей эритроцитов в диализном мешке или внутри диализатора. При этом в проточном диализе потери клеток оказались меньше, чем в методе обычного диализа, так как задержавшиеся в диализаторе клетки были вымыты из него физиологическим раствором.

По качеству эритроцитов, получаемых после процедуры, ближе всего к норме оказались эритроциты, полученные методом гипоосмотического диализа, за ними идут фармакоциты, полученные проточным диализом и лизисом. Тот факт, что средний объем эритроцита ближе всего к нативному у эритроцитов после лизиса и что в этих клетках осталось чуть меньше половины исходного гемоглобина, а включение L-аспарагиназы составляет всего 4 % от исходного количества, заставляет задуматься. Возможно, эритроциты после лизиса склонны к сферуляции из-за слишком жесткого воздействия лизирующего буфера и неспособности восстановить свою прежнюю форму после запечатывания. Об этом говорит и тенденция к увеличению среднего объема эритроцита относительно нативных клеток после процедуры лизиса при осмоляльности 90 мОсм/кг (см. рис. 3а).

Сравнивая осмотическую резистентность эритроцитов, стоит отметить, что после метода диализа получают эритроциты, которые ближе всего по показателю H_{50} к нативным клеткам, но в то же время имеют самое широкое распределение по резистентности (W). После процедуры проточного диализа показатель H_{50} сдвигается в сторону большей резистентности, однако при этом сохраняется некоторая однородность популяции (ширина распределения W минимальна среди всех исследованных методов). Это связано, возможно, с тем, что эритроцит, потеряв какое-то количество гемоглобина, обладает более низким внутренним онкотическим давлением, и ему легче противостоять снижению осмоляльности внешней среды.

Заключение

Проанализировав результаты, можно сказать, что наиболее подходящим методом для получения эритроцитов — носителей L-аспарагиназы в клинике является метод проточного диализа. Эффективность этого метода включения гораздо выше, чем у остальных методов, что может быть важным для включения терапевтических доз лекарства в клинической практике. По качеству получаемых фармакоцитов (их гематологическим индексам) он немного уступает обычному диализу, однако если учесть, что после переливания пациенту гематокрит этих клеток

составляет всего 10 % и их основная функция состоит не в переносе кислорода (с этой задачей легко справляются другие эритроциты в кровотоке), то становится ясно, что незначительное снижение MCV, MCH и MCHC не ухудшает существенно функцию фармакоцитов как биореакторов с L-аспарагиназой внутри. Снижение концентраций гликолитических ферментов после процедуры не должно сильно превышать снижение концентрации гемоглобина (которое составляет примерно 33 %). Согласно математической модели такое снижение не должно сильно ухудшать эффективность гликолиза и укорачивать срок выживания клеток в кровотоке [20]. Это подтверждает также работа [13], авторы которой измеряли концентрации основных метаболитов гликолиза (АТФ и 2,3-дифосфоглицерата) в фармакоцитах, полученных процедурой проточного диализа, и показали, что эти концентрации существенно не меняются. Кроме того, реализовать стерильное получение эритроцитов-носителей методом проточного диализа намного легче, чем другими методами. Метод обратного гипоосмотического лизиса прост, но является самым жестким и дает низкое включение фермента в эритроциты. Метод диализа является по большей части лабораторной методикой, требующей сложных манипуляций, что может стать затруднением при переходе к постоянному производству таких эритроцитов медицинским персоналом в клинике.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Verma N., Kumar K., Kaur G. et al. L-asparaginase: a promising chemotherapeutic agent. *Crit Rev Biotechnol* 2007;27(1):45–62. DOI: 10.1080/07388550601173926. PMID: 17364689.
2. van den Berg H. Asparaginase revisited. *Leuk Lymphoma* 2011;52(2):168–78. DOI: 10.3109/10428194.2010.537796. PMID: 21281233.
3. Müller H.J., Boos J. Use of L-asparaginase in childhood ALL. *Crit Rev Oncol Hematol* 1998;28(2):97–113. DOI: 10.1016/S1040-8428(98)00015-8. PMID: 9768345.
4. Graham M.L. Pegaspargase: a review of clinical studies. *Adv Drug Del Rev* 2003;55(10):1293–302. DOI: 10.1016/S0169-409X(03)00110-8. PMID: 14499708.
5. Alpar H.O., Lewis D.A. Therapeutic efficacy of asparaginase encapsulated in intact erythrocytes. *Biochem Pharmacol* 1985;34(2):257–61. DOI: 10.1016/0006-2952(85)90133-9. PMID: 3966927.
6. Kwon Y.M., Chung H.S., Moon C. et al. L-Asparaginase encapsulated intact erythrocytes for treatment of acute lymphoblastic leukemia (ALL). *J Control Release* 2009;139(3):182–9. DOI: 10.1016/j.jconrel.2009.06.027. PMID: 19577600.
7. Updike S.J., Wakamiya R.T. Infusion of red blood cell-loaded asparaginase in monkey. *J Lab Clin Med* 1983;101(5):679–91. PMID: 6187874.
8. Naqi A., DeLoach J.R., Andrews K. et al. Determination of parameters for enzyme therapy using L-asparaginase entrapped in canine erythrocytes. *Biotechnol Appl Biochem* 1988;10(4):365–72. DOI: 10.1111/j.1470-8744.1988.tb00026.x. PMID: 3219195.
9. De Loach J., Ihler G. A dialysis procedure for loading erythrocytes with enzymes and lipids. *Biochim Biophys Acta* 1977;496(1):136–45. DOI: 10.1016/0304-4165(77)90121-0. PMID: 836891.
10. Kravtsoff R., Ropars C., Laguerre M. et al. Erythrocytes as carriers for L-asparaginase. Methodological and mouse in vivo studies. *J Pharm Pharmacol* 1990;42(7):473–6. DOI: 10.1111/j.2042-7158.1990.tb06598.x. PMID: 1980286.
11. Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Жаботинский А.М. и др. Проницаемость эритроцитов человека для аспа-
12. Sinauridze E.I., Vitvitskiy V.M., Pichugin A.V. et al. A new chemotherapeutic agent: L-asparaginase entrapped in red blood cells. In: Magnani M., DeLoach J.R. (eds). *The Use of Resealed Erythrocytes as Carriers and Bioreactors*. *Adv Exp Med Biol* 1992;326:203–6. DOI: 10.1007/978-1-4615-3030-5_25.
13. Kravtsoff R., Desbois I., Lamagnere J.P., et al. Improved pharmacodynamics of L-asparaginase-loaded in human red blood cells. *Eur J Clin Pharm* 1996;49(6):465–70. PMID: 8706771.
14. Millán C.G., Marinero M.L., Castañeda A.Z. et al. Drug, enzyme and peptide delivery using erythrocytes as carriers. *J Control Release* 2004;95(1):27–49. DOI: 10.1016/j.jconrel.2003.11.018. PMID: 15013230.
15. Синауридзе Е.И. Способ получения эритроцитов, заполненных лекарственным веществом: авторское свиде-

- тельство СССР № 1469609, 1 декабря 1988 г. [Sinauridze E.I. Method for erythrocytes producing filled with a drug substance. USSR Author's Certificate N 1469609. December 1, 1988 (In Russ.)].
16. Domenech C., Thomas X., Chabaud S. et al. L-asparaginase loaded red blood cells in refractory or relapsing acute lymphoblastic leukaemia in children and adults: results of the GRASPALL 2005-01 randomized trial. *Br J Haematol* 2011;153(1):58–65. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08588.x. PMID: 21332712.
 17. Hunault-Berger M., Leguay T., Huguet F. et al. A phase 2 study of L-asparaginase encapsulated in erythrocytes in elderly patients with Philadelphia chromosome negative acute lymphoblastic leukemia: The GRASPALL/GRAALL-SA2-2008 study. *Am J Hematol* 2015;90(9):811–8. DOI: 10.1002/ajh.24093. PMID: 26094614.
 18. Lanvers C., Vieira Pinheiro J.P., Hempel G. et al. Analytical validation of a microplate reader-based method for the therapeutic drug monitoring of L-asparaginase in human serum. *Anal Biochem* 2002;309(1):117–26. DOI: 10.1016/S0003-2697(02)00232-4. PMID: 12381370.
 19. Shcherbachenko I.M., Lisovskaya I.L., Tikhonov V.P. Oxidation-induced calcium-dependent dehydration of normal human red blood cells. *Free Radical Res* 2007;41(5):536–45. DOI: 10.1080/10715760601161452. PMID: 17454136.
 20. Martinov M.V., Plotnikov A.G., Vitvitsky V.M. et al. Deficiencies of glycolytic enzymes as a possible cause of hemolytic anemia. *Biochim Biophys Acta* 2000;1474(1):75–87. DOI: 10.1016/S0304-4165(99)00218-4. PMID: 10699493.

Вклад авторов

Д.В. Борсакова: написание статьи, сбор и анализ данных, выполнение исследования включения L-аспарагиназы в эритроциты различными методами;

М.Е. Плахотник, Ю.Г. Александрович: выполнение исследований включения L-аспарагиназы в эритроциты методом диализа и гипоосмотического лизиса;

Л.Д. Колева, Е.А. Бовт: выполнение исследований включения L-аспарагиназы в эритроциты методом проточного диализа;

Ф.И. Атауллаханов, Е.И. Синауридзе: концепция, участие в написании статьи, окончательное одобрение рукописи.

Authors' contributions

D.V. Borsakova: article writing, data collection and analysis; study of L-asparaginase encapsulation into erythrocytes by various methods;

M.E. Plakhotnik, Yu.G. Aleksandrovich: study of L-asparaginase encapsulation into erythrocytes by dialysis and hypoosmotic lysis;

L.D. Koleva, E.A. Bovt: study of L-asparaginase encapsulation into erythrocytes by flow dialysis;

F.I. Ataulakhonov, E.I. Sinauridze: concept, article writing, final approval of the article.

ORCID авторов/ORCID of authors

Д.В. Борсакова / D.V. Borsakova: <https://orcid.org/0000-0003-4669-977X>

М.Е. Плахотник / M.E. Plakhotnik: <https://orcid.org/0000-0001-6281-3152>

Л.Д. Колева / L.D. Koleva: <https://orcid.org/0000-0001-8803-5694>

Е.А. Бовт / E.A. Bovt: <https://orcid.org/0000-0003-4724-8647>

Ю.Г. Александрович / Yu.G. Aleksandrovich: <https://orcid.org/0000-0001-8119-9194>

Ф.И. Атауллаханов / F.I. Ataulakhonov: <https://orcid.org/0000-0003-3403-181X>

Е.И. Синауридзе / E.I. Sinauridze: <https://orcid.org/0000-0002-5948-3444>

Финансирование. Работа поддержана грантом РФФИ-офи 15-29-01228 и грантом Президиума Российской академии наук по Программе фундаментальных исследований «Основы технологии физиологических адаптаций».

Financing. The study was supported by Russian Foundation for Basic Research, grant No офи 15-29-01228 and by Presidium of the Russian Academy of Sciences in the Basic Research Program «Fundamentals of Technology of Physiological Adaptations».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Статья поступила: 03.07.2018. Принята к публикации: 14.08.2018.

Article received: 03.07.2018. Accepted for publication: 14.08.2018.

ПРЕСС - РЕЛИЗ

Министерство здравоохранения Российской Федерации одобрило терапию препаратом Венклекста (венетоклакс) компании AbbVie в комбинации с ритуксимабом фиксированным курсом для пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ), которые ранее получили 1 курс лечения.

В клиническом исследовании MURANO III фазы при применении комбинированной терапии препаратом Венклекста (венетоклакс) и ритуксимабом было показано значимое увеличение выживаемости без прогрессирования (ВБП) у пациентов с рецидивирующим/рефрактерным ХЛЛ. При этом риск прогрессирования заболевания или смерти снижался на 81 % по сравнению со стандартной схемой иммунохимиотерапии, включающей бендамустин и ритуксимаб¹.

У пациентов, получавших препарат Венклекста в сочетании с ритуксимабом, наблюдалась более высокая частота общего ответа — 93,3 %².

Комбинированная терапия венетоклаксом и ритуксимабом, одобренная Минздравом России, не содержит химиотерапевтических препаратов и имеет фиксированную продолжительность курса.

Москва, 4 сентября 2018 г. Глобальная биофармацевтическая компания AbbVie объявила о том, что Министерство здравоохранения Российской Федерации одобрило терапию препаратом Венклекста (венетоклакс) в комбинации с ритуксимабом для пациентов с ХЛЛ с делецией 17p или без нее, которые ранее получили хотя бы 1 курс лечения. Комбинация венетоклакса и ритуксимаба не содержит химиотерапевтических препаратов и имеет фиксированную продолжительность курса терапии.

Хронический лимфоцитарный лейкоз — это, как правило, медленно прогрессирующий рак костного мозга и крови, при котором лимфоциты — одна из разновидностей белых кровяных клеток — претерпевают злокачественное перерождение и начинают активно размножаться³.

«Одобрение комбинированной терапии венетоклаксом и ритуксимабом для пациентов с рецидивирующим/рефрактерным ХЛЛ свидетельствует о надежности результатов исследования фазы III, включая значимое повышение показателя выживаемости без прогрессирования по сравнению с группой, получавшей лечение по стандартной схеме химиотерапии, — отметила **Ирина Поддубная, профессор, д.м.н., академик РАН, проректор по учебной работе и международному сотрудничеству, заведующая кафедрой онкологии и паллиативной медицины Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, председатель Российского общества онкогематологов.** — Выживаемость без прогрессирования считается «золотым стандартом» демонстрации клинических преимуществ терапии».

Основанием для одобрения заявки послужили данные, полученные в ходе клинического исследования MURANO фазы III, которые продемонстрировали значимое улучшение ВБП у пациентов с рецидивирующим/рефрактерным ХЛЛ. При этом риск прогрессирования заболевания или смерти снижался на 81 % по сравнению с комбинированной терапией бендамустином и ритуксимабом — стандартной схемой иммунохимиотерапии².

В клинических исследованиях у пациентов, принимавших препарат Венклекста в комбинации с ритуксимабом, также наблюдалась частота общего ответа 93,3 %, тогда как при иммунохимиотерапии она составила 67,7 %².

Профиль безопасности данной комбинированной терапии соответствует установленному профилю безопасности препарата Венклекста. Наиболее распространенными нежелательными реакциями (НР), которые наблюдались с частотой не менее 20 % при приеме препарата Венклекста в комбинации с ритуксимабом, были следующие: нейтропения, диарея, инфекция верхних дыхательных путей, общая слабость, кашель и тошнота⁴.

Терапия препаратом Венклекста и ритуксимабом — первая, не содержащая химиотерапевтических агентов комбинация для перорального приема для пациентов с ХЛЛ, которая позволяет проводить лечение в течение фиксированного периода времени.

«Венклекста предоставляет пациентам новую возможность значительно снизить риск прогрессирования заболевания по сравнению со стандартом лечения, применяемым в настоящее время. Одобрение

¹ См. инструкцию по медицинскому применению лекарственного препарата Венклекста.

² Seymour J.F., Kipps T.J., Eichhorst B.F. et al. Venetoclax Plus Rituximab Is Superior to Bendamustine Plus Rituximab in Patients with Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia — Results from Pre-Planned Interim Analysis of the Randomized Phase 3 Murano Study. Presented at 59th Annual Meeting and Exposition of the American Society of Hematology (ASH), LBA 2.

³ Farrell A. Grant-Breakthrough Therapy Designation (CLL). Department of Health and Human Services; 2016:1–3.

⁴ См. инструкцию по медицинскому применению лекарственного препарата Венклекста; U.S. Food and Drug Administration (2016). News and Events: FDA approves new drug for chronic lymphocytic leukemia in patients with a specific chromosomal abnormality. URL: <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm495253.htm> (accessed June 2018).

комбинированной терапии в России дает пациентам с ХЛЛ, которые уже получили хотя бы один курс лечения, вариант терапии, не содержащей химиотерапевтических препаратов и проводимой фиксированным курсом, — отметил **Энтони Вонг, региональный вице-президент AbbVie в России, Украине и СНГ**. — Это важный шаг для наших пациентов, и мы надеемся продолжать разработку новых методов терапии для людей с онкологическими заболеваниями крови, сложно поддающимися лечению».

Препарат Венклекста 4 раза был признан инновационным терапевтическим средством, включая комбинированную схему венклекста + ритуксимаб для пациентов с рецидивирующим/рефрактерным ХЛЛ¹. Одобрение данного режима терапии препаратом Венклекста в комбинации с ритуксимабом — это уже 2-е одобрение препарата Венклекста, полученное от Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) Administration, FDA) в приоритетном порядке.

Министерство здравоохранения Российской Федерации одобрило применение препарата Венклекста в качестве монотерапии для лечения ХЛЛ с делецией 17p или мутацией TP53 у взрослых пациентов, которым лечение ингибиторами сигнального пути В-клеточного рецептора не подходит или у которых оно не показало ожидаемого результата, и без делеции 17p или мутации TP53 у взрослых пациентов, не ответивших на химиоиммунотерапию и лечение ингибиторами сигнального пути В-клеточного рецептора.

Ранее Венклекста, первый ингибитор антиапоптозного белка В-клеточной лимфомы (BCL-2), применяемый при ХЛЛ, получил одобрение в США по ускоренной процедуре в апреле 2016 г. в качестве препарата для монотерапии пациентов с ХЛЛ и делецией 17p, подтвержденной с помощью анализа, одобренного FDA, которые прошли хотя бы 1 курс терапии².

Об исследовании MURANO

В международном многоцентровом открытом рандомизированном исследовании MURANO III фазы (NCN02005471) приняли участие 389 пациентов с рецидивирующим/рефрактерным ХЛЛ, которые ранее получили хотя бы 1 курс терапии. В исследовании оценивались эффективность (первичная конечная точка — ВБП по оценке исследователя) и безопасность

терапии препаратом Венклекста в сочетании с ритуксимабом (194 пациента; медиана возраста — 64,5 года) в течение 2 лет по сравнению с бендамустином в сочетании с ритуксимабом (195 пациентов; медиана возраста — 66,0 года) в течение 6 мес.

Первичной конечной точкой являлась ВБП, оцениваемая Независимым наблюдательным комитетом. Медиана ВБП в группе, получавшей препарат Венклекста в сочетании с ритуксимабом, не была достигнута, в группе бендамустина и ритуксимаба она составила 17 мес³ (отношение рисков 0,19; 95 % доверительный интервал 0,13–0,28; $p < 0,0001$). Медиана продолжительности наблюдения для ВБП составила 23,4 мес (диапазон от 0 до 37,4+ мес). Вторичные конечные точки для оценки эффективности включали оценку ЧОО (определяется как доля пациентов, достигших полной ремиссии, полной ремиссии с неполным восстановлением костного мозга, частичной нодулярной ремиссии и частичной ремиссии), также оценивалась общая выживаемость по мнению независимого экспертного комитета⁴.

Наиболее частыми НР (≥ 20 %) любой степени тяжести при терапии препаратом Венклекста и ритуксимабом были следующие: нейтропения (65 %), диарея (40 %), инфекция верхних дыхательных путей (39 %), общая слабость (22 %), кашель (22 %) и тошнота (21 %). В группе Венклекста + ритуксимаб 16 % пациентов досрочно завершили участие по причине НР, снижение дозы потребовалось 15 %, а прерывание терапии — 71 % пациентов. В группе бендамустин + ритуксимаб 10 % пациентов досрочно завершили участие по причине НР, снижение дозы потребовалось 15 %, а прерывание терапии — 40 % пациентов. В группе Венклекста + ритуксимаб нейтропения привела к прерыванию терапии препаратом Венклекста у 46 % пациентов, к отмене терапии — у 3 % пациентов; тромбоцитопения привела к отмене терапии у 3 % пациентов. В группе терапии препаратом Венклекста и ритуксимабом НР с летальным исходом, которые регистрировали при отсутствии прогрессирования заболевания и в течение 30 дней после последнего приема препарата Венклекста и/или в течение 90 дней после последнего приема ритуксимаба, наблюдались у 2 % пациентов (4/194). Серьезные НР были отмечены у 46 % пациентов, при этом наиболее часто (≥ 5 %) встречалась пневмония (9 %)¹.

¹ См. инструкцию по медицинскому применению лекарственного препарата Венклекста.

² American Cancer Society (2015). Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). URL: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003111.pdf> (accessed June 2018); Clinicaltrials.gov. NCT01889186: A study of the efficacy of ABT-199 in subjects with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia with the 17p deletion. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01889186> (accessed May 2018).

³ Seymour J.F., Kipps T.J., Eichhorst B. et al. Venetoclax-rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2018;378:1107–20.

⁴ Seymour J.F., Kipps T.J., Eichhorst B.F. et al. Venetoclax Plus Rituximab Is Superior to Bendamustine Plus Rituximab in Patients with Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia — Results from Pre-Planned Interim Analysis of the Randomized Phase 3 Murano Study. Presented at 59th Annual Meeting and Exposition of the American Society of Hematology (ASH), LBA 2; Clinicaltrials.gov. NCT01889186: A study of the efficacy of ABT-199 in subjects with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia with the 17p deletion. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01889186> (accessed May 2018).

О препарате Венклекста (венетоклакс)

Препарат Венклекста впервые был зарегистрирован² в качестве монотерапии для лечения ХЛЛ с 17p-делецией или TP53-мутацией у взрослых пациентов, которым лечение ингибиторами сигнального пути В-клеточного рецептора не подходит или у которых оно не дало ожидаемого результата.

Проводятся исследования действия препарата на пациентов с другими злокачественными заболеваниями крови³. Белок BCL-2 препятствует апоптозу (запрограммированной клеточной гибели) определенных клеток, включая лимфоциты. При ХЛЛ может наблюдаться сверхэкспрессия этого белка. Прием препарата Венклекста 1 раз в сутки предназначен для селективного ингибирования функций белка BCL-2³.

Разработкой препарата Венклекста совместно занимаются компании AbbVie и Roche. Его коммерциализацию в США проводят совместно AbbVie и компания Genentech, входящая в Roche Group, за пределами США — только компания AbbVie. Деятельность этих компаний направлена на исследование эффективности венетоклакса в отношении белка BCL-2, которое в настоящее время изучается в клинических исследованиях некоторых других типов злокачественных заболеваний крови.

На сегодняшний день венетоклакс одобрен для применения в Европейском союзе, Швейцарии, Аргентине, Австралии, Мексике, Пуэрто-Рико, Израиле, США, Канаде и России. Компания AbbVie в сотрудничестве с Roche и Genentech ведет работу с регуляторными органами в разных странах, чтобы предоставить возможность применения препарата пациентам, которые в нем нуждаются. Более подробную информацию об антиапоптозном белке В-клеточной лимфомы (BCL-2) вы можете прочитать в статье *Bringing Death to Cancer Cells* («Смерть опухолевым клеткам») на сайте www.abbvie.com.

Об онкологическом направлении AbbVie

В партнерстве с учеными, врачами, другими фармацевтическими компаниями и пациентскими организациями AbbVie стремится победить рак с помощью открытий и разработок новых подходов к терапии. Наша цель — предоставить лекарственные препараты, обеспечивающие кардинальные улучшения методики лечения рака и результатов терапии онкологических больных. AbbVie открывает новые возможности в лечении некоторых наиболее распространенных и трудно поддающихся лечению онкологических заболеваний благодаря поиску инновационных подходов и развитию технологий. Мы также ищем решения, помогающие пациентам получить доступ к онкологическим препаратам компании. С приобретением Pharmascyclus в 2015 г. и Stemcentrx в 2016 г., а также благодаря проектам, реализуемым совместно с другими фармацевтическими компаниями, в портфель онкологических разработок AbbVie входят как широко представленные на рынке лекарственные средства, так и новые препараты для лечения 20 различных форм рака, которые проходят проверку примерно в 200 клинических исследованиях. Дополнительная информация об онкологическом направлении в работе AbbVie доступна на сайте <http://abbvieoncology.com>.

Об AbbVie

AbbVie — глобальная научно-исследовательская биофармацевтическая компания, приверженная разработке инновационной терапии для лечения некоторых из самых сложных заболеваний в мире. Миссия компании — использовать экспертизу, опыт преданных делу сотрудников и уникальный подход к инновациям для развития и вывода на рынок передовых методов лечения, в первую очередь в области иммунологии, онкологии, вирусологии и неврологии. Сотрудники компании AbbVie постоянно работают в 75 странах мира для совершенствования решений для здравоохранения.

¹ Clinicaltrials.gov. NCT01 889 186: A study of the efficacy of ABT-199 in subjects with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia with the 17p deletion. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01 889 186> (accessed May 2018).

² В Российской Федерации венетоклакс одобрен для использования в монотерапии для лечения ХЛЛ с делецией 17p или мутацией TP53 у взрослых пациентов, которым лечение ингибиторами сигнального пути В-клеточного рецептора не подходит или у которых оно не показало ожидаемого результата, а также без делеции 17p или мутации TP53 у взрослых пациентов, не ответивших на химиоиммунотерапию и лечение ингибиторами сигнального пути В-клеточного рецептора.

³ American Cancer Society (2015). Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). URL: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003111-pdf.pdf> (accessed June 2018). Clinicaltrials.gov. NCT01 994 837: A Phase 2 study of ABT-199 in subjects with acute myelogenous leukemia (AML) (accessed May 2018); Clinicaltrials.gov. NCT01 794 520: Study evaluating ABT-199 in subjects with relapsed or refractory multiple myeloma (accessed May 2018); Clinicaltrials.gov. NCT01 328 626: A Phase 1 study evaluating the safety and pharmacokinetics of ABT-199 in subjects with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia and non-Hodgkin lymphoma (accessed May 2018).

⁴ American Cancer Society (2015). Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). URL: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003111-pdf.pdf> (accessed June 2018).