

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

**Комбинированная
химиоиммунотерапия у детей
с неходжкинскими лимфомами**

**Хронический миелолейкоз —
эволюция терапии**

**Применение
алемтузумаба в лечении
хронического лимфолейкоза**

**Вторые злокачественные
опухоли у детей и подростков**

**Культивирование мезенхимальных
стволовых клеток *ex vivo***

3

Примените СИЛУ ФОКУСНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ во второй линии терапии хронического миелоидного лейкоза

ТАСИГНА:

НОВЫЙ МОЩНЫЙ ИНГИБИТОР BCR-ABL ТИРОЗИНКИНАЗЫ ДЛЯ ВТОРОЙ ЛИНИИ ТЕРАПИИ Ph+ХМЛ

ВЫСОКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

- 76,2% — частота достижения полного гематологического ответа (ПГО)¹
- 56,3% — частота достижения большого цитогенетического ответа (БЦО)¹
- 1,0 месяц — медиана времени достижения ПГО
- 2,8 месяца — медиана времени достижения БЦО

ХОРОШИЙ ПРОФИЛЬ ПЕРЕНОСИМОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ

- Медиана длительности перерывов терапии Тасигной — 18 дней при медиане длительности терапии — 261 день²
- Медиана суточной дозы — 792,1 мг (при рекомендованной 800 мг/сутки)²

РЕКОМЕНДУЙТЕ ТАСИГНУ ПАЦИЕНТАМ С ХМЛ В ХРОНИЧЕСКОЙ ФАЗЕ И ФАЗЕ АКСЕЛЕРАЦИИ ПРИ НЕПЕРЕНОСИМОСТИ ИЛИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ПРЕДШЕСТВУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ ИМАТИНИБОМ

 **Тасигна**
(нилотиниб)
Сфокусированная сила

Регистрационное свидетельство: ЛСР-000830/08 от 18.02.2008

Торговое название: ТАСИГНА. МНН: nilotinib. Лекарственная форма: nilotiniba гидрохлорид моногидрат. Фармакологические свойства: Нилотиниб эффективно ингибирует тирозинкиназную активность Bcr-abl онкопротеина клеточных линий у первично положительных по филадельфийской хромосоме (Ph-положительных) лейкозных клеток. Показания: Лечение положительного по филадельфийской хромосоме хронического миелолейкоза в хронической фазе и фазе акселерации у взрослых пациентов при непереносимости или резистентности к предшествующей терапии, включая иматиниб. Противопоказания: Повышенная чувствительность к активному веществу или любому другому компоненту препарата. Беременность и период кормления грудью. Детский и подростковый возраст до 18 лет (данные по применению отсутствуют). Дозы и способ применения: рекомендуемая доза 400 мг 2 раза в сутки. Тасигну следует принимать примерно каждые 12 ч, через 2 часа после еды. После применения Тасигны принимать пищу можно не ранее, чем через 1 час. Побочное действие: Наиболее часто встречаются сыпь, зуд, тошнота, головная боль, повышенная утомляемость, запоры, диарея, тромбоцитопения, нейтропения, анемия, повышение активности липазы. Форма выпуска: Капсулы 200 мг по 112 шт. в картонной коробке. Условия хранения: хранить при комнатной температуре 15–30°C. Условия отпуска из аптек: по рецепту.

Произведено Новartis Фарма Штейн АГ, Швейцария.

Перед применением ознакомьтесь с полной инструкцией по медицинскому применению препарата.

Литература: 1. Kantarjian HM, Hochhaus A, Cortes J et al. Nilotinib is Highly active and safe in chronic phase chronic myeloid leukemia (CP-CML) patients with Imatinib-resistance or intolerance. Blood. 2007; 110(11):226a(abs.735). 2. Le Coutre P, Ottman O, Giles F et al. Nilotinib (formerly AMN107) a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is active in patients with imatinib-resistant or -intolerant accelerated-phase chronic myelogenous leukemia. Blood. 2008 (111): 1834-1839

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

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ONCOHEMATOLOGY

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

проф., д.м.н. Е.В. Самочатова

Заместители главного редактора

д.м.н. В.В. Птушкин,

проф., д.м.н. Б.В. Афанасьев

Ответственный секретарь

к.м.н. Ю.В. Румянцева

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

проф., д.м.н. О.В. Алейникова (Минск)

проф., д.м.н. А.К. Голенков (Москва)

проф., д.м.н. А.И. Карачунский (Москва)

д.м.н. Е.Н. Паровичникова (Москва)

проф., д.м.н. Ю.А. Криволапов (С.-Петербург)

доц., д.м.н. М.Л. Минков (Австрия)

д.м.н. Н.В. Мякова (Москва)

к.м.н. Е.А. Никитин (Москва)

проф., д.м.н. О.А. Рукавицын (Москва)

д.м.н. С.А. Румянцев (Москва)

д.м.н. Г.И. Сидорович (Москва)

к.м.н. Л.Г. Фечина (Екатеринбург)

д.м.н. А.Л. Усс (Минск)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

проф., д.м.н. Е.А. Лукина (Москва)

чл.-корр. РАМН И.В. Поддубная (Москва)

чл.-корр. РАМН А.Г. Румянцев (Москва)

к.м.н. В.А. Россиёв (Самара)

проф., д.м.н. А.Г. Талалаев (Москва)

EDITOR-IN-CHIEF

Prof. Ye.V. Samochatova

Deputy Editor

D. Sci. V.V. Ptushkin,

Prof. B.V. Afanasyev

Executive Secretary

PhD Yu.V. Rumyantseva

EDITORIAL BOARD

Prof. O.V. Aleynikova (Minsk)

Prof. A.K. Golenkov (Moscow)

Prof. A.I. Karachunskiy (Moscow)

D. Sci. Ye.N. Parovichnikova (Moscow)

Prof. Yu.A. Krivolapov (St.-Petersburg)

D. Sci. M.L. Minkov (Austria)

D. Sci. N.V. Myakova (Moscow)

PhD Ye.A. Nikitin (Moscow)

Prof. O.A. Rukavitsin (Moscow)

D. Sci. S.A. Rumyantsev (Moscow)

D. Sci. G.I. Sidorovich (Moscow)

PhD L.G. Fechina (Yekaterinburg)

D. Sci. A.L. Uss (Minsk)

EDITORIAL COUNCIL

D. Sci. Ye.A. Lukina (Moscow)

Prof. I.V. Poddubnaya (Moscow)

Prof. A.G. Rumyantsev (Moscow)

PhD V.A. Rossiye (Samara)

Prof. A.G. Talalayev (Moscow)

О с н о в а н в 2 0 0 5 г.

Адрес редакции:

Москва, Каширское шоссе, д. 24,
стр. 15, НИИ канцерогенеза, 3-й этаж,
«АБВ-пресс». Тел./факс: 8(499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru

Заведующая редакцией Е.В. Колесникова

Редактор Н.В. Черножукова

Корректор А.Ф. Матвейчук

Дизайн и верстка А.В. Амаспюр

Служба подписки и распространения

Н.А. Гаркавец, 8 (495) 645-21-98,

baza@roou.ru

Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
ПИ № ФС77-36928 от 21 июля 2009 г.

При перепечатке материалов ссылка
на журнал «Онкогематология» обязательна

Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных материалов.
В статьях представлена точка зрения
авторов, которая может не совпадать
с мнением редакции журнала

ISSN 1818-8346

Онкогематология. 2009. № 3. 1—76

© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2009

Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» — 42167

Отпечатано в типографии
ООО «Графика»

Тираж 1500 экз.

2009

ГЕМОБЛАСТОЗЫ: ЛЕЧЕНИЕ, СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

*Е.В. Самочатова, Л.Н. Шелихова, М.Б. Белогурова, А.В. Шамардина,
Е.В. Башарова, Д.В. Литвинов, Н.В. Мякова, Л.Г. Фечина, О.П. Хлебникова,
Е.В. Инюшкина, О.В. Рыскаль, Р.З. Шаммасов, И.М. Юнусова, С.Ю. Умнова,
Д.М. Коновалов, А.Г. Талалаев, Ю.В. Румянцева, А.А. Масчан*

Комбинированная химиоиммунотерапия больных неходжкинскими лимфомами из зрелых В-клеток возрастной группы до 18 лет: результаты многоцентрового исследования НХЛ 2004 м с применением ритуксимаба и модифицированного протокола В-НХЛ БФМ 90	4
--	----------

С.С. Бессмельцев, Е.В. Литвинская, К.М. Абдулкадыров, Е.В. Карягина

Применение алемтузумаба в лечении хронического лимфолейкоза	15
--	-----------

Д.А. Хомов, Ю.В. Синев, В.М. Сотников

Эндоскопическая оценка состояния тонкой кишки у больных лимфомой Ходжкина в процессе химиолучевой терапии	22
--	-----------

Н.В. Мигаль, А.С. Шмаргун, О.В. Алейникова

Фармакоэкономический анализ лечения детей с острым лимфобластным лейкозом на протоколе ALL-MB-2002	28
---	-----------

*Д.Ю. Качанов, Р.Т. Абдуллаев, Н.В. Крючко,
Т.В. Шаманская, Е.В. Инюшкина, К.В. Добренков, С.Р. Варфоломеева*

Вторые злокачественные опухоли у детей и подростков Московской области	34
---	-----------

Е.Г. Ломаица, Н.С. Лазорко, Е. Саламатова, Е.Г. Романова, А.Ю. Зарицкий

Хронический миелолейкоз – до и после применения иматиниба (часть II)	40
---	-----------

С.И. Куцев, С.В. Морданов

Амплификация гена <i>BCR-ABL</i> у пациентов с хроническим миелоидным лейкозом, рефрактерных к иматинибу	57
---	-----------

*Н.А. Романенко, С.С. Бессмельцев, В.И. Ругаль,
Н.А. Потихонова, М.Н. Зенина, К.М. Абдулкадыров*

Сочетание множественной миеломы и хронического идиопатического миелофиброза: случай из практики	61
--	-----------

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Т.В. Шаманская, Е.Ю. Осипова, С.А. Румянцев

Технологии культивирования мезенхимальных стволовых клеток <i>ex vivo</i> для клинического использования	69
---	-----------

HAEMATOLOGIC MALIGNANCIES: TREATMENT AND SUPPORTIVE CARE

*E.V. Samochatova, L.N. Schelikhova, M.B. Belogurova, A.V. Schamardina,
E.V. Bascharova, D.V. Litvinov, N.V. Myakova, L.G. Fechina, O.P. Chlebnikova,
E.V. Inuschkina, O.V. Riskal, P.Z. Schammasov, I.M. Yunusova, S.Yu. Umnova,
D.M. Konovalov, A.G. Talalaev, J.V. Roumiantseva, A.A. Maschan*

Combined chemoimmunotherapy of patients

with mature B-cell non-Hodgkin lymphomas age group until 18 years:

results of multicenter study NHL 2004 m with rituximab

and modified B-NHL BFM 90 protocol applications 4

S.S. Bessmeltsev, E.V. Litvinskaya, K.M. Abdulkadirov, E.V. Karyagina

Alemtuzumab in treatment of chronic lymphocytic leukemia 15

D.A. Khomov, Yu.V. Sinev, V.M. Sotnikov

Endoscopic evaluation of small bowel lesions

in Hodgkin's lymphoma patients during chemoradiation therapy 22

N.V. Migal, A.S. Shmargun, O.V. Aleinikova

Pharmacoeconomic analysis of treatment of children

with acute lymphoblastic leukemia according to ALL-MB-2002 protocol. 28

*D.Y. Kachanov, R.T. Abdullaev, N.V. Kruchko,
T.V. Shamanskaya, E.V. Inyushkina, K.V. Dobrenkov, S.R. Varfolomeeva*

Second malignant neoplasms in children and adolescents in Moscow Region. 34

E.G. Lomaia, N.S. Lazorko, E. Salamatova, E.G. Romanova, A.Yu. Zaritzkiy

Chronic myeloid leukemia — before and after imatinib (part II) 40

S.I. Kutzev, S.V. Mordanov

BCR-ABL gene amplification in patients

with chronic myeloid leukemia and imatinib resistance. 57

*N.A. Romanenko, S.S. Bessmeltsev, V.I. Rugal,
N.A. Potichonova, M.N. Zenina, K.M. Abdulkadirov*

Combination of multiple myeloma and chronic idiopathic myelofibrosis: a case report 61

BASIC RESEARCH

T.V. Shamanskaya, E.Yu. Osipova, S.A. Roumiantsev

Mesenchymal stem cells *ex vivo* cultivation technologies for clinical use 69

КОМБИНИРОВАННАЯ ХИМИОИММУНОТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ НЕХОДЖКИНСКИМИ ЛИМФОМАМИ ИЗ ЗРЕЛЫХ В-КЛЕТОК ВОЗРАСТНОЙ ГРУППЫ ДО 18 ЛЕТ: РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОЦЕНТРОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ НХЛ 2004 м С ПРИМЕНЕНИЕМ РИТУКСИМАБА И МОДИФИЦИРОВАННОГО ПРОТОКОЛА В-НХЛ БФМ 90

Е.В. Самочатова¹, Л.Н. Шелихова^{1,2}, М.Б. Белогурова⁴, А.В. Шамардина⁶,
Е.В. Башарова⁷, Д.В. Литвинов², Н.В. Мякова², Л.Г. Фечина³, О.П. Хлебникова³,
Е.В. Инюшкина⁵, О.В. Рыскаль⁸, Р.З. Шаммасов⁹, И.М. Юнусова¹⁰,
С.Ю. Умнова¹¹, Д.М. Коновалов¹, А.Г. Талалаев¹², Ю.В. Румянцева¹, А.А. Масчан¹

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии; ²Российская детская клиническая больница, Москва; ³Областная детская клиническая больница, Екатеринбург; ⁴Городская клиническая больница №31, Санкт-Петербург; ⁵Московский областной онкологический диспансер, Балашиха; ⁶Областная детская клиническая больница, Нижний Новгород; ⁷Областная детская клиническая больница, Челябинск; ⁸Пермская краевая детская клиническая больница; ⁹Республиканская детская клиническая больница, Казань; ¹⁰Республиканская детская клиническая больница, Махачкала; ¹¹Иркутская государственная областная детская клиническая больница; ¹²кафедра патологической анатомии педиатрического факультета Российского государственного медицинского университета, Москва

Контакты: Елена Владимировна Самочатова samochatova@niidg.ru

В статье представлены результаты лечения 61 больного (дети и подростки 2—17 лет, медиана 8,76 года) В-клеточными неходжкинскими лимфомами (В-НХЛ) III—IV стадий и острым В-клеточным лейкозом (В-ОЛЛ) по протоколу, включающему полихимиотерапию (ПХТ) и моноклональные антитела к рецептору В-клеток CD20 — ритуксимаб (Мабтера, «Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд»). Протокол состоит из циторедуктивной фазы и 6 курсов ПХТ, аналогичных оригинальному протоколу В-NHL-BFM 90 за исключением 2 первых курсов, в которых доза метотрексата снижена с 5 до 1 г/м²/сут. Ритуксимаб в дозе 375 мг/м² внутривенно вводился в день 0 первых 4 курсов ПХТ.

Четыре больных умерли в течение первых 3 нед терапии, у 2 констатирована первичная рефрактерность, ремиссии достигли 55 пациентов. Не было ни одного случая смерти больных, достигших ремиссии, рецидив (нейролейкоз у больного лимфомой Беркитта) развился только у 1 пациента. Длительная ремиссия продолжается у 54 (88%) больных. Показатели общей и бессобытийной выживаемости составили 0,9±0,04 при медиане наблюдения после окончания терапии 34 (12—53) мес. Авторы обсуждают тактику проведения такой комбинированной терапии, особенности констатации ремиссии, при том что у 1/3 больных при локальном контроле длительно выявлялось остаточное образование, для оценки которого проводились, кроме компьютерной и магнитно-резонансной томографии, позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) и/или повторная биопсия. Также есть основания для заключения, что при использовании таргетной терапии интенсивность химиотерапии при лечении таких опухолей может быть уменьшена. Авторы установили, что в случае применения таргетной терапии критерии оценки эффекта должны быть изменены, а для контроля ремиссии необходимо использовать максимально информативные методики (ПЭТ, оценка минимальной остаточной болезни на молекулярно-генетическом уровне).

Ключевые слова: дети, неходжкинская лимфома, ритуксимаб

COMBINED CHEMOIMMUNOTHERAPY OF PATIENTS WITH MATURE B-CELL NON-HODGKIN LYMPHOMAS AGE GROUP UNTIL 18 YEARS: RESULTS OF MULTICENTER STUDY NHL 2004 m WITH RITUXIMAB AND MODIFIED B-NHL BFM 90 PROTOCOL APPLICATIONS

E.V. Samochatova¹, L.N. Schelikhova^{1,2}, M.B. Belogurova⁴, A.V. Schamardina⁶, E.V. Bascharova⁷, D.V. Litvinov², N.V. Myakova², L.G. Fechina³, O.P. Chlebnikova³, E.V. Inuschkina⁵, O.V. Riskal⁸, P.Z. Schammasov⁹, I.M. Yunusova¹⁰, S.Yu. Umnova¹¹, D.M. Kononov¹, A.G. Talalaev¹², J.V. Roumiantseva¹, A.A. Maschan¹

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow; ²Russian Children Clinical Hospital, Moscow; ³Regional Children Clinical Hospital, Yekaterinburg; ⁴Municipal Clinical Hospital №31, St-Petersburg; ⁵Moscow District Oncology Dispenser, Balashicha;

⁶Regional Children Clinical Hospital, N. Novgorod; ⁷Regional Children Clinical Hospital, Chelyabinsk; ⁸Regional Children Clinical Hospital, Perm;

⁹Republic Children Clinical Hospital, Kazan; ¹⁰Republic Children Clinical Hospital, Makhachkala; ¹¹Regional Children Clinical Hospital, Irkutsk;

¹²Pathology Department, Pediatric faculty of the Russian State Medical University, Moscow

Therapy results of 61 patients (children and adolescents, 2—17 years of age; a median — 8.76 years) with B-cells non-Hodgkin lymphomas III—IV stage and B-cell acute leukemia (B-NHL/B-ALL), treating according to protocol with polichemotherapy and monoclonal antibodies against B-cell receptor CD20 — rituximab (Mabthera, Hoffmann La Roche) applications, are presented. The protocol consist of cytoreductive phase and 6 polychemotherapy courses, similar to original protocol B-NHL-BFM 90, with exception of decreasing methotrexate dosage in 2 first courses from 5 to 1 g/m²/24 hours. Rituximab — 375 mg/m² IV — in Day 0 first 4 courses was given.

Four patients have died within first 3 weeks of therapy, 2 were primary refractory patients and 55 patients have achieved complete remissions. There was no case of remission death; relapse has developed only at one patient (neuroleukemia in patient with Burkitt lymphoma). 54 patients (88%) are in continuous complete remission. Overall and event-free survival rate were 0,90±0,04 with median follow-up after therapy ending 34 months (12—53 months). Authors discuss tactics of such combined therapy, features of remission registration, considering that at third of patients, residual mass was long-term detected, and for which assessment besides CT/MRT a positron-emission tomography (PET) and/or a repeated biopsy were done. Also it is possible to conclude that with use of target therapy chemotherapy intensity of such tumors can be reduced. Authors concluded that in cases of target therapy efficacy criteria should be modified, and it is necessary to use as much as possible informative technique to remission control (PET, minimal residual disease assessment with use of molecular-genetic methods).

Key words: children, non-Hodgkin lymphomas, rituximab

Неходжкинские лимфомы (НХЛ) у детей и подростков — высокозлокачественные генерализованные опухоли с первичным поражением костного мозга и центральной нервной системы (ЦНС) — независимо от того, находится ли этому подтверждение на уровне стандартных методов обследования пациента [1]. При относительно редкой встречаемости НХЛ у детей и подростков они вносят существенный вклад в структуру смертности, поскольку при естественном течении, а также неверной и поздней диагностике и терапии очень быстро заканчиваются летально [2]. Это было одной из причин давнего к ним внимания с попытками разработать эффективную терапию, но только к концу 80-х годов XX в. были достигнуты очевидные успехи благодаря созданию удачных комбинаций химиопрепаратов (курсы на основе режима СНОР: циклофосфамид, доксорубин, винкристин, преднизолон) [3]. Были предложены протоколы лечения НХЛ у детей с выживаемостью до 50—70% в зависимости от гистологического и иммунологического варианта и стадии лимфомы. В результате интенсивных исследований патогенетических закономерностей, характеристик клеточного состава и деталей клинического оформления лимфоидных опухолей были разработаны основополагающие принципы их диагностики, выявлены факторы риска неблагоприятного прогноза и заложены патогенетические основы эффективности различных химиопрепаратов и их комбинаций.

До 70% в возрастной группе больных до 20 лет составляют опухоли из зрелых В-клеток — лимфома Беркитта (ЛБ), острый лимфобластный В-клеточный лейкоз (В-ОЛЛ) и варианты диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВКЛ), включая первичную медиастинальную (ПМВКЛ) [4], в лечении которых показана эффективность интенсивных программ риск-адаптированной цитостатической химиотерапии (ХТ). Одним из главных принципов является строгое соблюдение интервалов между курсами ХТ, длительность которых не должна превышать 3 нед. Близкие по сути и эффективности протоколы немецко-австрийской группы BFM NHL 90 и 95, французской LMB96, франко-американо-британской FAB 2006 позволили достичь долгосрочной выживаемости больных В-НХЛ до 75—95% и стали эталоном для сравнения успешности вновь предлагаемых методов лечения этих опухолей [5—7]. Достоверно значимыми неблагоприятными прогностическими факторами являются увеличение лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в крови ≥ 2 нормальных значений (N), инициальное вовлечение ЦНС и плохой (согласно четко определенным критериям динамики системных и локальных характеристик болезни) ответ на индукционную терапию [8, 9]. Определение минимальной остаточной бо-

лезни (МОБ) позволяет уточнить прогноз более достоверно [10].

Введение различных модификаций, главным образом снижение дозировок основных цитостатиков и нарушение тайминга курсов полиХТ (ПХТ) в клиниках, не имеющих условий для сложного сопровождения интенсивной ХТ, показало, что для успешного лечения важным является не столько дозовая нагрузка противоопухолевых препаратов, сколько соблюдение временных режимов терапии препаратами в средних и даже стандартных дозах. Большое значение имеет своевременная адекватная оценка «ответа» со стороны опухоли для определения последующей лечебной тактики [11]. Особую проблему представляют тяжелая сочетанная гематологическая и органная токсичность инициального этапа лечения, обусловленный метаболическими нарушениями синдром опухолевого лизиса (СОЛ) с развитием острой почечной недостаточности. Замедленный клиренс метотрексата (Mtx) при нарушении функции почек, наличии выпота в полостях (асцит, специфический плеврит), что часто бывает при В-НХЛ и остром лейкозе, является одной из главных причин развития тяжелых мукозитов и длительной миелосупрессии, приводящих к возникновению тяжелых системных инфекций. Это и само по себе может служить причиной индукционной летальности, а невозможность своевременно продолжить противоопухолевое лечение и длительные интервалы между курсами повышают риск развития рефрактерности и рецидива [5]. Задача получения максимального эффекта в рамках предлагаемых протоколов лечения за счет уменьшения токсичности вследствие «смягчения» интенсивности без потери эффективности оказалась практически не решаемой. Повторить успех отдельных специализированных клиник высокого уровня при переносе этой технологии в стандартную практику во многих случаях оказывается неосуществимым [12]. Даже когда некоторые отечественные клиники получили возможность выполнять высокодозовые режимы ПХТ, показатели выживаемости больных с III—IV стадиями В-НХЛ и В-ОЛЛ не достигли уровня авторских результатов: 6-летняя бессобытийная выживаемость (БСВ) составила 0,64—0,69 [13, 14].

Все это делает актуальным поиск альтернативных методов воздействия на опухоль с другими механизмами терапевтического действия, аддитивными или, в идеале, синергичными по отношению к химиопрепаратам, использование которых в менее высоких дозах не будет сопряжено со столь тяжелой токсичностью и позволит получить достаточный противоопухолевый эффект, в том числе и за счет соблюдения интенсивного тайминга. Одним из таких подходов яв-

ляется иммунотерапия, которая стала реальностью после создания моноклональных антител (АТ) против антигена (АГ) CD20 — одного из специфических В-клеточных АГ. АГ CD20 оказался идеальной мишенью (target) для действия специфических АТ при В-НХЛ, так как он экспрессируется на большинстве опухолевых клеток ЛБ, В-ОЛЛ, ДВККЛ и фолликулярной В-клеточной лимфомы, не интернализуется после связывания с АТ и не циркулирует в плазме в виде свободного белка [15]. Первый доступный в клинической практике препарат ритуксимаб — химерное гуманизированное моноклональное АТ (мАТ) против АГ CD20 — осуществляет комплементзависимое и прямое цитотоксическое количественно и качественно прогнозируемое целенаправленное действие на дифференцированные В-клетки, не затрагивая В-предшественники и иммуноглобулин (Ig)-продуцирующие плазматические клетки, в которых нет АГ CD20. Это делает ритуксимаб истинно таргетным противоопухолевым препаратом, не обладающим органной и миелотоксичностью. Иммуносупрессивное действие ограничено В-клетками, проявляется снижением содержания сывороточных Ig и должно контролироваться в процессе терапии анти-CD20 АТ.

Добавление ритуксимаба (препараты мабтера, ритуксан) к стандартной ПХТ, очевидно, улучшило результаты лечения В-НХЛ у взрослых пациентов, сначала низко-, а затем и высококачественных, включая В-ОЛЛ [16–18]. Детали лечения — дозы и кратность введений АТ — отработаны в клинических исследованиях у взрослых больных. Показано, что ритуксимаб потенцирует действие ПХТ и не повышает токсичность лечения, по крайней мере в режимах лечения В-НХЛ [19]. Использование препарата у детей было ограничено единичными случаями лечения рефрактерных и рецидивных В-НХЛ и посттрансплантационного, ассоциированного

с вирусом Эпштейна — Барр, лимфопролиферативного синдрома [20].

Сочетание высокого противоопухолевого потенциала и низкой системной токсичности явилось основанием для включения ритуксимаба в 1-ю линию комбинированной терапии детей и подростков, больных зрелоклеточными В-НХЛ III–IV стадий и В-ОЛЛ, при одновременном снижении дозы Mtx в составе индукционных курсов ПХТ, и тем самым позволило уменьшить токсичность лечения без потери ее эффективности. Несмотря на то что ритуксимаб в моно- и комбинированной терапии В-НХЛ взрослых используется довольно давно, детали и особенности лечебной тактики, включая контроль ответа и оценку эффективности, не получили должного освещения. В детской практике такая терапия В-НХЛ в виде исследовательского протокола использована впервые, в задачи данного исследования входила также отработка методики ее выполнения, в том числе оценка динамики редукции опухоли и критериев достижения ремиссии при таргетной терапии [21]. Основным результатом исследования должен быть ответ на вопрос о безопасности (переносимость) и целесообразности (эффективность) использования таргетной иммунотерапии в составе протоколов лечения НХЛ из зрелых В-клеток у детей и подростков с целью уменьшить токсичность терапии и сделать доступным оказание своевременной эффективной помощи таким пациентам в ординарных стационарах регионального уровня.

Материалы и методы

Многолетний опыт лечения В-НХЛ у детей и подростков в российских педиатрических онкогематологических клиниках по протоколам БФМ, модифицированным и оригинальным, послужил основанием использовать БФМ-ориентированную тактику лечения указанных опухолей короткими курсами интенсивной ПХТ в протоколе В-НХЛ 2004 м (ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии) как базовую составляющую комбинированной химиоиммунотерапии (ХИТ) больных зрелоклеточными В-НХЛ/ОЛЛ возрастной группы до 18 лет [21]. Протокол состоит из циторедуктивной фазы и 6 курсов ПХТ, аналогичных оригинальному протоколу В-NHL BFM 90 [5] за исключением 2 индукционных курсов, где доза Mtx в суточной инфузии снижена с 5 до 1 г/м². Ритуксимаб (мабтера, «Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд») в дозе 375 мг/м² входит в состав первых 4 курсов

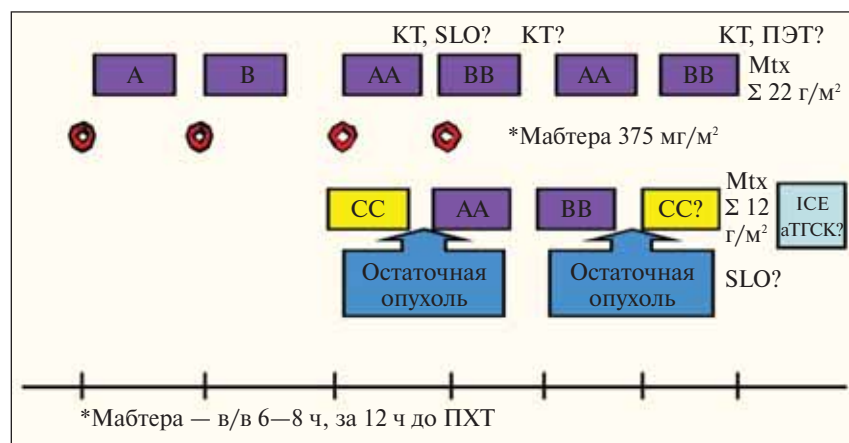


Рис. 1. Протокол В-НХЛ 2004 м

ПХТ (день 0), вводится длительной (6–8 ч) инфузией и заканчивается не позднее 12 ч от начала (первый день) курса (рис. 1). Ритуксимаб вводили, согласно рекомендациям производителя, после премедикации антигистаминными препаратами и антипиретиками. При тяжелой реакции на первое введение ритуксимаба перед последующим вводили глюкокортикоиды.

В ходе исследования режим введений ритуксимаба был изменен: инфузии препарата проводятся, начиная с первого дня после завершения циторедуктивной фазы (первая инфузия), остальные 3 инфузии — с 2-недельными интервалами независимо от сроков выполнения цитостатических курсов, которые могут быть изменены по объективным причинам. Введение ритуксимаба может предшествовать началу курсов ХТ на срок, необходимый для купирования осложнений или восстановления показателей гемограммы, обозначенных в протоколе.

Условия включения больных в исследование представлены в предыдущих публикациях [22–24]. Анализ результатов проводили на основании оценки комплекса показателей первичных больных младше 19 лет с верифицированным диагнозом ЛБ, В-ДВККЛ III–IV стадий (по S. Murphy) и В-ОЛЛ при экспрессии АГ CD20 на клетках опухоли (иммуногистохимически) или костного мозга — асцитической или плевральной жидкости (иммунофенотипически) при отсутствии ошибочного предшествующего лечения. Диагностика включала анализ стандартных клиничко-лабораторных параметров, комплексное исследование субстрата опухоли (морфология и иммунофенотип), определение стадии на основании данных миелограмм, оценки поражения ЦНС, компьютерной (КТ) и магнитно-резонансной (МРТ) томографии.

Результаты

В анализ включены данные обследования (табл. 1), терапии и ее результатов (табл. 2) 61 впервые диагностированного больного В-НХЛ III–IV стадий и В-ОЛЛ в возрасте 2–18 лет, получивших лечение в 11 педиатрических клиниках России за период с марта 2004 по март 2008 г.

В группе было значительно больше мальчиков, особенно среди больных ЛБ, медиана возраста пациентов с ДВККЛ была значимо выше, чем у других больных ($p=0,028$). Также следует отметить тяжесть клинических проявлений, включая частоту развития асцита и плеврита, вовлечение ЦНС, преимущественно в случаях В-ОЛЛ (50% больных), и у них же особенно частое повышение в крови содержания ЛДГ > 2 нормальных значений (80% больных).

При анализе результатов применения протокола выявлена низкая токсичность лечения: констатировано 4 случая ранней летальности (сепсис и послеоперационные осложнения, СОЛ — 3 больных В-ОЛЛ и 1 пациент с ЛБ — инфекция) и ни одного — постиндукционной летальности. Среди неудач терапии — 2 случая с рефрактерным течением и 1 ранний ЦНС-рецидив у больных ЛБ. Пятьдесят пять пациентов в разные сроки достигли ремиссии, показатели общей выживаемости и БСВ составили $0,9 \pm 0,04$ при медиане наблюдения после окончания терапии 34 (12–53) мес (см. табл. 2; рис. 2).

Анализ деталей и особенностей комбинированной терапии В-НХЛ

Согласно условиям протокола, 61 пациенту было выполнено более 240 введений ритуксимаба, проведено 250 инфузий. Четверо больных, умерших в ранние сроки лечения, получили меньшее

Таблица 1. Протокол В-НХЛ 2004 м: характеристика больных

Показатель	Вся группа	В-ОЛЛ	ЛБ	В-ДККЛ
Всего больных	61	21	26	14
Мальчики/девочки, всего (соотношение)	48/13 (3,5: 1)	15/6 (2,5:1)	23/3 (7,5:1)	10/4 (2,5:1)
Возраст на момент диагноза, годы (медиана)	2,3–17,1 (8,76)	2,3–17,1 (8,76)	2,8–16,9 (7,43)	3,8–16,6 (13,54)
ЦНС +	14	10	1	3
Стадия				
III	27	—	19	8
IV	13	—	7	6
Асцит/плеврит	30/20	11/9	16/8	3/3
ЛДГ, число случаев				
норма	22	1/5	12/46	9/64
≤ 2	12	3/14	8/31	1/7
$> 2 \leq 4$	15	6/29	5/19	4/28
> 4	12	11/52	1/4	0

Примечание. Здесь и далее представлено число больных (в скобках — процент).

Таблица 2. Протокол В-НХЛ 2004 м: результаты лечения на 01.09.2009 г.

Показатель	В-НХЛ/В-ОЛЛ (n=61)	В-ОЛЛ (n=21)	ЛБ (n=26)	ДВККЛ (n=14)
Смерть в индукции	4 (6,6)	3 (14)	1 (4)	0
Рефрактерность	2 (3,3)	0	2 (8)	0
Достижение ремиссии	55 (90)	18 (86)	23 (88)	14 (100)
Рецидив	1 (1,6)	1 (5,5)	0	0
ППР	54 (88,5)	17 (80)	23 (88,4)	14 (100)
Медиана наблюдения, мес	32,9	33,5	37,7	30,2

Примечание. Здесь и далее: ППР — продолжительная полная ремиссия.

число инфузий (1—3), тогда как 2 пациента с рефрактерным течением, 4 — с остаточным образованием и 2 реципиента трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) получили большее количество введений, чем было изначально определено протоколом, максимально 8 ($n=1$). Большинство пациентов ($n=48$) получили по 4 «протокольных» введения ритуксимаба.

Осложнения в ходе первой инфузии препарата — боли в животе, озноб, кашель, ларингоспазм — отмечены у 16 больных, у 2 из них инфузия была остановлена при явлениях бронхоспазма и падении артериального давления. Осложнения были успешно купированы антигистаминными препаратами и кортикостероидами. В процессе повторных 74 инфузий у этих 16, так же как и у остальных 45 пациентов, осложнений в процессе введения ритуксимаба не зафиксировано, иммунотерапия выполнена в полном объеме.

У 11 больных, поступивших на лечение в крайне тяжелом состоянии, инициальная цитостатическая терапия была существенно редуцирована или проводилась с отсрочкой из-за осложнений (инфекционных и метаболических); в этот период пациенты в качестве противоопухолевой по-

лучали монотерапию ритуксимабом, 1—2 введения, после чего была продолжена ПХТ согласно протоколу. Семнадцать больных получили ритуксимаб при явлениях почечной недостаточности (инициально или между 1—2-м курсами ПХТ), 4 — при наличии системной грибковой инфекции, развившейся в процессе выполнения протокола. Всем им удалось закончить лечение, эти пациенты остаются в ремиссии.

Из 54 больных В-НХЛ, находящихся в длительной ремиссии, у 27 в течение 6—9 мес отмечалось снижение сывороточных Ig ниже минимальных нормальных значений. Заместительную терапию препаратами внутривенных (в/в) Ig проводили в случаях развития частых интеркуррентных заболеваний, как правило, протекающих нетяжело.

ПХТ

Состав курсов (блоков) ПХТ соответствует протоколу VBM В-NHL 90 для больных 3-й группы риска [11] с модификацией в виде снижения дозы Mtx до 1 г/м²/сут в первых 2 блоках. Кроме того, у 20 из 57 пациентов, завершивших протокол, по различным причинам суммарная доза Mtx (Σ_{Mtx}) была снижена от должествующей на 5—84%, медиана 46 (табл. 3).

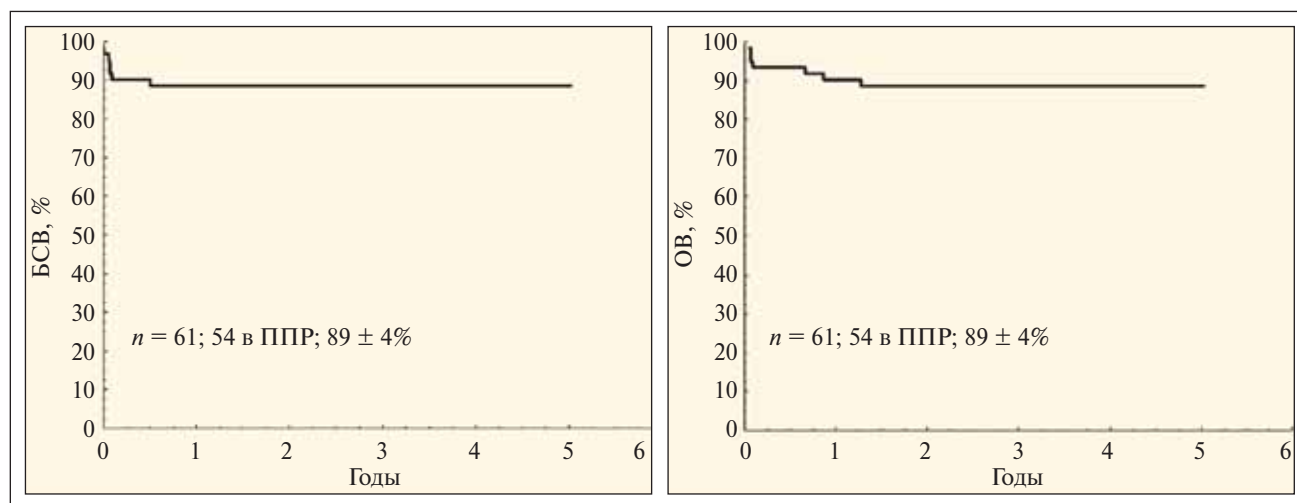


Рис. 2. БСВ и ОВ больных В-НХЛ/В-ОЛЛ (протокол В-НХЛ 2004 м)

Таблица 3. Протокол В-НХЛ 2004 м: суммарная доза Мtx

Показатель	В-ОЛЛ (n=18)	ЛБ (n=25)	ДВККЛ (n=14)
Число больных, получивших неполную дозу Мtx	9 (50)	7 (28)	2 (14)
Уменьшение дозы Мtx относительно должной, % (медиана)	5–80 (44)	4–70 (27)	50% и 80%
ППР, %	100	92	100

Десять больных получали Мtx в дозе ≤ 2 г/м²/сут, 9 — в I курсе ПХТ не получили препарат вообще. У всех этих пациентов, кроме 1 — с рефрактерным течением ЛБ, достигнута ремиссия, продолжающаяся к моменту анализа $> 1,5$ года, включая 14 человек, получивших $\leq 60\%$ от должествующей $\Sigma_{\text{Мtx}}$ (табл. 4).

Несмотря на снижение дозы Мtx, по завершении индукционной терапии у большинства пациентов получен быстрый противоопухолевый эффект без развития тяжелых осложнений при соблюдении интервала между началом 1-го и 2-го блоков до 21 дня (табл. 5). Однако почти

у половины больных (n=26) после III курса ПХТ + ритуксимаб, по данным КТ с контрастированием, еще оставалась остаточная масса на месте локализации первичной опухоли. Пяти из них, в том числе 2 детям с рефрактерной опухолью, проведена аутологичная ТГСК (аТГСК). В дальнейшем в случаях обнаружения остаточного образования после 3–4 курсов ПХТ 15 больным была сделана позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), по результатам которой определяли тактику терапии, в частности показания к аТГСК. Позитивный результат ПЭТ был выявлен в 4 случаях, 3 больным проведена биопсия

Таблица 4. В-НХЛ 2004 м: снижение $\Sigma_{\text{Мtx}}$ и результаты терапии

Диагноз	Доза Мtx, г/м ² должная	Доза Мtx, г/м ² получено	%	I	Курс II	Курс III	Курс IV	Курс V	Курс VI	Достижение ремиссии, блок	ППР, мес
1* В-ОЛЛ	22	21	95	0	1	5	5	5	5	1	52,1
2** В-ОЛЛ	12	6	50	1	1	СС	2	2	СС	3	34,9
3** В-ОЛЛ	12	4	33	1	1	СС	1	1	СС	3	35,5
4** В-ОЛЛ	22	12	54	2	2	2	2	2	2	1	33,6
5*,** В-ОЛЛ	30	5	16	0	1	1	1	1	1	2	17,7
6* В-ОЛЛ	22	21	95	0	1	5	5	5	5	2	26,9
7* В-ОЛЛ	22	8	36	0	1	5	2	СС	СС	1	26,5
8 В-ОЛЛ	20	12	60	1	СС	1	5	5	СС	2	24,4
9* В-ОЛЛ	30	16	53	0	СС	1	5	5	5	2	21,6
10** ЛБ	22	12	54	2	2	2	2	2	2	2	53,3
11* ЛБ	22	12	54	0	СС	1	1	5	5	2	51,4
12* ЛБ	12	11	91	0	1	СС	5	5	СС	3	43,43
13** ЛБ	22	6	27	1	1	1	1	1	1	2	55,87
14** ЛБ	12	6	50	0	2	СС	2	2	СС	—	—
15* ЛБ	12	11	91	0	1	СС	5	5	СС	3	33,5
16 ЛБ	20	16	80	1	5	СС	5	5	СС	3	22,8
17** ЛБ	12	4	33	1	1	СС	1	1	СС	6	14,7
18 ДВККЛ	12	11,5	95	500	1	СС	5	5	СС	6	10,9
19** ДВККЛ	12	1	8,3	1	—	—	—	—	—	5	31,4
20** ДВККЛ	12	6	50	1	1	1	1	1	1	2	25,6

* I-й курс без Мtx; ** не получали Мtx в дозе 5 мг/м² ни в одном курсе ПХТ. СС — курс ХТ без Мtx.

Таблица 5. Протокол В-НХЛ 2004 м: токсичность лечения

Показатель	В-НХЛ/В-ОЛЛ (n=61)
Смерть в индукции	4
Смерть в ремиссии	0
Интервал «1—2-й блок», дни (медиана)	11—58 (19)
Интервал «1—2-й блок» ≤21 дня (% больных)	43 из 57 (75)
Длительность лечения, мес (медиана)	4—7 (4,5)
Отказ от лечения, отмена*	5

*Уменьшение интенсивности первых курсов ПХТ за счет метотрексата; введения мабтеры выполнены в 100% случаев.

образования: «живая» опухоль обнаружена у 2 пациентов с рефрактерным впоследствии течением болезни, 2 других больных остаются в длительной ремиссии.

У 10 пациентов при остающемся образовании, визуализируемом на КТ, и негативном результате ПЭТ констатировали ремиссию с момента отсутствия изменений размеров остаточного инфильтрата (по данным КТ), 2 из них дополнительно получили курс ICE (ифосфамид, карбоплатин и этопозид), 3 назначен ритуксимаб — по 2 введения (табл. 6). У 15 больных с остаточным образованием после завершения протокола рецидива заболевания нет в течение более чем 1,5 лет. В 7 случаях повторной биопсии в инфильтрате отсутствует «живая» опухоль, обнаружены очаги некроза, фиброз или кальцинаты. У 3 детей инфильтрат впоследствии полностью регрессировал.

Достижение ремиссии (см. табл. 6)

У больных В-ОЛЛ, переживших начальный период лечения (n=18), морфологическая ремиссия констатирована после проведения 3 курсов терапии, у 13 из них — уже после I курса.

У больных ДВККЛ остаточное образование определяется длительно, практически у всех с первичной медиастинальной ВККЛ и поражением костей. Во всех этих случаях на основании

ПЭТ и/или данных биопсии констатировано отсутствие «живой» опухоли. Такая же ситуация отмечена у 1/3 больных ЛБ, как правило, при инициально большой массе опухоли, локализации ее в желудке (n=2), печени (n=3) и ЦНС (n=2). К сожалению, исследование МОБ на цито-/молекулярно-генетическом уровне не выполнено ни в одном случае. Больные находятся под тщательным наблюдением с длительностью ремиссии > 1,5 лет.

Продолжительность выполнения протокола составила при такой тактике от 4 до 7 (медиана 4,5) мес; интервал ≤21 дня между началом I и II курсов был выдержан у 43 (75%) из 57 пациентов, получивших II курс ХТ — от 11 до 58 дней (медиана 19). Представленные данные свидетельствуют о хорошей выполняемости, а показатели БСВ и ОВ (см. рис. 2) — о высокой эффективности проведенного лечения.

Обсуждение

С учетом различий условий выполнения протокола в клиниках, представивших свои результаты, отсутствия рекомендаций определения групп риска в условиях проведения таргетной терапии, убедительных четких критериев оценки эффективности терапии с сочетанием целенаправленного иммунного и тотального цитотоксического действия, которые приходилось корректировать в процессе выполнения протокола, заверченный этап можно считать пилотной фазой исследования. При анализе результатов показана целесообразность применения ритуксимаба в 1-й линии терапии В-НХЛ/ОЛ в комбинации с цитостатической ПХТ со сниженной интенсивностью, при котором отмечены высокая эффективность и уменьшение токсичности лечения.

Хорошие результаты при использовании ритуксимаба в программах лечения В-НХЛ в соче-

Таблица 6. Протокол В-НХЛ 2004 м: достижение ремиссии

Показатель	В-НХЛ/В-ОЛЛ (n=61)	В-ОЛЛ (n=21)	ЛБ (n=26)	ДВККЛ (n=14)
Смерть в индукции	4 (6,6)	3 (14)	1 (4)	0
Рефрактерность	2 (3,3)	0	2 (8)	0
Достижение ремиссии	55 (90)	18 (86)	23 (88)	14 (100)
Ремиссия после 3 блоков	33 (57)	18 (100)	11 (48)	4 (28)
Остаточное образование после 5—6-го блоков	15	0	8 (34,3)	7 (50)
ППР	54 (88,5)	17 (80)	23 (88,4)	14 (100)
Медиана наблюдения, мес	32,9	33,5	37,7	30,2

тании с различными режимами ХТ продемонстрировали многие исследовательские группы, как правило, при меньших сроках наблюдения [25, 26]. В нашем исследовании улучшение результатов достигнуто как вследствие уменьшения осложнений терапии (при низкой индукционной летальности — 6,6% — ни один больной не умер от осложнений после достижения ремиссии), так и благодаря высокой эффективности: уменьшилось число случаев рефрактерности (3,3%) и рецидивов (1,6%). При высокой частоте инициального поражения ЦНС (23% случаев), что считается неблагоприятным прогностическим признаком вероятности рецидивирования, среди больных, получивших комбинированную ХИТ, при наблюдении > 2,5 лет развился только 1 рецидив. Эти показатели ниже по сравнению с данными, полученными в российских педиатрических клиниках на протоколах НХЛ БФМ 90: в группе из 95 больных В-НХЛ в РДКБ в 2000—2002 гг. рефрактерность составила 8,4%, рецидивы — 14,8%; в группе из 148 больных в РОНЦ (1994—2008 гг., все стадии) рефрактерность — 12,8%, рецидивы — 7,8% [14]. Показатели БСВ и ОВ оказались аналогичны полученным в лучших клинических исследованиях при выполнении лечения цитостатиками с учетом состава пациентов (III—IV стадии НХЛ и В-ОЛЛ) [5, 6]. Если больные В-ОЛЛ и ПМВКЛ, по данным публикуемых крупных исследований, имеют наихудший прогноз среди всех В-НХЛ, то при добавлении ритуксимаба результаты терапии этих вариантов на протоколе В-НХЛ 2004м достоверно улучшились, что также подтверждается данными других авторов [27, 28]. При ДВККЛ получены 100% показатели БСВ даже у подростков, которые не получали избыточной цитостатической терапии, при том что у многих даже по окончании лечения продолжали выявляться остаточные образования на месте первичной опухоли.

Выполнение комбинированной ХИТ имеет свои особенности, обусловленные таргетным механизмом действия АТ против АГ опухолевых клеток. Некоторые детали такой терапии стали очевидны в результате данного исследования.

Прежде всего следует отметить низкую непосредственную токсичность мабтеры: побочные явления имели место только при первом введении препарата, переносимость и выполняемость данного вида терапии можно оценить как хорошие. Побочные

действия практически не отличаются от развивающихся при введении препаратов в/в Ig, их несложно лечить и проводить профилактику при наличии подготовленного персонала и организации необходимых условий осуществления инфузий. Низкую токсичность терапии ритуксимабом у детей и подростков отмечают многие исследователи, на больших группах пациентов описаны единичные случаи «анафилаксии» и ни одного случая с летальным исходом [19, 26].

Специфичность действия ритуксимаба и ограниченная популяцией В-клеток иммуносупрессия являются причинами того, что препарат не оказывает миело- и органотоксического действия. Иммуносупрессия проявляется в основном снижением содержания сывороточных Ig, которое имеет место до начала лечения у 1/3 больных В-НХЛ, развивается также при лечении цитостатиками и при наличии показаний подлежит замещению [29]. Противопоказаний для лечения В-НХЛ ритуксимабом практически нет, это позволяет продолжать проведение противоопухолевой терапии больным В-НХЛ в состоянии аплазии кроветворения, при системных инфекциях, почечной недостаточности и в других случаях, когда цитостатическая ПХТ невозможна, поскольку связана с высоким риском развития тяжелых осложнений.

Более того, сочетание цитостатиков и ритуксимаба позволяет нарушить одно из прежде неизбывных и непреложных правил успешного лечения зрелоклеточных В-НХЛ — соблюдение жестких темпов выполнения курсов ПХТ. Оказалось, что сроки проведения цитостатических блоков не имели в случае применения ритуксимаба столь определяющего значения для эффективности лечения (рис. 3).

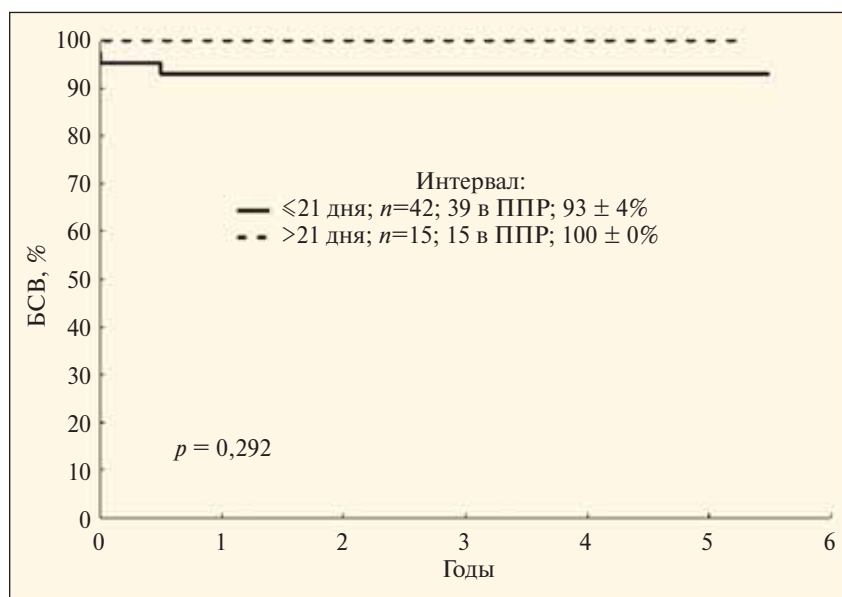


Рис. 3. БСВ пациентов в зависимости от длительности интервала между 1-м и 2-м блоком ПХТ

При регулярных введениях ритуксимаба (в нашем исследовании — каждые 2 нед) можно задержать начало следующего очередного курса цитостатической ПХТ и надежно купировать возникшие осложнения, не компрометируя противоопухолевый эффект проводимого лечения. Кроме того, на основании оценки кинетики ритуксимаба на протоколе FAV 2006 показано, что после введения ритуксимаба обнаруживается в сыворотке в эффективных противоопухолевых концентрациях в среднем до 3 мес после последнего введения [26]. Таким образом, действие препарата продолжается и после завершения протокола, что может иметь дополнительное значение при оценке эффекта терапии.

При том, что общепризнанным условием успешности лечения В-НХЛ/В-ОЛЛ является включение в курсы ПХТ Mtx в высоких дозировках — не менее 3–5 г/м²/сут [8], осложнения лечения в значительной степени обусловлены именно действием этого препарата. Включение ритуксимаба в комбинированную терапию В-НХЛ позволило снизить суммарную дозу Mtx на 1/3, причем на самом ответственном индукционном этапе лечения, без уменьшения его эффективности. Помимо запланированного протоколом снижения суммарной дозы Mtx у всех больных, 20 из них по различным причинам получили еще меньшую дозу препарата — во избежание развития токсичности при отечном синдроме, последствиях хирургических вмешательств, тяжелых инфекциях. Оказалось, что эффект лечения не коррелирует с интенсивностью использования высоких доз Mtx. Это подтверждают данные терапии В-НХЛ курсами ЕРОСН-Р с достижением БСВ >90% при низкой токсичности вообще без применения Mtx [25]. Это является основанием для обсуждения вопроса о дальнейшем уменьшении цитостатической нагрузки в лечении зрелоклеточных В-НХЛ, особенно В-ОЛЛ, при условии квалифицированного локального и системного контроля, включая ПЭТ и определение МОБ [26].

Констатация ремиссии — весьма непростая проблема при лечении опухоли (в данном случае В-НХЛ) препаратами таргетного действия. Критерии эффективности лечения НХЛ в принципе должны быть пересмотрены вследствие появления в практике определения МОБ и высокоспецифичного метода визуализации, которым является ФДГ-ПЭТ (ФДГ — фтордезоксиглюкоза) [30, 31]. Во многие протоколы введены понятия неподтвержденной (unconfirmed) полной и минимальной ремиссии [30, 31].

Уже в первые месяцы использования протокола В-НХЛ 2004 м наблюдалось замедленное сокращение первичной опухоли при контроле КТ/МРТ — вместо ожидавшегося быстрого ло-

кального эффекта. При наблюдении за больными, получившими полный курс терапии и находящимися в состоянии ремиссии не менее 1 года со времени завершения протокола, оказалось, что объемное образование продолжает выявляться у половины из них после проведения 3–4 курсов терапии, а у 15 человек — даже после окончания всего протокола (см. табл. 6). По определениям оригинального протокола В-НХЛ BFM 90, подобные случаи следует считать рефрактерными и усиливать терапию, в том числе с осуществлением ТГСК. Такая тактика была предпринята у 6 больных на I этапе нашего исследования, включая 2 рефрактерных случая ЛБ. В остальных случаях наличия остаточной опухолевой массы при негативном результате ПЭТ состояние трактовали как ремиссию, что подтверждается отсутствием рецидива заболевания при продолжающемся длительном наблюдении больных. Объективно факт клинко-гематологической ремиссии можно пока определить только при В-ОЛЛ: показано, что при изолированном поражении «санация» костного мозга происходит у 72% больных уже после I курса ПХТ с ритуксимабом. Несмотря на то что определение МОБ нами не проводилось, состояние полной клинко-гематологической ремиссии сохраняется > 1,5 лет у всех пациентов.

Таким образом, замедленное сокращение первичного образования при лечении В-НХЛ с ритуксимабом и сниженной дозой Mtx не означает рефрактерного течения болезни. В таких случаях для констатации ремиссии необходимо, кроме КТ, обязательно использовать ПЭТ и/или биопсию остаточного образования с оценкой МОБ. На основании этих данных можно уменьшать интенсивность терапии с минимальным риском для пациента. Пока же в случае негативного результата ПЭТ была продолжена терапия согласно протоколу без дополнительных курсов ПХТ; по окончании лечения проводится контроль состояния ремиссии в динамике, в сомнительных случаях — с помощью ПЭТ.

Изменение темпов регрессии опухоли при таргетной терапии, возможно, обусловлено тем, что в результате действия таргетных препаратов происходит уничтожение опухолевых клеток без повреждения микроокружения. На месте злокачественной опухоли остается ее «скелет» без опухолевых клеток с участками некроза и последующим фиброзом. По всей вероятности, процесс более сложен, понять его суть представляется очень важным, поскольку это связано с вопросами качества достигнутой ремиссии В-НХЛ и определения тактики наблюдения и прогноза.

Представленные данные анализа некоторых особенностей терапии препаратом с таргет-

ным действием не позволяют ответить на важные для успеха выбранной тактики лечения вопросы. Прежде всего, с чем связано развитие рефрактерности к ритуксимабу, о чем свидетельствуют как случаи инициальной рефрактерности, так и описываемые наблюдения неэффективности препарата при лечении рецидивов, развившихся у больных после терапии, включавшей ритуксимаб. Также неясно, следует ли ориентироваться при определении показаний к терапии ритуксимабом на результаты иммуногистохимических заключений об относительном содержании CD20(+)-клеток в опухоли. Возможно, неудачи лечения ЛБ с большой массой опухоли обусловлены небольшой относительной долей среди них CD20(+)-клеток или потерей специфичности строения этого АГ вследствие мутаций, что было показано в ряде публикаций [32].

Заключение

При очевидном успехе включения ритуксимаба в лечение В-клеточных НХЛ/ОЛЛ можно достаточно уверенно принять положение о том, что целенаправленная иммунотерапия может изменить прогноз этих опухолей. На основании проведенного исследования можно заключить следующее.

- Протокол комбинированной ХИТ высокоэффективен и малотоксичен при лечении всех вариантов НХЛ/ОЛЛ из зрелых В-клеток у детей и подростков. Особенно хорошие результаты зафиксированы в случаях ДВККЛ и ПМВКЛ независимо от возраста пациентов. При использовании в терапии ритуксимаба эти варианты В-НХЛ, так же как и В-ОЛЛ, потеряли статус группы высокого риска плохого прогноза даже у подростков.
- Включение ритуксимаба в состав комбинированной ПХТ В-НХЛ не сопровождается непредсказуемой токсичностью, хорошо переносится пациентами, возникающие побочные реакции успешно купируются и не развиваются при повторных введениях препарата. Ритуксимаб рекомендуется применять в случае невозможности лечения цитостатиками из-за различных противопоказаний, режимы его введения можно варьировать с учетом особенностей фармакокинетики — отсутствие миело- и органотоксического действия и длительной персистенции в эффективных противоопухолевых концентрациях.
- Добавление ритуксимаба позволяет уменьшить интенсивность цитостатической ПХТ как по дозовой нагрузке, так и по таймингу выполнения курсов. При регуляр-

ных введениях ритуксимаба (стандартно 4 введения с интервалом 2 нед) отсутствует строгая корреляция эффективности лечения со сроками выполнения курсов (блоков) ПХТ.

- Снижение дозы Mtx в составе инициальных курсов ПХТ не ухудшило результатов терапии. Есть основания для дальнейшей дезэскалации ПХТ у больных В-НХЛ без факторов риска, прежде всего без инициального поражения ЦНС, при возможности определения МОБ и использования ПЭТ для локального контроля.
- Отсроченное достижение морфологической и выявляемой стандартными методами визуализации локальной ремиссии (ультразвуковое исследование, КТ с контрастированием) не может служить однозначным показателем плохого прогноза; для оценки состояния ремиссии при проведении таргетной терапии следует использовать максимально информативные методики, для визуального контроля остаточного образования — комбинацию КТ/МРТ и ФДГ-ПЭТ в динамике при хорошем качестве исполнения и интерпретации результатов.

Если помнить постулат о первично-генерализованном характере НХЛ детского возраста, уверенно констатировать состояние ремиссии можно только на основании определения МОБ, что пока не стало стандартной практикой [33]. Применение этой методики при возможностях специфического действия таргетных препаратов может позволить адекватно определять тактику терапии, индивидуализировать ее состав и объем, отступить от принципа «чем больше, тем эффективнее»; получить, наконец, возможность усилить или снизить цитостатическую нагрузку и осмысленно использовать препараты направленного действия не на основании общих представлений, а в результате доказательных выводов. Например, с учетом беспрецедентно хорошего эффекта ритуксимаба в лечении В-ОЛЛ сместить акцент в программе терапии конкретного пациента с токсичной высокодозной ПХТ с произвольным набором цитостатиков в пользу ритуксимаба. В результате вполне реально ожидать осуществления недостижимого пока формата лечения злокачественных опухолей — целенаправленного уничтожения только опухолевых клеток без токсического повреждения других органов и тканей. Полученные в результате пилотного исследования В-НХЛ 2004 г данные должны быть использованы при разработке последующих максимально эффективных и минимально токсичных протоколов комбинированной ХИТ В-НХЛ/ОЛЛ у детей и подростков.

Л и т е р а т у р а

1. Magrath I. B-Cell lymphoma/Burkitt lymphoma. In: *Pediatric Lymphomas*. Ed. H.J. Weinstein, M.M. Hudson, M.P. Link. Berlin, 2007. p. 142—68.
2. Magrath I. The non-Hodgkin's lymphomas in children. In: *Oxford Textbook of Oncology*. Oxford: Oxford Medical Publications, 1995. p. 1809—51.
3. Murphy S.B., Bowman W.P., Abromowitch M. et al. Results of treatment of advanced-stage Burkitt's lymphoma and B-cell (slg+) acute lymphoblastic leukemia with high-dose fractionated cyclophosphamide and coordinated high-dose methotrexate and cytarabine. *J Clin Oncol* 1986;4:1732—9.
4. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Ed. E.S. Jaffe, N.L. Harris, Y. Stein, J.W. Vardiman. Lyon, 2001.
5. Reiter A., Schrappe M., Parwaresch R. et al. Non-Hodgkin's lymphomas of childhood and adolescents: results of a treatment stratified for biologic subtypes and stage — a report of the BFM Group. *J Clin Oncol* 1995;13:359—72.
6. Patte C., Philip T., Rodary C. et al. High survival rate in advanced-stage B-cell lymphomas and leukemias without CNS involvement with a short intensive polychemotherapy: results from the French Pediatric Oncology Society of a randomized trial of 216 children. *J Clin Oncol* 1991;9:123—32.
7. Goldman S., Gerard M., Sposto R. et al. Excellent results in children and adolescents with isolated mature B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) (Burkitt): Report from the FAB International LMB study FAB/LMB 96. *Proc Am Hem* 2005;106:72a.
8. Patte C. Treatment strategies and outcome in childhood B-cell lymphoma. *Ped Blood Cancer* 2006;46(7):834.
9. Burkhardt B. Outcome of adolescents with NHL: the BFM experience. *Ped Blood Cancer* 2006;46(7):847.
10. Shiramizu B., Goldman S., Lynch J. et al. Minimal residual disease (MRD) assessment in children and adolescents with mature B-cell non-Hodgkin lymphoma (B-NHL): a Children's Oncology Group report. *Hematol meet report* 2009;3(5):14.
11. Reiter A., Schrappe M., Tiemann M. et al. Improved treatment results in childhood B-cell neoplasms with tailored intensification of therapy: a report of the Berlin-Frankfurt-Munster Group Trial NHL-BFM-90. *Blood* 1999;94(10):3294—306.
12. Cairo M.S., Sposto R., Gerrard M. et al. Risk factors associated with poor outcome in children and adolescents (c&a) with mature B-NHL: report of the FAB/LMB 96 Study. *Hematol meet report* 2009;3(5):20.
13. Semochkin S., Bobkova M., Kulikova S. et al. Modified NHL-BFM 90 protocol for adolescents and young adults with Burkitt lymphoma (BL), mature B-cell ALL and diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Hematol meet report* 2009;3(5):53.
14. Morozova O., Slugin A., Mahonova L. et al. Treatment of childhood NHL with NHL-BFM 90/95 protocols. *Hematol meet report* 2009;3(5):94.
15. Minard-Colin V., Horikawa M., Xiu Y. Immune effector mechanisms of CD20 monoclonal antibodies. *Hematol meet report* 2009;3(5):19.
16. Pfreundschuh M., Trumper L., Glass B. et al. Randomized intergroup trial of first-line treatment for patients <60 years with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) with a CHOP-like regimen with and without the anti-CD20 antibody rituximab — early stopping after first interim analysis. *Blood* 2002;11:65.
17. Coiffier B., Lepage E., Briere J. et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346:235.
18. Hoelzer D., Hiddemann W., Baumann A. et al. High cure rate of adult Burkitt's and other high grade NHL by the combination of short intensive chemotherapy cycles with rituximab. *Haematologica* 2007;92(1):151.
19. Meinhardt A., Burkhardt B., Zimmermann M. et al. Results of a phase II window study on rituximab in newly diagnosed pediatric mature B-cell NHL / Burkitt's leukemia (B-ALL). *Hematol meet report* 2009;3(5):21.
20. De Vries M.J., Veerman A.J., Zwaan C.M. Rituximab in three children with relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia/Burkitt non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2004;25:414—5.
21. Самочатова Е.В., Шелихова Л.Н., Мякова Н.В. и др. Лечение неходжкинских лимфом и острого лимфобластного лейкоза из зрелых В-клеток (В-НХЛ/ОЛЛ) у детей и подростков с использованием интенсивной полихимиотерапии и ритуксимаба (протокол В-НХЛ 2004м): предварительные результаты. *Гематол трансфузиол* 2007;(6):9—17.
22. Samochatova E., Myakova N., Shelikhova L. et al. Preliminary results of treatment of pediatric advance-staged mature B-cell non-Hodgkin lymphomas/B-ALL with intensive chemotherapy + rituximab: effectiveness and toxicity. *Ped Blood Cancer* 2006;46(7):854.
23. Самочатова Е.В., Мякова Н.В., Литвинов Д.В. и др. Применение Ритуксимаба (Мабтера) в комбинированном лечении В-клеточных неходжкинских лимфом у детей: предварительные результаты. *Вопр гематол онкол и иммунопатол педиатр* 2004;3(4):54—60.
24. Самочатова Е.В., Шелихова Л.Н., Мякова Н.В. и др. Ритуксимаб (Мабтера) в лечении диффузных В-крупноклеточных лимфом у детей и подростков. *Дет онкол* 2007;(3—4):50—7.
25. Dunleavy K., Little R.F., Grant N. et al. Dose-adjusted EPOCH with rituximab (DA-EPOCH-R) has high efficacy and low toxicity in young adults with newly diagnosed Burkitt lymphoma — a prospective study of 25 patients. *Hematol meet report* 2009;3(5):52.
26. Goldman S., Lynch J., Harrison L. et al. Safety and kinetics of rituximab (R) following chemoimmunotherapy (R + FAB CT) in children and adolescents with mature B-cell non-Hodgkin lymphoma (B-NHL): a Children's Oncology Group report. *Hematol meet report* 2009;3(5):81.
27. Gerrard M., Waxman I., Sposto R. et al. Primary mediastinal B-cell lymphoma (PMBL) in children (c) and adolescents (a) is associated with a significantly inferior prognosis: report of the FAB/LMB 96 Study Committee. *Hematol meet report* 2009;3(5):51.
28. Dunleavy K., Pittaluga S., Grant N. et al. The addition of rituximab to dose-adjusted EPOCH (DA-EPOCH) obviates the need for radiation treatment in young adults with primary mediastinal B-cell lymphoma. *Hematol meet report* 2009;3(5):50.
29. Meinhardt A., Schadwill S., Zimmermann M. et al. Serum immunoglobulin levels in children and adolescents after B-NHL BFM chemotherapy with and without one dose of Rituximab. *Hematol meet report* 2009;3(5):23.
30. Sandlund J.T. Response evaluation: pediatric non-Hodgkin lymphoma. *Hematol meet report* 2009;3(5):11.
31. Cheson B., Pfister B., Juweid M. et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25(5):579—86.
32. Terui Y., Hatake K. Identification of CD20 mutations in malignant lymphoma: can they be predictors of response to rituximab? *Clin Cancer Res* 2009;15:2523.
33. Mussolin L., Pilon M., Tridello G. et al. Minimal disseminated disease identifies a poor prognosis subgroup among high risk Burkitt's lymphoma patients. *Hematol meet report* 2009;3(5):12.

ПРИМЕНЕНИЕ АЛЕМТУЗУМАБА В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

С.С. Бессмельцев¹, Е.В. Литвинская¹, К.М. Абдулкадыров¹, Е.В. Карягина²

¹ФГУ Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии;

²Городская больница №15, Санкт-Петербург

Контакты: Станислав Семёнович Бессмельцев bsshem@hotmail.com

Проведена оценка эффективности алектумумаба (Кэмпас) у 8 больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ). Использовали алектумумаб в монорежиме или в комбинации с флударабином (FluCam). Анализировали объективный ответ, общую выживаемость и частоту побочных эффектов. Среди 5 пациентов с впервые выявленным ХЛЛ ответ составил 100%. Алектумумаб был высокоэффективен и при лечении больных ХЛЛ с рецидивом или рефрактерностью к предшествующей терапии. Основными осложнениями являлись миелосупрессия и инфекции. В целом алектумумаб проявил высокую активность при лечении ХЛЛ.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, алектумумаб, полная ремиссия

ALEMTUZUMAB IN TREATMENT OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

S.S. Bessmeltsev¹, E.V. Litvinskaya¹, K.M. Abdulkadirov¹, E.V. Karyagina²

¹Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St.-Petersburg; ²Municipal hospital №15, St.-Petersburg

Efficiency of alemtuzumab (Campath) in 8 patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) was reported. Patients treated with alemtuzumab or alemtuzumab in combination with fludarabine (FluCam). Therapy response, overall survival and incidence of side effects were estimated. Among 5 patients with primary CLL, therapy response was 100%. Alemtuzumab was high effective in patients with relapsed and refractory CLL too. The main complications were myelosuppression and infections. High efficacy of alemtuzumab in CLL therapy was shown.

Key words: chronic lymphoid leukemia, alemtuzumab, complete remission

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) является наиболее распространенным видом лейкозов у взрослых. Ведущее место в лечении ХЛЛ в течение нескольких десятилетий принадлежало химиотерапии (ХТ) [1–3]. За последние годы в лечении ХЛЛ произошел значительный прогресс. Он связан с лучшим пониманием биологии этой болезни, детальным изучением ее иммунофенотипических и молекулярных признаков и появлением новых препаратов [4]. Внедрение в клиническую практику флударабина фосфата позволило реально улучшить непосредственные результаты лечения больных ХЛЛ [5, 6]. Однако надежды на возможность излечения ХЛЛ, порожденные высокой эффективностью флударабина, не оправдались. Современный этап лечения ХЛЛ характеризуется широким применением моноклональных антител (ритуксимаб, алектумумаб, люмиликсимаб и др.). Ритуксимаб обладает иммунологической активностью по отношению к CD20-антигену. Алектумумаб — человеческое моноклональное антитело, направленное против CD52-мембранного антигена лимфоцитов. Антиген CD52 экспрессирован на мембране большинства зрелых нормальных и опухолевых Т- и В-лимфоцитов, эозинофилов, моноцитов и макрофагов [7, 8]. Плотность молекул антигена CD52 на

лимфоцитах больных ХЛЛ очень высокая — 400—500 тыс. молекул на 1 клетку, что и предопределило эффективность алектумумаба при этом заболевании. В основе механизма действия препарата лежат непосредственная антителозависимая клеточная цитотоксичность, реализующаяся при взаимодействии с Fc-рецептором эффекторных клеток, а также лизис клеток с участием комплемента и индукция апоптоза.

Цель исследования — определение эффективности алектумумаба (Кэмпас) при лечении ХЛЛ, оценка его безопасности и анализ частоты и характера неблагоприятных побочных явлений.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 8 больных ХЛЛ в возрасте 42—71 года (в среднем 57 лет): 2 женщины и 6 мужчин. Больные лечились в гематологической клинике Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии и гематологическом отделении больницы №15. Два больных ХЛЛ на момент включения в исследование получили по три линии различных программ ХТ (СОР — циклофосфамид + винкристин + преднизолон; СНОР — циклофосфамид + доксорубин + винкристин + преднизолон; пульс-терапия дексаметазоном; СНОР-

Vp — CHOP + вепезид; R-CHOP — CHOP + ритуксимаб; FCR — флударабин + циклофосфан + ритуксимаб). У 1 пациента с ХЛЛ стадии С (по Binet) ни на одну используемую линию терапии ответа добиться не удалось. Наблюдалось развитие химиорезистентности. У второго больного ХЛЛ стадии В при проведении 3-й линии терапии по схеме FCR (флударабин, циклофосфан, ритуксимаб) достигнута полная клинико-гематологическая ремиссия, которая продолжалась 12 мес. В последующем развился рецидив заболевания. При поступлении у этих 2 больных в периферической крови выявлены лимфоцитоз (94 и 96%) при содержании лейкоцитов $61,3 \times 10^9/\text{л}$ и $201 \times 10^9/\text{л}$ и замещение костного мозга опухолевыми клетками (клеток лимфоидного ряда различной степени зрелости — 88,8 и 96%). Размеры периферических, внутрибрюшных и внутригрудных лимфатических узлов (ЛУ) < 5 (от 0,5 до 4) см.

Пять пациентов были с впервые установленным ХЛЛ стадии В (по Binet). Число лейкоцитов у них в среднем составило $33 \times 10^9/\text{л}$ (от $23 \times 10^9/\text{л}$ до $54 \times 10^9/\text{л}$), клеток лимфоидного ряда — 80% (от 75 до 87%), а в миелограмме — 67,7% (от 54 до 83,5%). Размеры периферических ЛУ (шейных, подчелюстных, аксиллярных, паховых) лишь у одного пациента были > 5 см; одновременно у него наблюдалась выраженная гепатоспленомегалия. У остальных пациентов размеры ЛУ колебались от 1,5 до 3 см, выявлялась умеренная спленомегалия, что подтверждалось результатами ультразвукового исследования (УЗИ) и данными компьютерной томо-

графии. Всем больным осуществлялась трепанобиопсия подвздошной кости и биопсия периферического ЛУ. Диагноз ХЛЛ основывался на морфологическом и иммунофенотипическом исследовании клеток крови, костного мозга и опухолевой ткани ЛУ. У всех больных перед началом назначения алемтузумаба проводилось цитогенетическое исследование клеток крови и костного мозга, а также FISH-исследование (FISH — флуоресцентная гибридизация *in situ*) клеток костного мозга с целью выявления хромосомных и молекулярно-генетических нарушений, негативно влияющих на прогноз заболевания. У всех пациентов, вошедших в исследование, наблюдались В-симптомы. Стадирование ХЛЛ производилось с использованием классификации Binet (1977).

Подробная характеристика больных ХЛЛ представлена в табл. 1. Пяти пациентам с ХЛЛ (у 2 — рецидив/рефрактерность, у 3 — впервые выявленный) алемтузумаб назначен в виде монотерапии. Длительность лечения колебалась от 8 до 11 и от 4 до 11 нед соответственно. Трем больным с впервые установленным диагнозом ХЛЛ назначены 28-дневные циклы FluCam (флударабин $30 \text{ мг}/\text{м}^2$ в течение 3 дней, Кэмпас 30 мг в день в те же дни); каждому пациенту проведено по 6 циклов.

У 1 из этих пациентов лечение было начато с монотерапии алемтузумабом. При поступлении у него обнаружено увеличение всех групп ЛУ от 5 до 9 см, печени (на 5—6 см) и селезенки (на 4—5 см). После 2 нед терапии в связи с отсутствием положительной динамики общего состояния, данных осмотра (сохранялись лимфаденопатия и гепатоспленомегалия), лабораторных показателей, а также вследствие выявления у него при цитогенетическом исследовании хромосомных нарушений — +12, add(18) (p11.3) больной был переведен на терапию FluCam.

Только 1 пациентке алемтузумаб (Кэмпас) вводился внутривенно (в/в) медленно в течение 2 ч и более, а остальным — подкожно. Для профилактики острых инфузионных реакций проводилось постепенное наращивание (эскалация) дозы: 1-й день — 3, 2-й день — 10, 3-й день — 30 мг и далее, в случае хорошей переносимости 30 мг 3 раза в неделю. У всех больных, вошедших в исследование, полная эскалация дозы была достигнута в течение 3—5 дней. Для предотвращения нежелательных реакций перед каждым введением алемтузумаба осуществлялась премедикация, которая заключалась в следующем. Больные за 30—60 мин до введения препарата принимали парацетамол в дозе 1 г и антигистаминные средства (димедрол/супрастин). Антигистаминные препараты назначались повторно через 4 ч после введения алемтузумаба. Кроме того, в период эскалации дозы и в течение 1 нед лечения вводились глюкокортикоиды

Таблица 1. Характеристика больных ХЛЛ

Показатель	Число больных (n=8)
Средний возраст, годы	57 (42—71)
Пол (мужской/женский)	6/2
ХЛЛ стадии В/ХЛЛ стадии С (Binet)	6/2
Число предшествующих линий терапии	0—3
COP, CHOP, пульс-терапия дексаметазоном, CHOP-Vp, R-CHOP, FCR	2
Длительность заболевания, мес	27,8 (9—96)
CD38+	5
CD38—	3
Цитогенетическое исследование: нормальный кариотип	5
del(13)(q13;q21)	1
del(1)(p32),t(11;16)(q14;q24)	1
+12, add(18) (p11.3)	1
FISH-исследование: делеция ATM-гена	1
ЛУ <5 см/ >5 см	7/1
Выраженная/умеренная спленомегалия	2/6

(чаще дексаметазон 4–8 мг в/в). Обязательной была терапия сопровождения — во время курса лечения и в течение 2 мес после его завершения пациенты принимали бисептол 2 раза в день 3 раза в неделю для профилактики пневмоцистной пневмонии и противовирусные средства (ацикловир 200 мг 4 раза, валацикловир 250 мг 2 раза в день) для предупреждения герпетической инфекции. Сопроводительная терапия включала также аллопуринол и гидратацию.

Оценка противоопухолевого ответа осуществлялась по критериям международной рабочей группы по ХЛЛ 1989 г. (табл. 2).

Непременным условием был подсчет количества лимфоцитов в периферической крови и костном мозге. При получении ПР содержание лимфоцитов в периферической крови составило $\leq 4,0 \times 10^9/\text{л}$, нейтрофилов $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов $>100,0 \times 10^9/\text{л}$, уровень гемоглобина $>110 \text{ г/л}$, а относительное содержание лимфоцитов в костном мозге $<30\%$. При достижении ПР с целью верификации минимальной остаточной болезни дополнительно выполнялось исследование клеток костного мозга больных на проточном цитометре PARTEC PAS с использованием моноклональных антител Becton Dickinson. Иммунофенотипическую ремиссию устанавливали при $\text{CD}5 + \text{CD}19 <1\%$. Токсичность алемтузумаба оценивалась по критериям ВОЗ.

Результаты и обсуждение

Согласно результатам исследования, объективный ответ среди пациентов с впервые выявленным ХЛЛ, принимавших алемтузумаб, был получен в 100% случаев. При этом у 3 пациентов зарегистрирована ПР на монотерапию алемтузумабом, а у 2 — на FluCam (табл. 3). Более того, у 4 из этих больных установлена иммунофенотипическая ремиссия (у 3 в ответ на алемтузумаб и у 1 — на FluCam). Еще у 1 пациента после терапии по схеме FluCam достигнута ЧР.

Следует отметить, что на фоне применения алемтузумаба наблюдалось быстрое снижение чис-

Таблица 2. Критерии ответа ХЛЛ на терапию

Признак	Ответ
Признаков болезни нет	ПР
Смена стадии С на В, или С на А, или В на А	ЧР
Нет смены стадии болезни	Стабилизация
Смена стадии А на В, или А на С, или В на С	Прогрессия болезни

Примечание. ПР — полная ремиссия, ЧР — частичная ремиссия.

ла лейкоцитов и лимфоцитов, а содержание гранулоцитов, наоборот, увеличивалось. Так, если исходно абсолютное содержание лимфоцитов у 3 больных перед началом применения алемтузумаба в среднем составило $31,0 \times 10^9/\text{л}$, а гранулоцитов $5,4 \times 10^9/\text{л}$ при уровне лейкоцитов $39,4 \times 10^9/\text{л}$, то уже на 6-й день терапии — $0,9 \times 10^9/\text{л}$, $4,75 \times 10^9/\text{л}$ и $5,6 \times 10^9/\text{л}$ соответственно. Нормализация этих показателей произошла через 1 мес после завершения терапии (рис. 1).

Иная динамика наблюдалась при использовании комбинированной терапии FluCam. Из рис. 2 видно, что после завершения цикла FluCam содержание лимфоцитов резко снижалось, но к очередному циклу увеличивалось. В то же время динамика уровня нейтрофилов была обратной. Однако эффект алемтузумаба постепенно нарастал, и к 3-му циклу наблюдалась полная санация периферической крови, т.е. опухолевые лимфоциты исчезали, а уровень клеток нейтрофильного ряда соответствовал нормальным значениям.

Обращал на себя внимание тот факт, что у всех пациентов, достигших ответа, исходно выявлена высокая экспрессия CD38, что, как известно, является фактором неблагоприятного прогноза [9].

Длительность ПР на момент анализа результатов лечения, как видно из табл. 3, при использовании алемтузумаба колеблется от 14 до 28 мес,

Таблица 3. Эффективность алемтузумаба при терапии ХЛЛ

Схема	Больные, инициалы	первичные	Пациенты предлеченные	ответ	ПР/ЧР	Длительность ответа, мес
Кэмпас:						
30 мг 3 раза в неделю 6 нед	АВВ	1	0	1	1/0	28
30 мг 3 раза в неделю 11 нед	ГКВ	1	0	1	1/0	16
30 мг 3 раза в неделю 4 нед	ТНВ	1	0	1	1/0	14
FluCam:						
6 циклов	ПВН	1	0	1	0/1	3
6 циклов	ТВС	1	0	1	1/0	12
6 циклов	ФВП	1	0	1	1/0	6
Кэмпас:						
30 мг 3 раза в неделю 11 нед	ГИЕ	0	1	1	0/1	4
30 мг 3 раза в неделю 8 нед	БВА	0	1	1	0/1	3

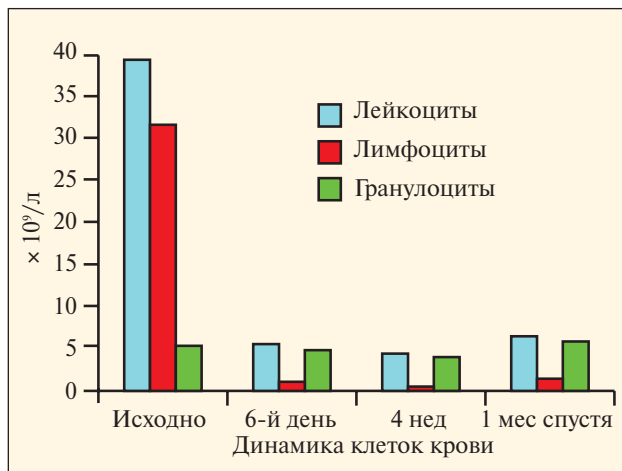


Рис. 1. Динамика содержания лейкоцитов, лимфоцитов и гранулоцитов у больных с впервые выявленным ХЛЛ на фоне терапии алектузумабом

FluCam — 6–12 мес, а продолжительность ЧР составила 3 мес. Период наблюдения за больными к моменту анализа результатов исследования колеблется от 9 до 29 мес. Медиана общей выживаемости пациентов с впервые выявленным ХЛЛ не достигнута (рис. 3).

Один из больных, ответивший на FluCam полной ремиссией, как уже указывалось, начал лечение алектузумабом. Перед началом терапии у него было обнаружено увеличение периферических ЛУ до 5 см. При УЗИ выявлены абдоминальные и забрюшинные ЛУ в виде пакетов размером до 9 см. Одновременно зафиксировано увеличение размеров печени (на 5–6 см) и селезенки (на 4–5 см). Больному назначен алектузумаб по 30 мг 3 раза в неделю. Однако после 7 инъекций препарата никакой положительной динамики обнаружено не было. Сохранились лимфаденопатия и гепатоспле-

номегалия, а по данным лабораторного обследования выявлены лейкоцитоз (исходно $23 \times 10^9/\text{л}$, после 7 инъекций — $23 \times 10^9/\text{л}$) и лимфоцитоз (79 и 63% соответственно). При цитогенетическом исследовании клеток костного мозга найдены хромосомные нарушения: +12, add(18)(p11.3). Больной был переведен на схему FluCam. Уже после 2-го цикла лечения число лейкоцитов понизилось до $3,9 \times 10^9/\text{л}$, содержание лимфоцитов составило 8%, а нейтрофилов — 80%. После 3 циклов отмечено 50% сокращение размеров ЛУ, а край селезенки пальпировался на 1 см ниже реберной дуги. После 6-го цикла установлена ПР.

Ранее мы уже сообщали о пациентке АВВ (см. табл. 3) с впервые выявленным ХЛЛ стадии В, которая получала алектузумаб в течение 6 нед в качестве терапии 1-й линии [10]. Эта больная представляет интерес, так как у нее до сих пор сохраняется ПР, и она уже в течение длительного срока остается без лечения. Приводим краткие данные о ней.

Пациентка АВВ поступила в гематологическую клинику с жалобами на общую слабость, потливость, похудание в течение последних 6 мес. В периферической крови выявлены лейкоцитоз, абсолютный лимфоцитоз, анемия. Обнаружено увеличение размеров всех групп периферических ЛУ до 3 см и селезенки (на 5 см). Начат курс лечения алектузумабом. Уже на 8-й день отмечено сокращение размеров селезенки, а через 2 нед край ее пальпировался в глубине подреберья только в положении на правом боку. Через 3 нед исчезли паховые ЛУ, а через 4 — сократились остальные. Цикл лечения алектузумабом составил 6 нед. Результаты показателей периферической крови больной в динамике представлены в табл. 4. Исходно иммунофенотип опухолевых лимфоцитов костного мозга и периферической крови пациентки АВВ

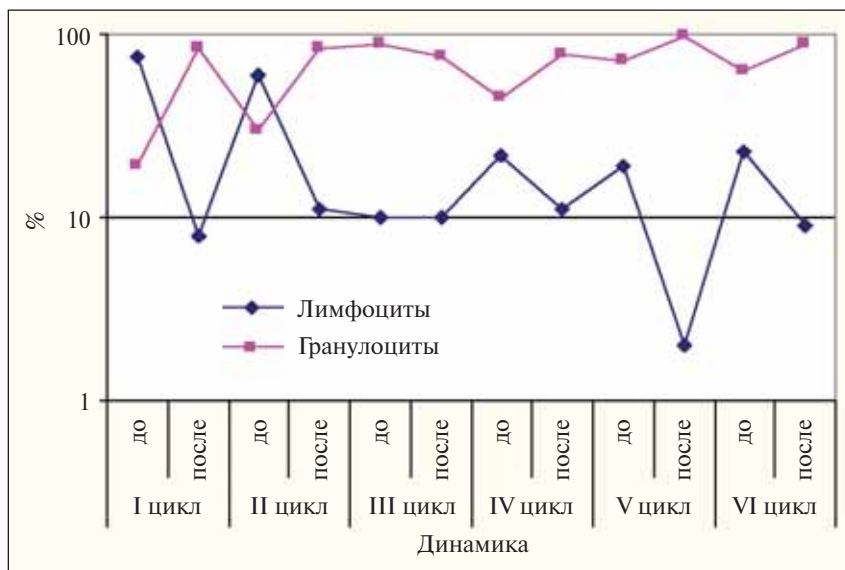


Рис. 2. Динамика содержания лимфоцитов и гранулоцитов периферической крови у больных ХЛЛ на фоне лечения FluCam

характеризовался высокой экспрессией пан-В-клеточных маркеров, а также CD5 и CD23. Однако через 5 нед лечения, по данным проточной цитометрии, В-клеточное звено ($CD19^+$) в составе лимфоидной популяции резко понизилось (0,7%). Т-клеточное звено превалировало и составило 84,8% при сохранной дифференцировке на Т-хелперах и цитотоксических Т-лимфоцитах ($CD4/CD8 = 2,8$) с выраженным преобладанием Т-хелперов. Популяция натуральных киллеров представлена в нормальном количестве. Эти результаты указывали на отсутствие минимальной остаточной болезни.

К настоящему времени продолжительность ПР этой пациентки составила 28 мес. Состояние больной вполне удовлетворительное, жалоб она не предъявляет. Размеры ЛУ и селезенки не увеличены. Наблюдение за ней продолжается.

Рассмотрим 2 больных ХЛЛ, у которых алемтузумаб был применен в качестве 4-й линии терапии (см. табл. 3). У 1 из этих больных алемтузумаб использовался в течение 11 нед, у другого — 8. У обоих пациентов перед началом применения алемтузумаба были обнаружены факторы неблагоприятного прогноза.

Больной БВА поступил с рецидивом ХЛЛ стадии С. ПР, полученная при проведении лечения по схеме FCR (3-я линия), продолжалась 12 мес. При очередном обследовании выявлены умеренная лимфаденопатия (размеры периферических ЛУ до 3 см) и спленомегалия (+ 1 см). Однако в периферической крови обнаружены выраженный лейкоцитоз ($201 \times 10^9/\text{л}$), лимфоцитоз (96%) и глубокая тромбоцитопения ($6 \times 10^9/\text{л}$) с геморрагическим синдромом. В костном мозге наблюдалось увеличение числа лимфоцитов до 88,8% с наличием молодых форм (лимфобласты + пролимфоциты — 10%), встречались пролифераты. При цитогенетическом исследовании клеток костного мозга выявлен патологический кариотип: $\text{del}(1)(\text{p}32), \text{t}(11;16)(\text{q}14;\text{q}24)$. При проведении FISH-исследования с зондом LST ATM (11q13) в 196 (98%) ядрах обнаружена делеция ATM-гена в 4 (2%) ядрах. По данным проточной цитометрии обращал на себя внимание высокий уровень экспрессии FMC7 и $\text{CD}38^+/\text{CD}19^+$ в костном мозге, что рассматривается в качестве

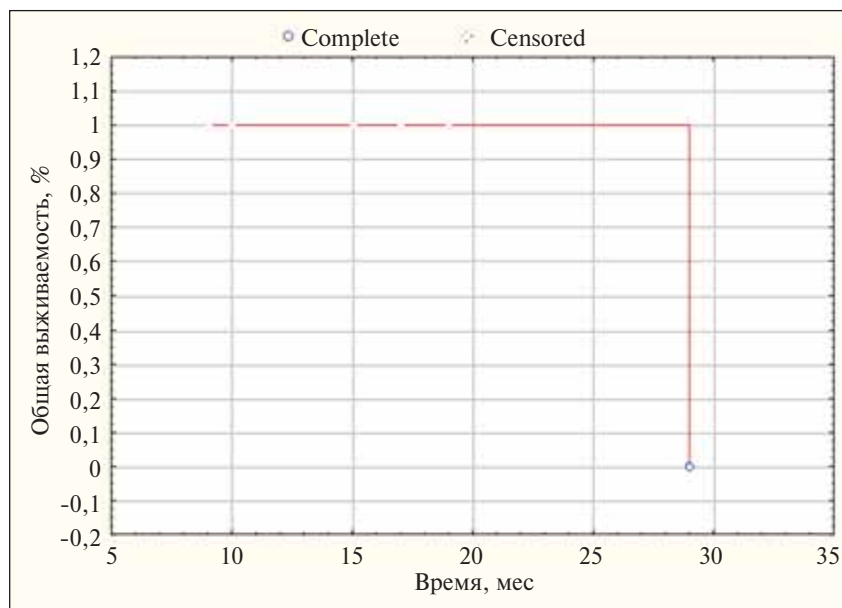


Рис. 3. Общая выживаемость больных с впервые выявленным ХЛЛ, получавших лечение алемтузумабом

неблагоприятного фактора прогноза. После купирования геморрагического синдрома и увеличения содержания тромбоцитов до $24 \times 10^9/\text{л}$ начата терапия алемтузумабом. Три недели спустя отмечено улучшение общего состояния и показателей периферической крови (лейкоциты $2,2 \times 10^9/\text{л}$, лимфоциты 28%, тромбоциты $140 \times 10^9/\text{л}$). Через 6 нед зарегистрирована полная санация крови и костного мозга, а через 8 нед — ЧР, длительность которой на момент анализа результатов лечения составила 3 мес.

У второго больного ХЛЛ, кроме прогрессии болезни до стадии С, выявить каких-либо дополнительных факторов неблагоприятного прогноза не удалось. Болен в течение 5 лет. Лечился, получал последовательно пульс-терапию дексаметазоном, СОР, СНОР с кратковременным клиническим ответом. Постепенно нарастала тромбоцитопения. В связи с неэффективностью предшест-

Таблица 4. Показатели периферической крови первичной больной ХЛЛ на фоне лечения алемтузумабом

Показатель	Исходные данные	Период наблюдения			
		8-й день	через 4 нед	6-я неделя/8 нед	8/24 мес
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	38	10,8	2,9	3,9/3,1	10,4/6,1
Гемоглобин, г/л	91	80	90	98/120	134/122
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	251	136	342	431/244	236/203
Лимфобласты, %	2	0	0	0/0	0/0
Пролимфоциты, %	6,5	0	0	0/0	0/0
Лимфоциты, %	78,5	1	7	3/32	19/41
Всего клеток лимфоидного ряда, %	87	1	7	3/32	19/31

вующей терапии поступил в гематологическую клинику Российского НИИ гематологии и трансфузиологии. При осмотре обнаружены умеренная лимфаденопатия (размеры периферических ЛУ от 1 до 5 см) и выраженная спленомегалия (+8 см). После 4 нед применения алемтузумаба сократились размеры ЛУ и селезенки, а после 11 нед удалось полностью нормализовать показатели периферической крови и костного мозга. Была верифицирована ЧР. Однако уже через 4 мес у пациента появились слабость, потливость. Зафиксирован рост размеров шейных и подчелюстных ЛУ. При обследовании выявлены лейкоцитоз, лимфоцитоз и снижение уровня тромбоцитов до $11 \times 10^9/\text{л}$.

Осложнения, которые возникают в ходе лечения моноклональными антителами, существенно отличаются от осложнений ХТ. Первое введение алемтузумаба может сопровождаться так называемой реакцией первой дозы, которая проявляется гриппоподобным синдромом. Однако возникающие реакции на введение чаще соответствуют I—II степени токсичности [11]. Озноб и лихорадка III или IV степени имели место у 14 и 20% пациентов соответственно [12]. Указанный симптомокомплекс возникает при в/в инфузии алемтузумаба и практически не наблюдается при его подкожном введении [13]. Среди наших 8 больных только 1 пациентка получала алемтузумаб в/в, а остальным препарат был назначен в виде подкожных инъекций. Ни в одном случае мы не наблюдали инфузионный симптомокомплекс. Все пациенты, как и рекомендуется, получали в качестве профилактики парацетамол и антигистаминные препараты [14]. Только у 2 больных на первые введения алемтузумаба возникали лихорадка и озноб, купируемый в течение суток, что не послужило причиной его отмены. Для профилактики реакций на первые введения алемтузумаба мы перед каждой его инъекцией в период эскалации дозы и в течение 1 нед лечения назначали глюкокортикоиды. У 3 из 7 больных, которым алемтузумаб вводился подкожно, на месте инъекции наблюдалось появление гиперемизованного зудящего участка кожи либо с четко очерченными контурами (в 2 случаях), либо без четких границ (в 1 наблюдении). У 1 больного этот участок был болезненным при пальпации. Кроме того, у 1 пациента на несколько первых введений препарата появлялась резко выраженная гиперемия кожных покровов шеи, плечевого пояса и передней части грудной клетки. Тем не менее больной чувствовал себя удовлетворительно, гиперемия кожи исчезала в интервале между инъекциями алемтузумаба.

Гематологическая токсичность алемтузумаба проявляется развитием цитопений. По данным A. Osterborg и соавт. [12], нейтропения наблюда-

ется у 70% больных, тромбоцитопения и анемия — приблизительно у 50%, чаще I—II степени токсичности, а III—IV степени возникает в 20—30% случаев. Гематологическую токсичность мы наблюдали среди больных, получавших алемтузумаб в монорежиме. При этом тромбоцитопения выявлена у 1 из 5 больных. Правда, у этого пациента уже исходно наблюдалась выраженная тромбоцитопения ($16 \times 10^9/\text{л}$). На 4-й неделе применения алемтузумаба содержание тромбоцитов снизилось до $4 \times 10^9/\text{л}$, возник геморрагический синдром, что потребовало использования тромбоконцентратов и временной отмены алемтузумаба. В последующем после повышения уровня тромбоцитов и купирования геморрагического синдрома лечение было возобновлено. Нейтропения зарегистрирована у 4 больных, из них II степени — у 1 пациента, III — у 1 и IV — у 2. Пик снижения числа нейтрофилов пришелся на 4—6-ю неделю. В связи с развитием нейтропении IV степени ($< 500/\text{мкл}$) был назначен гранулоцитарный колониестимулирующий фактор — Г-КСФ (нейпоген, граноцит). Восстановление уровня нейтрофилов у больной с впервые выявленным ХЛЛ, получавшей алемтузумаб, произошло в течение 1 нед после применения Г-КСФ, а у пациента с рефрактерным ХЛЛ — через 2 нед. Развитие анемии отмечено у 3 человек, у одного из них II степени, а у 2 — II степени, им был назначен рекомбинантный эритропоэтин.

Серьезное осложнение при терапии алемтузумабом — присоединение инфекций, которые нередко являются тяжелыми и даже угрожающими жизни. Описаны септицемия, пневмоцистная пневмония, аспергиллез или кандидоз, *herpes zoster*, цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ). Так, K.R. Rai и соавт. [11] наблюдали развитие пневмоцистной пневмонии у 2 из 24 больных ХЛЛ, получающих алемтузумаб. T. Elter и соавт. [15], применив комбинацию FluCam у 36 больных с рецидивом или рефрактерностью ХЛЛ, зарегистрировали 2 случая реактивации ЦМВИ. Еще у 2 пациентов с прогрессированием заболевания зафиксировано развитие грибковой пневмонии, и 1 больной погиб от грамотрицательного (*Escherichia coli*) сепсиса.

В нашем исследовании, как и рекомендует-ся, все больные во время курса лечения алемтузумабом и в течение 2 мес после его завершения получали бисептол и противовирусные средства. Присоединение инфекционных осложнений в большей степени, чем установлено, обусловлено иммуносупрессией, вызываемой моноклональными антителами. Большинство побочных эффектов алемтузумаба связано с деплецией Т-клеток, что существенно увеличивает риск развития инфекций, в частности способствует реактивации ЦМВИ. Даже 1 введение алемтузумаба

может снизить число CD4- и CD8-позитивных клеток на несколько месяцев [12, 16]. По результатам нашего исследования лимфопения различной степени выраженности наблюдалась у всех пациентов с ХЛЛ, получивших алемтузумаб. Как видно из рис. 2 и 3, содержание лимфоцитов у больных снижалось на 1-й неделе лечения, а на 2—3-й неделе у некоторых из них — вплоть до нулевых значений. При использовании FluCam падение уровня лимфоцитов отмечалось к III циклу, а особенно отчетливое — к V циклу. Развитие лимфопении IV степени нередко сопровождалось возникновением инфекционных осложнений. У 4 из 6 пациентов, получавших алемтузумаб в качестве 1-й линии терапии, возникли инфекционные осложнения (в 1 случае — острая респираторная аденовирусная инфекция, в 2 — острый трахеобронхит, в 1 — острая пневмония). Тяжелую пневмонию мы наблюдали у больного ТНВ (табл. 3). После 4-недельного цикла терапии алемтузумабом состояние его внезапно ухудшилось. Повысилась температура до фебрильных цифр, появились одышка, кашель с мокротой. Рентгенологически установлена правосторонняя сегментарная пневмония, из мокроты выделен *Staph. epidermidis*, а 2-кратное исследование крови (лейкоцитов) на ДНК методом полимеразной цепной реакции позволило выявить ЦМВИ. Неделю спустя возникли резкое ухудшение состояния, чувство нехватки воздуха, выраженный акроцианоз, тахикардия, фибрилляция предсердий, зарегистрированная на электрокардиограмме, и нарастающая легочно-сердечная недостаточность. Пациент был переведен в кардиологическое отделение. После 2-месячного лечения состояние больного улучшилось, в настоящее время он чувствует себя вполне удовлетворительно. Достигнутая на фоне терапии алемтузумаба полная клинико-гематологическая и иммунофенотипическая ремиссия ХЛЛ сохраняется. Длительность ее на момент анализа результатов лечения составляет 14 мес. Еще у 1 больной, достигшей полной клинико-гематологической и иммунофенотипической ремиссии, после выписки из гематологической клиники, на 7-й неделе, внезапно повысилась температура тела и с подозрением на нижнедолевую пневмонию она была госпитализирована. Рентгенологических данных, подтверждающих наличие пневмонии, не получено, состояние расценено как острый бронхит, а назначение антибактериальной терапии таваником в течение 1 нед привело к выздоровлению больной.

Следует отметить, что некоторые авторы связывают частые инфекции у больных, получающих алемтузумаб, с ранее проводимой терапией флударабином [10, 16]. М. Montillo и соавт. [17] рекомендуют использовать интервал, свободный от лече-

ния флударабином, равный 8 нед. Кроме того, у больных с рецидивом/рефрактерностью, ранее получивших ≥ 3 линий различных программ ХТ, чаще возникают инфекционные осложнения на фоне терапии алемтузумабом [10]. В настоящее исследование вошли 2 пациента, получившие ранее по 3 линии ХТ, в том числе, 1 больной, лечившийся по программе FCR (флударабинсодержащий режим). Интервал, свободный от лечения, составил у него 12 мес. На фоне лечения алемтузумабом у этих больных развились острая респираторная аденовирусная инфекция и острый бронхит, которые были быстро купированы и мало повлияли на основное лечение.

Таким образом, можно констатировать, что алемтузумаб (Кэмпас) является эффективным лечебным препаратом, играющим важную роль в терапии ХЛЛ. Очевидно, что современная тактика ведения больных ХЛЛ заключается в проведении терапии до получения максимального ответа, вплоть до эрадикации минимальной остаточной болезни. Это становится возможным благодаря применению алемтузумаба, который используется и в 1-й линии терапии, и с целью преодоления химиорезистентности или при развитии рецидива заболевания. Принципиальным является тот факт, что алемтузумаб более эффективно saniрует периферическую кровь и костный мозг, чем другие области поражения. Лимфаденопатия частично резистентна к алемтузумабу, а выявление выраженного увеличения ЛУ сопряжено с худшими результатами лечения. В таких ситуациях следует использовать комбинированную терапию, в частности схему FluCam. При назначении алемтузумаба необходимо правильно оценить состояние больного, количество предшествующих линий ХТ, продолжительность периода после последнего цикла специальной терапии, особенно флударабинсодержащих курсов. Чем меньше больной получал линий терапии, тем больше у него шансов на успешное лечение. Алемтузумаб эффективен при выявлении факторов неблагоприятного прогноза, в частности в нашем исследовании у больных с патологическим кариотипом [+12, add(18) (p11.3), del(1)(p32), t(11;16)(q14;q24), делецией *ATM*-гена], высоким уровнем экспрессии FMC7 и CD38⁺ была получена ремиссия. Следует отметить, что по сравнению с традиционной ХТ алемтузумаб действует более специфично и направленно. Алемтузумаб характеризуется совершенно иным профилем токсичности, однако при соответствующей профилактике его применение становится относительно безопасным. Важно помнить о возможных инфекциях, в первую очередь цитомегаловирусных. Необходимо принять все меры для их выявления и своевременного назначения соответствующей терапии.

Л и т е р а т у р а

1. Волкова М.А. Полвека в терапии хронического лимфолейкоза. Гематол трансфузиол 1998;(5):6—11.
2. Montserrat E. CLL therapy: progress at last! Blood 2005;105(1):2—3.
3. Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis of the randomized trials. CLL Trialists' Collaborative Group. J Natl Cancer Inst 1999;91:861—8.
4. Бессмельцев С.С. Современные подходы к управлению хроническим лимфолейкозом. Вестн гематол 2007;3(1):50—64.
5. Rai K.R., Peterson B.L., Appelbaum F. et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2000;343:1750—7.
6. Бессмельцев С.С. Флударабин в терапии больных хроническим лимфолейкозом. Медицина 2006;(4):92—101.
7. Hale G., Swirsky D.V., Hayhoe F.G., Waldmann H. Effects of monoclonal anti-lymphocyte antibodies in vivo in monkeys and humans. Mol Biol Med 1983;1: 321—34.
8. Cavalli-Björkman N., Osby E., Lundin J. et al. Fatal adenovirus infection during alemtuzumab (anti-CD52 monoclonal antibody) treatment of a patient with fludarabine-refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia. Med Oncol 2002;19:277—80.
9. Бялик Т.Е., Гривцова Л.Ю., Карсладзе А.И. и др. Некоторые прогностические факторы при современной терапии хронического лимфолейкоза. Совр онкол 2006;(4):16—9.
10. Бессмельцев С.С., Алексеева Ю.А., Морозова Е.В. и др. Первые результаты применения алектумзама (кэмпаса) в лечении В-клеточного хронического лимфолейкоза и Т-клеточных неходжкинских лимфом. Вестн гематол 2007;(4):5—14.
11. Rai K.R., Freter C.E., Mercier R.J. et al. Alemtuzumab in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients who also had received fludarabine. J Clin Oncol 2002;20:3891—7.
12. Osterborg A., Karlsson C., Lundin J. et al. Strategies in the management of alemtuzumab-related side effects. Semin Oncol 2006;33(Suppl 5):29—35.
13. Lundin J., Kimby E., Björkholm M. et al. Phase II trial of subcutaneous anti-CD52 monoclonal antibody alemtuzumab (Campath-1H) as first-line treatment for patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). Blood 2002;100: 768—73.
14. Бессмельцев С.С., Волкова М.А., Голубева М.Е. и др. Рекомендации по обследованию и лечению больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом. Совр Онкол 2007; экстравыпуск.
15. Elter T., Borchmann P., Schulz H. et al. Fludarabine in combination with alemtuzumab is effective and feasible in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: results of a phase II trial. J Clin Oncol 2005;23:7024—31.
16. Rieger K., Von Grünhagen U., Fietz T. et al. Efficacy and tolerability of alemtuzumab (CAMPATH-1H) in the salvage treatment of B-cell chronic lymphocytic leukemia — change of regimen needed? Leuk Lymphoma 2004;45:345—9.
17. Montillo M., Cafro A.M., Tedeschi A. et al. Safety and efficacy of subcutaneous Campath-1H for treating residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia responding to fludarabine. Haematologica 2002;87(7):695—700.

ЭНДОСКОПИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ТОНКОЙ КИШКИ У БОЛЬНЫХ ЛИМФОМОЙ ХОДЖКИНА В ПРОЦЕССЕ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Д.А. Хомов, Ю.В. Синева, В.М. Сотников

ФГУ «Российский научный центр рентгенорадиологии Росмедтехнологий», Москва

Контакты: Дмитрий Александрович Хомов ketgut555@list.ru

В статье описывается первый опыт применения капсульной эндоскопии для диагностики поражений тонкой кишки, связанных с проведением химиолучевой терапии, у больных лимфомой Ходжкина (ЛХ), а также обсуждается соотношение выявленных изменений с современными представлениями о реакции нормальных тканей на ионизирующее излучение и препараты, используемые при химиотерапии. Установлено, что более чем у половины больных ЛХ (58%) ятрогенные поражения тонкой кишки протекают бессимптомно, в том числе такие потенциально опасные, как поздние стенозы кишки.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, химиолучевое лечение, лучевые повреждения кишечника, капсульная эндоскопия

ENDOSCOPIC EVALUATION OF SMALL BOWEL LESIONS IN HODGKIN'S LYMPHOMA PATIENTS DURING CHEMORADIATION THERAPY

D.A. Khomov, Yu.V. Sineva, V.M. Sotnikov

Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow

Our article shows first experience of using capsule endoscopy for examination of small bowel's lesions in case of radiation therapy and chemotherapy in patients with Hodgkin lymphoma. We try to compare these changes with modern theories of normal tissues response to radiation therapy and chemotherapy. The investigation revealed that more than a half of the patients (58%) had not any clinical symptoms of small bowel iatrogenic lesions, including potentially dangerous late strictures.

Key words: Hodgkin lymphoma, normal tissues response to radiation therapy and chemotherapy, capsule endoscopy

Введение

Благодаря внедрению в клиническую практику современных программ химиолучевого лечения лимфомы Ходжкина (ЛХ) вероятность достижения длительных полных ремиссий составляет около 90% [1]. Однако осложнения, возникающие в результате лечения, не только влияют на качество жизни пациентов, но и негативно сказываются на прогнозе заболевания.

Органы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), являясь одними из наиболее радио- и химиочувствительных, страдают при применении любой схемы лечения и если оценка состояния их в процессе терапии и проводится, то только при наличии жалоб пациента и ограничивается эзофагогастродуоденоскопией и колоноскопией.

До настоящего времени тонкая кишка была малодоступным для визуализации органом, в особенности тощей и подвздошной ее отделы. В значительной степени это обусловлено большой протяженностью кишки, наличием многочисленных изгибов и отсутствием безопасной технологии эндоскопического исследования тощей и подвздошной кишки [2].

Состояние тонкой кишки у больных ЛХ в процессе и в отдаленные сроки после лучевого и химиолучевого лечения систематически не изучалось, что, безусловно, является существенным пробелом в наших знаниях о последствиях интенсивного лечения не только злокачественных лимфом, но и других онкологических заболеваний. Даже в наиболее часто используемой классификации поздних лучевых повреждений RTOG/EORTC степень тяжести лучевых повреждений кишечника оценивается только по клинической симптоматике без учета реально существующих анатомических изменений.

Известно, что с побочным действием химиотерапевтических препаратов на гемопоэз конкурирует по частоте диспепсический синдром, который включает в себя в различных комбинациях тошноту, рвоту, анорексию, стоматит, реже диарею, симптом «раздраженного желудка» [3].

Причиной поражения слизистых оболочек ЖКТ от мукозита до язвенных изменений является прямое цитотоксическое действие химиотерапевтических препаратов на быстро пролиферирующий эпителий. Язвенные поражения кишечника — самое тяжелое осложнение из группы диспепсических расстройств, чреватое кровотечениями и перфорациями [3].

Цель исследования — изучение состояния тонкой кишки в процессе химиолучевого лечения.

Материалы и методы

Капсульная эндоскопия была выполнена 26 больным ЛХ, из них 22 — во время лечения и 4 — при последующем наблюдении. Возраст пациентов варьировал от 16 до 64 лет. Наибольшее число больных находилось в возрасте 20—29 лет. Распределение пациентов по возрасту представлено в табл. 1.

Таблица 1. *Распределение обследованных пациентов по возрасту*

Возраст, годы	Число больных	
	абс.	%
16—19	2	7,7
20—29	10	38,5
30—39	4	15,4
40—49	4	15,4
50—59	4	15,4
≥60	2	7,7
Всего ...	26	100

Всем больным на I этапе лечения проводилась полихимиотерапия по стандартным схемам (ABVD, BEACOPP). На II этапе лечения выполнялось облучение зон исходного поражения. У 4 больных облучались парааортальная и/или подвздошные области в суммарной очаговой дозе (СОД) 30—44 Гр, при этом часть тонкой кишки неизбежно попадала в облучаемую область. Распределение пациентов в зависимости от проводимой терапии представлено в табл. 2.

Подготовка к исследованию проводилась по стандарту, рекомендованному фирмой-производителем, и заключалась в следующем:

- После 10 ч вечера накануне проведения капсульной эндоскопии воздержаться от приема пищи и жидкости, за исключением приема необходимых лекарств, запиваемых небольшим количеством воды.
- Не принимать никакие лекарства в течение 2 ч перед началом капсульной эндоскопии.
- Воздержание от курения в течение 24 ч перед прохождением процедуры.
- Пациентам мужского пола необходимо было побрить в день проведения обследования живот в пределах 15 см выше и ниже пупка.

Для изучения состояния слизистой оболочки тонкой кишки использовалась система «видеокапсульная эндоскопия» фирмы «Given Imaging» M2A+. Видеокомплекс представляет собой цифро-

Таблица 2. *Распределение обследованных пациентов в зависимости от программы лечения*

Программа лечения	Число больных	
	абс.	%
Химиотерапия	4	15,4
Химиотерапия+облучение выше диафрагмы	18	69,2
Химиотерапия+облучение выше и ниже диафрагмы	4	15,4
Итого ...	26	100

вую камеру, светодиоды, источник питания и радиопередатчик, заключенные в капсулу размерами 11 × 26 мм, и записывающее устройство, располагающееся в специальном поясе, который пациент носит в течение всего периода исследования.

Перистальтическими волнами капсула продвигается по кишечнику пациента, освещая пространство перед собой при помощи светодиодов. При этом камера снимает изображение со скоростью 2 кадра в секунду, всего за исследование около 50 000 кадров. Снимки передаются на записывающее устройство, располагающееся на поясе у пациента. Качество изображения составляет 640 × 480 точек на дюйм. Утром в день исследования на пациента прикрепляются сенсорные датчики по определенной схеме, данные о пациенте вводятся в записывающее устройство посредством рабочей станции RAPID. Затем пациент проглатывает капсулу, на него надевается пояс с записывающим устройством, и он может вести обычный образ жизни на протяжении всего периода исследования с некоторыми ограничениями: избегать нахождения вблизи высокочастотных электрических и электромагнитных приборов (системы спутниковой связи, магнитно-резонансные томографы и т.д.), не присаживаться на корточки (опасность повреждения сенсорных датчиков).

Результаты

При расшифровке полученного видеоряда оценивалось состояние слизистой оболочки, просвета, скорость перистальтики. Поражения ЖКТ были выявлены у всех 26 больных. Практически важным представляется тот факт, что в большинстве случаев ($n=15$; 57,7%) жалоб диспепсического характера пациенты не предъявляли, однако у всех определялись выраженные воспалительные изменения тонкой кишки. Чаще всего у этих больных имели место эрозии с незначительным капиллярным кровотечением. Однако у 2 пациентов, обследованных через 3 и 10 лет после завершения лечения, включавшего облучение парааортальных лимфатических узлов в СОД 40–44 Гр, помимо перечисленных измене-

ний, были обнаружены бессимптомные стриктуры тощей и подвздошной кишки — 3,9% случаев (рис. 1, 2). У одного из этих больных в области стриктур определялась резко выраженная лимфангиоэктазия (рис. 3). Все пациенты предупреждены и находятся под пристальным наблюдением, хирургической коррекции стриктур в данный момент не планируется.

Эрозии двенадцатиперстной кишки выявлены у 12 (46,2%) больных, из них в 10 (38,5%) случаях зафиксировано кровотечение из эрозий, степень которого варьировала от незначительного до умеренного капиллярного. Частота выявления эрозий в тощей и подвздошной кишке оказалась практически на одном уровне: 14 и 16 случаев (53,9 и 61,5% соответственно), при этом в подавляющем числе наблюдений у тощей кишки была поражена проксимальная треть, а у подвздошной — дистальная, причем капиллярное кровотечение чаще всего определялось из эрозий тощей кишки — 12 из 14 наблюдений (46,2 и 53,9%).

У всех больных при проведении капсульной эндоскопии было также выявлено поражение ворсин тонкой кишки, что первоначально выражалось отеком ворсин, а в сроки 4–6 мес и более от начала лечения — истончением и уменьшением длины ворсин. Визуально ворсины выглядели непрозрачными, белесоватого цвета. При гистологическом исследовании биопсийного материала из этих участков кишки (эндоскопическая биопсия) выявлен фиброз стромы ворсин. Подобные изменения ворсин чаще всего наблюдались в двенадцатиперстной и тощей кишке (38,5% случаев). Отек ворсин больше всего был выражен в двенадцатиперстной кишке (76,9% случаев). В подвздошной кишке эти изменения были относительно редким явлением (табл. 3–6).

Из новообразований тонкой кишки в 5 (19,2%) наблюдениях были обнаружены полипы, локализовавшиеся у 2 больных в подвздошной кишке и у 3 — в тощей.

Лимфофолликулярная гиперплазия была выявлена только в подвздошной кишке, в основном в дистальной ее трети (рис. 4).



Рис. 1. Стриктура тощей кишки у пациента с диагнозом ЛХ (указана стрелкой), СОД 44 Гр на парааортальные лимфатические узлы



Рис. 2. Тот же пациент. Стриктура подвздошной кишки (указана стрелкой)



Рис. 3. Выраженная лимфангиэктазия в области стриктуры у того же пациента (указана стрелками)

Изменения сократительной способности тонкой кишки во время проведения химиолучевого лечения были выражены незначительно как по клинической симптоматике и данным объективного обследования, так и по частоте встречаемости (см. табл. 3—6). Изменения заключались в снижении перистальтической активности кишки. Вследствие атонии тонкой кишки капсула не достигла толстой кишки за время исследования в 4 случаях.

Язвенные поражения тонкой кишки в процессе химиолучевой терапии оказались не столь частым явлением, как мы предполагали. Данный тип поражений выявлен всего в 6 случаях: 4 в тощей кишке и 2 в подвздошной (15,4 и 7,7% соответственно).

Изменения в луковице двенадцатиперстной кишки были диагностированы редко, что связано с невозможностью контроля продвижения капсулы, которая в подавляющем большинстве случаев очень быстро проходила через данный участок двенадцатиперстной кишки, и отснятый материал не являлся информативным. Только в 2 наблюдениях капсула оставалась в луковице до 1 мин, что позволило в достаточной мере оценить состояние слизистой оболочки. При этом органических изменений не обнаружено, тогда как в петле двенадцатиперстной кишки и в желудке определялись изменения воспалительного характера.

В структуре поражений петли двенадцатиперстной кишки превалировало поверхностное воспаление — 92,3% случаев. На этом фоне определялись эрозии, кровотечение из которых наблюдалось в 38,5% случаев.

В структуре поражений тощей кишки превалировало поверхностное воспаление, отек ворсин встречался в 61,5% случаев. Эрозивные поражения тощей кишки заняли 3-е место по частоте встречаемости и составили 53,1% случаев. Кровотечение из эрозий наблюдалось в 46,2% наблюдений.

Таблица 3. Патология желудка и двенадцатиперстной кишки у больных ЛХ, выявленная при капсульной эндоскопии

Патология	Число случаев	
	абс.	%
Поверхностный гастрит	20	76,9
Эрозии желудка	8	30,8
Язва желудка	0	0
Дискинезия по гиперкинетическому типу	2	7,7
Дуоденогастральный рефлюкс	14	53,9
Поверхностный бульбит	6	23,1
Эрозии луковицы 12-п.к.*	2	7,7
Эрозии луковицы 12-п.к. с кровотечением	2	7,7
Язвы луковицы 12-п.к.	0	0
Поверхностный дуоденит	24	92,3
Ксантома 12-п.к.	0	0
Лимфангиэктазии 12-п.к.	4	15,4
Эрозии 12-п.к.	12	46,2
Кровотечение из эрозий 12-п.к.	10	38,5
Отек ворсин 12-п.к.	20	76,9
Фиброзные изменения ворсин 12-п.к.	10	38,5
Дискинезия по гипокINETическому типу	2	7,7
Всего ...	26	100

*12-п.к. — двенадцатиперстная кишка.

Таблица 4. Патология тощей кишки у больных ЛХ, выявленная при капсульной эндоскопии

Патология	Число случаев	
	абс.	%
Поверхностный еунит	24	92,3
Лимфангиэктазии	6	23,1
Ксантомы	6	23,1
Эрозии	14	53,9
Язва	4	15,4
Кровотечение из эрозий	12	46,2
Новообразование	2	7,7
Отек ворсин	16	61,5
Фиброз ворсин	10	38,5
Стриктура	2	7,7
Дискинезия по гиперкинетическому типу	2	7,7
Дискинезия по гипокINETическому типу	2	7,7
Всего ...	26	100

Таблица 5. Патология подвздошной кишки у больных ЛХ, выявленная при капсульной эндоскопии

Патология	Число случаев	
	абс.	%
Поверхностный илеит	14	53,9
Эрозии	16	61,5
Кровотечение из эрозий	10	38,5
Язвы	2	7,7
Лимфофолликулярная гиперплазия	8	30,8
Фиброз ворсин	2	7,7
Отек ворсин	8	30,8
Полипы	3	11,5
Стриктура	2	7,7
Фолликулит	2	7,7
Всего ...	26	100

По своей структуре поражения подвздошной кишки несколько отличаются от перечисленных выше отделов. На 1-е место здесь выходят эрозивные поражения слизистой оболочки, причем часто они определяются на участках, где отсутствует гиперемия или отек. В подавляющем большинстве случаев — это точечные эрозии, которые у 38,5% пациентов наблюдения имели признаки капиллярного кровотечения (рис. 5).

Капсульная эндоскопия не предназначена для диагностики патологии желудка, но полученные видеофрагменты позволяют в некоторой степени судить об изменениях его слизистой оболочки, перистальтике. В 20 случаях из 26 диагностирован гастрит. Эрозии на слизистой оболочке желудка верифицированы у 8 пациентов, что составило 30,8% случаев.

Дуоденогастральный рефлюкс обнаружен у 14 (53,9%) пациентов, у половины из них капсула из двенадцатиперстной кишки была заброшена обратно в желудок.

Два исследования оказались неинформативными из-за спавшегося просвета кишки на всем ее протяжении. Впоследствии было выяснено, что пациенты при подготовке к исследованию не при-

Таблица 6. Прочие результаты капсульной эндоскопии тонкой кишки у больных ЛХ

Изменение	Число случаев	
	абс.	%
Дискинезия по гипокINETическому типу	4	15,4
Спавшийся просвет кишки	2	7,7
Капсула не достигла толстой кишки	4	15,4
Всего ...	26	100

мали пищу и жидкость более суток, что и явилось, на наш взгляд, причиной подобного явления.

Влияние современных программ химиолучевого лечения на организм человека изучено в недостаточной мере. В связи с этим представляло интерес определить состояние ЖКТ, в особенности тонкой кишки, как одного из самых радио- и химиочувствительных органов. В литературе сообщений об изучении влияния химиолучевого лечения на тонкую кишку с эндоскопической визуализацией ее слизистой оболочки нам не встретилось.

Диспепсический синдром представляет собой существенную часть наиболее общих для различных химиопрепаратов и относительно неспецифиче-

ских побочных действий, требующих специальных мер профилактики и лечения. Диспепсические нарушения III и IV степени обуславливают необходимость временного или окончательного прекращения цитостатической терапии в любом ее варианте и проведение неотложной терапии [3].

Лучевое лечение онкологических больных может сочетаться с острым и отсроченным повреждением нормальных тканей, которое наблюдается в пределах от нескольких дней до недель или месяцев и даже лет после облучения. По последним данным, повреждения нормальных тканей, индуцированных ионизирующим излучением, различаются в зависимости от органа мишени и типов клеток.

На клеточном уровне острые лучевые повреждения различных отделов ЖКТ обусловлены гибелью стволовых клеток эпителия. Стволовые клетки эпителия ворсин тонкой кишки, локализующиеся на дне крипт, являются наряду со стволовыми клетками костного мозга одними из самых радиочувствительных клеток организма. При тотальном одно-



Рис. 4. Лимфофолликулярная гиперплазия тонкой кишки (указана стрелками)

кратном облучении симптомы поражения тонкой кишки появляются при дозе порядка 5,5 Гр [4].

Острые или ранние реакции стромы и сосудов характеризуются быстро возникающими изменениями в течение нескольких часов, такими как нарастающий отек эндотелия, повышение проницаемости сосудов, отек соединительной ткани, инфильтрация ее лимфоцитами. Апоптоз эндотелиальных клеток — важная составляющая в картине острого радиационного повреждения сосудистой системы облученного органа. Ответ сосудистой системы на облучение — количественное отношение погибших клеток и процессов регенерации с помощью выживших стволовых клеток [5].

Поздние реакции, встречающиеся через месяцы или даже годы после облучения, являются результатом ремодулирования стромы, приводящего к фиброзу, дисфункции органа и некрозу. Несмотря на то что раннее повреждение молекулярных связей начинается уже в процессе облучения, гибель клеток и процессы перестройки тканей, инициируемые ранними повреждениями, занимают долгое время [5].

Лучевое повреждение сосудов протекает двумя путями. Острые сосудистые изменения (до 24 ч) представлены в основном индуцированной радиацией гибелью клеток эндотелия [6], поздние (до нескольких месяцев) — включают расширение капилляров, истончение базальной мембраны, телеангиэктазии и потерю коллагена [7]. Капилляры — самый радиочувствительный компонент сосудистого русла [8, 9]. Эндотелий капилляров отвечает на излучение адгезией лейкоцитов, разбуханием клеток эндотелия [10]. Клеточные и молекулярные реакции эндотелиальных клеток на ионизирующее излучение хорошо изучены только *in vitro* [11].

Увеличение концентрации цитокинов в тканях после облучения может быть следствием ранней фазы воспаления, приводящего впоследствии к необратимым стромальным повреждениям [9]. Ремоделирование стромы — это многокомпонентный процесс, происходящий по межклеточным связям через цитокины и факторы роста, которые индуцируются в процессе ответа на облучение каждым типом клеток в отдельности. Специфические фиброзные изменения, такие как накопление коллагена и других белков экстрацеллюлярного матрикса, основываются преимущественно на реактивации системы фибробластов. Ионизирующее излучение индуцирует конечную дифференцировку фибробластов в постмитотические фиброциты. Окончательно дифференцированные фиброциты функционируют и активируют клетки системы фибробластов для продукции тканеспецифичных коллагена и молекул матрикса, обычно факторов роста и цитокинов. С учетом этих функциональных свойств фибробласт-фиброцит-системы, можно предположить, что индуцированная излучением аккумуляция постмитотических фиброцитов при-

ведет к увеличению синтеза и экстрацеллюлярному отложению коллагена [5, 11–16].

Все обнаруженные нами изменения тонкой кишки у пациентов, проходящих химиолучевое лечение, и после него укладываются в современные теории токсических реакций нормальных тканей на ионизирующее излучение и препараты, используемые в химиотерапии. ЖКТ, являясь одним из наиболее чувствительных к такому воздействию органов, до последнего времени оценивался не в полном объеме, что было связано с техническими трудностями в диагностике его патологии, но благодаря методике капсульной эндоскопии появилась возможность восполнить этот недостаток. Система позволяет при достаточно простой подготовке визуализировать патологию тонкой кишки, не принося серьезных неудобств пациенту.

Выводы

1. Видеокапсульная эндоскопия позволяет выявлять широкий спектр патологических процессов в тонкой кишке.

2. Клинической особенностью поражений ЖКТ во время химиолучевого лечения является повышенная частота бессимптомных поражений слизистой оболочки — 58% от общего числа наблюдений.

3. Наиболее распространенная патология тонкой кишки, встречающаяся в процессе химиолучевого лечения, — наличие скрытого эрозивного процесса с кровотечением.

4. Ранней реакцией на проводимую химио- и лучевую терапию со стороны тонкой кишки является воспаление с отеком ворсин.

5. В отдаленные сроки после лечения в облученных участках тонкой кишки возможно возникновение бессимптомных стриктур (7,7% случаев), потенциально опасных в плане развития острой кишечной непроходимости.

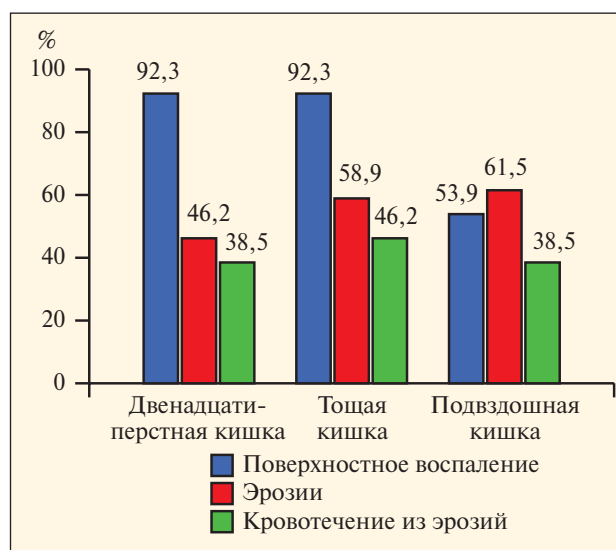


Рис. 5. Соотношение частоты развития поверхностного воспаления, эрозий и кровотечения из них по отделам тонкой кишки

Л и т е р а т у р а

1. Mauch P.V., Armitage J.D., Diehl V. et al. Hodgkin's disease. Philadelphia, 1999.
2. Логинов А.С., Васильев Ю.В., Парфенов Д.А. Особенности эндоскопического исследования при поражениях тощей и подвздошной кишки. Рос гастроэнтерол журн 2000;(2):10—2.
3. Гершанович М.Л. Осложнения при химио- и гормонотерапии злокачественных опухолей. М.: Медицина, 1982.
4. Anno G.H., Daum S.J., Withers H.R. et al. Symptomatology of acute radiation effects in humans after exposure to doses of 0,5—30 Gy. Health Physics 1989;56(6):821—38.
5. Rodemann H.P., Blaese M.A. Responses of normal cells to ionizing radiation. Sem Radiat Oncol 2007;17(2):81—8.
6. Pena L.A., Fuks Z., Kolesnick R.N. Stress-induced apoptosis and the sphingomyelin pathway. Biochem Pharmacol 1997;53:615—21.
7. Pena L.A., Fuks Z., Kolesnick R.N. Radiation-induced apoptosis of endothelial cells in the murine central nervous system: Protection by fibroblast growth factor and sphingomyelinase deficiency. Cancer Res 2000;60:321—7.
8. Morris G.M., Coderre J.A., Bywaters A. et al. Boron neutron capture irradiation of the rat spinal cord: Histopathological evidence of a vascular-mediated pathogenesis. Radiat Res 1996;146:313—20.
9. Fajardo L.F., Bathrong M., Anderson R.E. Radiation Pathology. N Y: Oxford University Press, 2001.
10. Jaenke R.S., Robbins M.E., Bywaters T. et al. Capillary endothelium: Target site of renal radiation injury. Lab Invest 1993;68:396—405.
11. Dimitrievich G.S., Fischer-Dzoga K., Griem M.L. Radiosensitivity of vascular tissue: I-Differential radiosensitivity of capillaries: A quantitative in vivo study. Radiat Res 1984;99:511—35.
12. Tada H., Ogushi F., Tani K. et al. Increased binding of chemotactic capacities of PDGF-BB on fibroblasts in radiation pneumonitis. Radiat Res 2003;159:805—11.
13. Rodemann H.P., Bamberg M. Cellular basis of radiation-induced fibrosis. Radiother Oncol 1995;35:83—90.
14. Rubin P., Finkelstein J., Schapiro D. Molecular biology mechanisms in the radiation induction of pulmonary injury syndromes: Interrelationship between the alveolar macrophage and the septal fibroblast. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1992;24:93—101.
15. Rodemann H.P., Peterson H.P., Schwenke K. et al. Terminal differentiation of human fibroblasts is induced by radiation. Scanning Microsc 1992;5:1135—43.
16. Rodemann H.P., Binder A., Burger A. et al. The underlying cellular mechanism of fibrosis. Kidney 1996;49:32—6.

ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕЧЕНИЯ ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ НА ПРОТОКОЛЕ ALL-MB-2002

Н.В. Мигаль, А.С. Шмаргун, О.В. Алейникова

ГУ Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь

Контакты: Наталья Владимировна Мигаль migaldanuta1@yandex.ru

Проведен сравнительный фармакоэкономический анализ лечения по протоколу ALL-MB-2002 между двумя группами детей с острым лимфобластным лейкозом — ОЛЛ ($n=53$) в зависимости от применения препаратов внутривенного иммуноглобулина (ВВИГ) с целью профилактики инфекционных осложнений. Показано, что фактическая стоимость протокола в группе детей с использованием ВВИГ в 1,5 раза ниже ($p<0,001$). Удешевление стоимости медикаментозного лечения в данной группе произошло за счет сокращения расходов на терапию осложнений, $p<0,001$. Укорочение вынужденных перерывов на протоколе ALL-MB-2002 в группе пациентов с использованием ВВИГ привело к резкому уменьшению стоимости госпитализаций (койко-дней) в стационаре круглосуточного пребывания ($p<0,001$). Применение данных препаратов экономически выгоднее за счет уменьшения коэффициента стоимость/эффективность почти в 2 раза и увеличения количества дополнительных лет жизни у пациентов с ОЛЛ в 1,4 раза.

Ключевые слова: дети, острый лимфобластный лейкоз, фармакоэкономический анализ, внутривенный иммуноглобулин

PHARMACOECONOMIC ANALYSIS OF TREATMENT OF CHILDREN WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA ACCORDING TO ALL-MB-2002 PROTOCOL

N.V. Migal, A.S. Shmargun, O.V. Aleinikova

Republic Centre for Paediatric Oncology and Haematology, Minsk, Belarus

Comparative pharmacoeconomic analysis of treatment according to ALL-MB-2002 protocol between two groups of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) ($n=53$) depending on use of intravenous immunoglobulin (IVIG) aiming to infectious complications preventing was conducted. It is shown, that actual protocol cost in group of children treating with IVIG in 1,5 times low ($p<0,001$). Price reduction of medicamentous treatment in this group of patients occur due to reduction of complications treatment cost, $p<0,001$. Decreasing time of treatment interruptions in group of patients with IVIG result in severe reduction of hospitalization cost ($p<0,001$). Application of this drug is more economic because of almost in 2 times reduction cost/efficiency ratio and 1,4 times increasing of additional years of life in ALL patients.

Key words: children, acute lymphoblastic leukemia, pharmacoeconomic analysis, intravenous immunoglobulin

Введение

Острые лейкозы в педиатрии занимают ведущее место в структуре онкогематологических заболеваний, из которых на долю острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) приходится до 80% [1, 2]. Проведение в последние годы риск-адаптированной полихимиотерапии (ПХТ) и адекватной сопроводительной терапии позволило повысить 5-летнюю безрецидивную выживаемость у детей до 80% [1, 2]. В то же время ПХТ является высокочувствительным видом лечения, что объясняется следующим: в ходе проведения ПХТ развиваются инфекционные осложнения, которые приводят к использованию дополнительной (сопутствующей) терапии и увеличению продолжительности курса лечения в стационаре [3]. Разработанные нами схемы профилактики осложнений у данной группы с помощью препаратов внутривенных иммуноглобулинов (ВВИГ) имели высокую клиническую эффективность, однако стоимость препаратов ВВИГ на фармацевтическом рынке высока [4, 5]. В настоящее время стоимость лекарственной терапии во всех странах является критерием при выборе приоритетных методов лечения. Даже для стран с высоким уровнем экономики лечение больных ОЛЛ является затратным, так как расходы на него ложатся тяжелым бременем на финансирование системы здравоохранения в целом. Данная проблема актуальна и для Республики Беларусь, особенно с учетом того, что все затраты на лечение онкологических пациентов берет на себя государство [6]. В связи с этим медико-экономические исследования у детей с ОЛЛ помогают найти истинные затраты на данную категорию пациентов, определить пути снижения затрат без потери клинической эффективности и резервы повышения эффективности специального лечения.

Цель исследования — оценка фармакоэкономической эффективности применения препаратов ВВИГ для профилактики развития инфекционных осложнений у больных ОЛЛ (протокол ALL-MB-2002).

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили истории болезни 53 пациентов с ОЛЛ в возрасте от 2,0 до 18,7 (медиана 4,7) года, поступивших на лечение в ГУ Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии (ГУ РНПДЦОГ) в период с 1 апреля 2004 г. по 31 октября 2007 г. В зависимости от применения препаратов ВВИГ

с целью профилактики инфекционных осложнений были сформированы 2 группы: 1-я ($n=28$) с применением стандартных подходов в лечении инфекционных осложнений; 2-я ($n=25$) с использованием препаратов ВВИГ, вводимых на 22, 29 и 36-й дни индукционной терапии протокола ALL-MB-2002. Применяли следующие препараты: Сандоглобулин («Novartis», Швейцария), Октагам («Octapharm», Австрия) в дозе 0,1–0,2 г/кг массы тела.

В табл. 1 приведена инициальная характеристика пациентов.

По представленным данным можем сделать заключение о сопоставимости групп по половозрастной структуре, иммунофенотипическим характеристикам бластных клеток костного мозга, инициальному уровню лейкоцитов в периферической крови, распределению пациентов по группам риска.

Результаты лечения представлены в табл. 2.

Частота достижения ремиссии практически идентична для обеих групп пациентов и составила 27/28 (96,4%) для 1-й группы и 25/25 (100%) — для 2-й.

Один (3,6%) ребенок из 1-й группы погиб от инфекционного осложнения — бактериально-грибкового сепсиса (*Ps. aeruginosa*, *E.coli*, дрожжеподобные грибы) на фоне цитопенического синдрома до достижения ремиссии. ППР достигнута у 22 (81,5%) пациентов 1-й группы и у 25 (100%) — 2-й, $p=0,002$. В 1-й группе на этапе консолидации I погибла девочка от септического шока, вызванного *Ps. aeruginosa*, на фоне глубокой аплазии. Показа-

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с острым лимфобластным лейкозом анализируемых групп

Показатель	Число пациентов (%)	
	1-я группа	2-я группа
Всего пациентов, абс. (%)	28 (100)	25 (100)
Возраст — медиана, годы	4,01 1,2—16,6	4,23* 2,04—18,7
Пол:		
мальчики	15 (53,6)	15 (60)*
девочки	13 (46,4)	10 (40)*
Иммунофенотип:		
про-B	2 (7,1)	0
пре-B	7 (25)	3 (12)*
common-B	19 (67,9)	21 (84)*
T	0	1 (4)*
Уровень лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$:		
<50	26 (92,9)	23 (92)*
>50	2 (7,1)	2 (8)*
Поражение центральной нервной системы	1 (3,6)	0
Группа риска:		
SRG	23 (82,1)	22 (88)*
ImRG	5 (17,9)	3 (12)*

Примечание. * $p>0,05$. SRG — стандартная группа риска; ImRG — промежуточная группа риска.

Таблица 2. Отдаленные результаты лечения в анализируемых группах больных ОЛЛ

Событие	1-я группа		2-я группа		p
	абс.	Число больных %	абс.	%	
Результаты индукции:					
всего пациентов	28	100	25	100	
достигли ремиссии	27	96,4	25	100	>0,05
смерть в индукции	1	3,6	0	100	>0,05
Статус полной ремиссии:					
всего пациентов	27	100	25	100	
ППР*	22	81,5	25	100	0,02
рецидив	4	14,8	0	100	0,045
смерть в ремиссии	1	3,7	0	100	>0,05

*ППР — полная продолжительная ремиссия.

тель бессобытийной выживаемости (БСВ) детей с ОЛЛ составил $72 \pm 9\%$ (медиана наблюдения 37,72 мес) и 100% (медиана наблюдения 26,03 мес) для 1-й и 2-й групп соответственно ($p=0,0432$). Рецидивы были диагностированы у 4/28 (14,8%) детей 1-й группы и ни у кого — во 2-й, $p=0,045$. Показатель безрецидивной выживаемости (БРВ) пациентов в 1-й группе составил $82 \pm 7\%$ (медиана наблюдения 36,67 мес). Несмотря на то что показатель оказался значительно ниже аналогичного показателя детей 2-й группы (100%, медиана наблюдения 24,8 мес), статистической достоверности не получено ($p>0,05$).

Лечение проводилось по протоколу ALL-MB-2002, подробное описание которого представлено в литературе [7].

В фармакоэкономическом исследовании были учтены прямые медицинские затраты:

- стоимость обследования пациента в стационаре (комплекс первичного обследования и обследования на протяжении проведения всего интенсивного лечения);
- стоимость койко-дней, проведенных пациентом в стационаре при проведении интенсивной фазы протокола;
- стоимость цитостатической терапии;
- стоимость сопроводительной терапии;
- стоимость сопутствующей терапии осложнений.

Таким образом, расчет прямых медицинских затрат при проведении ПХТ у детей с ОЛЛ представ-

Таблица 3. Стоимость койко-дня в различных структурных подразделениях ГУ РНПДЦОГ*

Структурное подразделение	Стоимость
Инфекционное отделение, отделения для детей старшего и младшего возраста, отделение солидных опухолей	77,8
Отделение анестезиологии и реанимации (АРО)	281,3
Дневной стационар	17,6

* Здесь и далее стоимость приведена в у.е. (доллары США).

вляет сумму всех перечисленных выше показателей [1,3]. Курс поддерживающей терапии в исследовании не учитывался.

Нами была создана база данных на основе программы Excel, которая позволила рассчитать и графически представить как стоимость лечения каждого пациента в отдельности (с учетом перечисленных параметров), так и средние затраты на проведение каждого элемента протокола в пересчете на 1 м² поверхности тела пациента (средняя стоимость койко-дней и об-

следование не приводились к 1 м² при выведении среднего показателя стоимости лечения) и на 1 кг массы тела пациента (для сопроводительной терапии и терапии осложнений), что позволило провести углубленный структурный анализ фармакоэкономических затрат при проведении лечения ОЛЛ у детей.

Нами были разработаны стандартизированные формуляры, включающие комплекс первичного обследования пациента с ОЛЛ, проведение специального лечения и терапии инфекционных осложнений, что позволило высчитать среднюю стоимость лечения протокола ОЛЛ с/без использования препаратов ВВИГ, приведенную на 1 м² (стоимость койко-дней и обследование не приводились к 1 м² при выведении стандартного показателя стоимости лечения).

В табл. 3 представлены показатели стоимости (у.е., в долларах США) 1 койко-дня (без учета стоимости медикаментов и обследования) в различных структурных подразделениях ГУ РНПДЦОГ.

Стоимости койко-дней в отделениях дневного стационара, инфекционном отделении, отделениях для детей старшего и младшего возраста, отделении солидных опухолей были объединены, так как различия оказались незначительными. Отдельно рассчитывался показатель для дневного стационара и АРО.

При расчете стоимости медикаментозного лечения нами были учтены реальные закупочные цены на медикаменты в день поступления каждого

конкретного препарата на склад аптеки (закупочная стоимость по накладным переводились в у.е., доллары США, по курсу Национального банка Республики Беларусь на день оплаты). Нами учитывались все лекарственные препараты, получаемые пациентом (согласно листам назначения в историях болезни) на протяжении всего пребывания

ребенка в стационаре (при прохождении специального лечения и при лечении осложнений после цитостатической терапии). Производился учет всех препаратов в соответствии с их коммерческими названиями. В электронную базу данных были внесены справочные материалы по стоимости 1 мг в у.е. (доллары США), методика пересчета приведена выше. В соответствии с общим количеством миллиграммов каждого лекарственного препарата высчитывалась общая сумма. Учитывался способ введения каждого препарата и с учетом этого его стоимость. Все препараты, получаемые пациентом при проведении терапии инфекционных осложнений, были разделены на следующие группы: противомикробные, противовирусные, противогрибковые и ВВИГ. Отдельно рассчитывались гемотрансфузии и инфузионная терапия. Расчет стоимости цитостатических препаратов производился с учетом протокола и площади тела пациента.

В стоимость обследования были включены все виды клиничко-лабораторных исследований: общеклинические анализы крови, биохимические анализы крови/мочи, анализы мочи, кала, определение группы крови и резус-фактора, вирусологические и микробиологические, иммунологические и цитогенетические, молекулярно-генетические, функционально-диагностические исследования и лучевые методы диагностики.

При осуществлении фармакоэкономического анализа мы проводили сравнение стоимости лечения по протоколу ALL-MB-2002 для групп пациентов с/без препаратов ВВИГ. Преимущества препаратов ВВИГ в предупреждении развития инфекционных осложнений в ходе проведения ПХТ у детей с ОЛЛ были представлены в наших публикациях ранее [4, 5, 8].

Эффективность ПХТ оценивали по показателю БСВ, рассчитанному по методу Каплана — Майера. Статистические различия между кривыми выживаемости определяли с помощью критерия log-rank. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

На основании рассчитанной стоимости и показателя БСВ проведен анализ затратной эффективности лечения. Расчет затратной эффективности выполняли по формуле: $ЗЭ = C/EFS \times N$, где ЗЭ — затратная эффективность, C — стоимость, EFS — БСВ, N — число лет наблюдения. В нашем исследовании эффективность лечения ОЛЛ — это

Таблица 4. Стоимость (фактическая) протокола ALL-MB-2002 в анализируемых группах

Группа	медикаментозная терапия	Стоимость обследование	койко-день	Итого*
1-я (n=28)	8230,6	3744,18	8916,3	22 520,02
2-я (n=25)	2595,2	2416,97	5396,4	11 642,9
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

*С учетом расходного материала.

увеличение продолжительности жизни пациентов. При сравнительной оценке методов лечения обеих групп пациентов с/без ВВИГ предпочтительным является тот, у которого меньшая затратная эффективность, а именно — при меньшей стоимости лечения получение более высокой выживаемости больных ОЛЛ. Для определения эффективности использования препаратов ВВИГ мы высчитывали количество дополнительных лет жизни пациентов.

Результаты и обсуждение

В табл. 4 представлены данные фактической стоимости лечения ОЛЛ (протокол ALL-MB-2002) в ГУ РНПДЦОГ в анализируемых группах.

Как видно из приведенных данных, использование препаратов ВВИГ во 2-й группе способствовало снижению фактической стоимости лечения в 1,5 раза ($p < 0,001$). Уменьшение происходило по всем категориям: медикаментозное лечение, обследование и стоимость койко-дня.

В наших предыдущих работах доказана клиническая эффективность применения ВВИГ с целью предупреждения возникновения инфекционных осложнений, а именно: во 2-й группе после введения ВВИГ 10 (40%) из 25 детей с ОЛЛ не имели инфекционных осложнений в ходе проведения ПХТ [4, 5, 8]. При расчете стоимости медикаментозного лечения для данной группы пациентов оказалось, что применение препаратов ВВИГ привело к удешевлению стоимости как всего лечения ($p < 0,001$), так и стоимости терапии осложнений, $p < 0,001$ (табл. 5).

В структуре стоимости терапии осложнений (без учета препаратов крови и кровезаменителей) в 1-й группе ведущее место занимает антибактериальная терапия — 1381,54 у.е. (табл. 6).

Таблица 5. Стоимость (фактическая) медикаментозного лечения

Группа	цитостатическая терапия	Стоимость сопутствующая терапия	инфузионная терапия	Итого*
1-я (n=28)	1061,3	6979,6	189,75	8230,6
2-я (n=25)	981,6	1535,3	78,9	2595,2
p	0,65	<0,001	<0,001	<0,001

Таблица 6. Стоимость (фактическая) терапии осложнений

Показатель	Стоимость		Р
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=25)	
Терапия:			
антибактериальная	1381,54	110,14	<0,001
противогрибковая	655,39	174,05	<0,001
противовирусная	676,42	20,54	0,021
противорвотная	78,32	68,32	0,6
Препараты:			
ВВИГ	0	317,02	—
крови и кровезаменители	3820,59	627,41	<0,001
другие	368,17	217,7	>0,05
Итого ...	6979,6	1535,3	<0,001

Во 2-й группе 1-е место по стоимости принадлежит препаратам ВВИГ. Номинальная стоимость этих препаратов высокая и составляла за 1 г от 40,2 у.е. (Сандоглобулин 6 г) до 49,21 у.е. (Октагам, 2,5 г) В нашем исследовании ВВИГ применялись на этапе индукции из расчета 0,2 г/кг N3. Мы ожидали, что это приведет к удорожанию стоимости. Однако, как следует из табл. 6, стоимость терапии осложнений оказалась почти в 4,5 раза дешевле ($p<0,05$).

В стоимость лечения осложнений включены и расходы на препараты крови и кровезаменители, стоимость которых была значительно дороже таковой лекарственных препаратов в обеих группах, но достоверно выше в 1-й группе ($p<0,001$). Низкая стоимость расходов на препараты крови и кровезаменители (627,41 у.е.) имела клиническую основу: использование ВВИГ снижало гематологическую токсичность ПХТ и уменьшало потребность в гемотрансфузиях у пациентов с ОЛЛ [5]. В терапию ос-

ложнений мы включили также и группы лекарственных средств, так называемые симптоматические (противокашлевые, препараты кальция, блокаторы H_2 -рецепторов, спазмолитики и т.д.), которые по затратной стоимости не различались в обеих группах.

Мы проанализировали, какой из этапов ПХТ наиболее высокозатратный. Оказалось, что самым дорогим этапом во 2-й группе была индукция (687,5 у.е.) за счет применения препаратов ВВИГ. Но этот факт надо рас-

сматривать как преимущество по причине удешевления других этапов ПХТ. В 1-й группе в равной степени оказались дорогими как индукция, так и консолидация (табл. 7).

Таким образом, использование препаратов ВВИГ снижает частоту развития инфекционных осложнений в ходе проведения ПХТ, что значительно уменьшает затраты на лечение ОЛЛ у детей ($p<0,05$).

Применение ВВИГ сокращало периоды вынужденных перерывов ПХТ за счет снижения инфекционной токсичности у пациентов с ОЛЛ. При расчете стоимости пребывания детей в отделениях за единицу измерения был взят койко-день. Как видно из табл. 8, стоимость пребывания в отделениях была почти в 1,5 раза меньше во 2-й группе ($p<0,001$).

Показатель стоимости койко-дня в отделениях для детей младшего и старшего возраста, инфекционном отделении мало отличался и составил 77,8 доллара США. Наименьшая стоимость была

Таблица 7. Стоимость (фактическая) терапии осложнений в зависимости от этапа ПХТ

Показатель	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=25)	
	индукция	консолидация I—III	индукция	консолидация I—III
Терапия				
антибактериальная	188,2*	1192,7*	28,6	81,54
противогрибковая	181,31*	474,0*	59,49	114,57
противовирусная	10,8*	666,6*	1,6	18,9
противорвотная	28,79	49,9	31,47	36,83
Препараты ВВИГ	0	0	317,02	0
Трансфузии	1254,5*	2565,4*	249,3	378,1
Итого ...	1634,81	4948,3	687,5	629,94

* $p<0,05$.

Таблица 8. Стоимость (фактическая) койко-дня в отделениях на этапах ПХТ

Группа	Индукция		Консолидация		Итого
	число койко-дней (медиана)	стоимость	число койко-дней (медиана)	стоимость	
1-я (n=28)	37,5	2731,0	204,5	6185,3	8916,3
2-я (n=25)	36,0	2045,7	177,0	3350,6	5396,4
Р	0,86	<0,00014	0,014	0,00087	<0,0003

Таблица 9. Стоимость (фактическая) пребывания в различных отделениях в зависимости от этапа ПХТ

Группа	Стоимость					
	дневной стационар	индукция стационарные отделения	АРО	дневной стационар	консолидация стационарные отделения	АРО
1-я (n=28)	93,27	2376,53	261,19	2811,46	3082,54	291,33
2-я (n=25)	244,93	1755,79	45,0	2949,08	401,59	0
p	0,0006	0,001	0,2	0,5	0,00037	0,27

в дневном стационаре — 17,6 доллара США, а наибольшая в АРО — 281,3. Данные различия повлияли на фактическую стоимость в анализируемых группах на разных этапах ПХТ, $p < 0,001$ (см. табл. 8). Стоимость госпитализаций на этапе индукции в 1-й и 2-й группах состояла более чем на 90% из стоимости нахождения в стационарных отделениях, несмотря на то что в 1-й группе данная сумма была в 1,3 раза выше, $p < 0,001$ (табл. 9).

Отличительной особенностью этапа консолидации для 2-й группы была невысокая стоимость пребывания в стационарных отделениях (401,59 у.е.). Стоимость госпитализаций на консолидации во 2-й группе почти на 90% состояла из стоимости пребывания в дневном стационаре. Для 1-й группы стоимость складывалась почти из одинаковых пропорций стоимости пребывания в стационарных отделениях и дневном стационаре.

Таким образом, сокращение вынужденных перерывов ПХТ в группе пациентов с использованием препаратов ВВИГ привело к резкому уменьшению стоимости госпитализаций (койко-дней) в стационаре круглосуточного пребывания ($p < 0,001$).

Для проведения анализа затратной эффективности нами использованы данные стоимости прямых затрат (медикаменты, койко-дни, обследование) протокола лечения в исследуемых группах. Показатель БСВ пациентов с ОЛЛ 2-й группы составил 100%, 1-й — 72%, $p = 0,0432$ (см. рисунок).

По формуле были высчитаны коэффициенты стоимость/эффективность: стоимость (средняя) лечения/показатель БСВ [1]. Данные представлены в табл. 10.

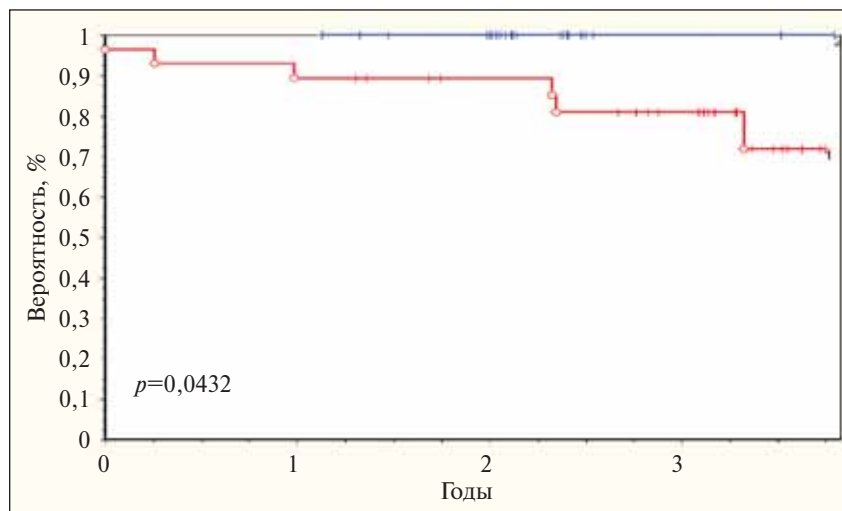
Полученные результаты свидетельствуют о том, что, несмотря на более высокую стоимость препаратов ВВИГ у детей с ОЛЛ, использование данных лекарственных средств экономически выгоднее. У пациентов 2-й группы при низком коэффициенте затратной эффективно-

сти число дополнительных лет жизни составило 4 года, что в 1,4 раза больше по сравнению с 1-й группой — 2,88 года (табл. 10).

Таким образом, при меньшей затратной эффективности во 2-й группе, а именно при меньшей стоимости лечения получен более высокий показатель выживаемости пациентов с ОЛЛ.

Заключение

Нами были рассчитаны потенциалы эффективности программы ALL-MB-2002 у детей с ОЛЛ. Фактическая общая стоимость интенсивного лечения по протоколу ALL-MB-2002 в 1-й группе превышала стоимость во 2-й группе вследствие дополнительных расходов на сопутствующую терапию осложнений и, как результат, расходов на дополнительное пребывание в стационаре и дополнительные обследования. Более выраженная иммуносупрессия являлась причиной большего числа осложнений в 1-й группе, что сказалось на увеличении стоимости сопутствующего лечения. При сравнении затратной эффективности лечения, полученные данные свидетельствуют о том, что использование препаратов ВВИГ экономически более выгодно, так как обладает более низким коэффициентом стоимость/эффективность, при меньшей стоимости лечения получен высокий показатель БСВ (100%) пациентов с ОЛЛ.



БСВ детей с ОЛЛ:

1-я группа (n=28), ППР 22, БСВ $0,72 \pm 0,09$ (медиана наблюдения 37,72 мес);
2-я группа (n=25), ППР 25, БСВ 1 (медиана наблюдения 26,03 мес)

Таблица 10. Коэффициенты затратной эффективности

Группа	Стоимость лечения	Эффективность (число дополнительных лет жизни)	Коэффициент (стоимость/эффективность)
1-я (n=28)	22 520,02	2,88	7819,4
2-я (n=25)	11 642,9	4,00	2910,7

Следовательно, использование фармакоэкономических расчетов в детской онкогематологии способствует выбору наиболее эффективного и менее затратного метода лечения. Внедрение совре-

менных технологий диагностики и лечения ОЛЛ у детей экономически выгодно для системы здравоохранения Республики Беларусь и Российской Федерации.

Л и т е р а т у р а

1. Алейникова О.В. Современные технологии диагностики и лечения острых лейкозов у детей. Автореф. дис. ... докт. мед наук. М., 1999.
2. Петрович С.В., Алейникова О.В. Эпидемиология злокачественных новообразований у детей. Минск: Белорусская наука, 2004.
3. Петрович С.В. Моделирование клинико-эпидемиологического процесса и анализа эффективности затрат при лечении злокачественных новообразований у детей. Автореф. дис. ... докт. мед наук. Минск, 2005.
4. Мигаль Н.В., Буглова С.Е., Белевцев М.В. и др. Профилактическое ис-

- пользование внутривенного иммуноглобулина для предупреждения инфекционных осложнений у детей с острым лимфобластным лейкозом. Гематол трансфузиол 2005;50(2):3—7.
5. Мигаль Н.В., Белевцев М.В. Применение внутривенных иммуноглобулинов у детей с острым лимфобластным лейкозом. В сб.: Актуальные вопросы детской онкологии и гематологии. Материалы XI Международной научно-практической конференции. Минск, 2008. с. 201—4.
 6. Руденко В.П., Цыбин А.К., Гракович А.А. и др. Территориальные программы государственных гарантий по обеспечению медицинским обслужива-

- нием граждан: первые итоги реализации в Республике Беларусь. Вopr организац информатизац здравооохр 2004;2:8—17.
7. Румянцева Ю.В., Карачунский А.И. Оптимизация терапии острого лимфобластного лейкоза у детей в России и Белоруссии. Вopr гематол онкол и иммунопатол педиатр 2007;6(4):13—21.
 8. Мигаль Н.В., Алейникова О.В., Буглова С.Е. и др. Клинический опыт применения внутривенного иммуноглобулина (ВВИГ) у детей с острым лимфобластным лейкозом на фоне интенсивной полихимиотерапии. В сб.: Материалы III съезда онкологов и радиологов СНГ. Минск, 2004. с. 401.

ВТОРЫЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ ОПУХОЛИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Д.Ю. Качанов^{1,2}, Р.Т. Абдуллаев^{1,2}, Н.В. Крючко¹, Т.В. Шаманская¹,
Е.В. Инюшкина^{1,2}, К.В. Добренков¹, С.Р. Варфоломеева^{1,2}

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии, Москва; ²Московский областной онкологический диспансер, Балашиха

Контакты: Денис Юрьевич Качанов totti111@list.ru

Вторые злокачественные опухоли (ВЗО) являются одним из наиболее грозных отдаленных последствий противоопухолевого лечения. В статье проанализированы случаи развития ВЗО у детей и подростков на территории Московской области за период 2000—2008 гг. Выявлено 10 случаев развития ВЗО. Показано, что проведение комплексной терапии позволяет достичь длительной бессобытийной выживаемости у части больных с ВЗО.

Ключевые слова: дети, злокачественные новообразования, вторые злокачественные опухоли

SECOND MALIGNANT NEOPLASMS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS IN MOSCOW REGION

D. Yu. Kachanov^{1,2}, R. T. Abdullaev^{1,2}, N. V. Kruchko¹, T. V. Shamanskaya¹, E. V. Inyushkina^{1,2}, K. V. Dobrenkov¹, S. R. Varfolomeeva^{1,2}

¹Federal Clinical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow; ²Moscow Regional Oncological Hospital, Balashiha

Second malignant neoplasms are the most devastating consequences of anticancer therapy. We have studied the frequency of second malignant neoplasms among children and adolescents in Moscow Region. 10 cases were observed during the years 2000—2008. Long-term survival can be archived in some patients using multimodal treatment.

Key words: children, cancer, second malignant neoplasms

В последние десятилетия значительные достижения в области детской онкологии привели к тому, что 75—80% детей могут быть излечены от злокачественных новообразований (ЗН) [1, 2]. По мере накопления пула больных, излеченных от ЗН в детском возрасте, стало очевидным, что за излечением от первичной опухоли стоит целый спектр отдаленных последствий терапии, зависящих как от индивидуальных особенностей пациента, гистологического варианта первичной опухоли, так и от объема и интенсивности противоопухолевого лечения, которому подвергался больной. У 60—70% излеченных пациентов выявляются те или иные изменения здоровья, включающие специфическую органную токсичность, нарушение интеллекта, изменения роста и развития, нарушения репродуктивной функции [3]. Показано, что у пациентов, находящихся более 5 лет в ремиссии по основному заболеванию, риск смерти превышает общепопуляционный в 10,8 раза [4]. Одним из наиболее грозных отдаленных последствий терапии являются вторые злокачественные опухоли (ВЗО) [5]. Факторы риска развития ВЗО в настоящее время активно изучаются. Несколько крупных мультицентровых и популяционных исследований показало, что у лиц, излеченных от ЗН в детском возрасте, риск развития ВЗО превышает общепопуляционный в 3—6 раз [6—10]. Кумулятивная заболеваемость ВЗО составляет 3,5—5,1% к 25 годам наблюдения [7—10]. Возникновение ВЗО может быть обусловлено различными факторами, такими как наличие генетически детерминированной предрасположенности к развитию опухолевых заболеваний, возрастом больного на момент постановки диагноза ЗН, полом пациента, применением лучевой терапии (ЛТ) и отдельных групп цитостатических препаратов [6, 11]. В структуре заболеваемости ВЗО превалирует рак молочной железы (РМЖ), рак щитовидной железы (РЩЖ), опухоли центральной нервной системы (ЦНС) [6].

Цель исследования — изучение структуры и результатов лечения ВЗО у детей и подростков на территории Московской области (МО).

Материалы и методы

Данные о случаях развития ВЗО были получены из базы данных детского популяционного канцер-регистра МО, в которую включены больные в возрасте 0—18 лет. Информация о случаях развития ВЗО собиралась проспективно в период с 01.01.2000 г. по 31.12.2008 г. (108 мес). Сведения о первичных ЗН у пациентов с развившейся ВЗО собирались как проспективно, так и ретроспективно. В процессе сбора информации учитывались данные, способствующие идентификации пациента, такие как паспортные данные, информация, касающаяся опухоли, включающая дату диагноза, локализацию первичного ЗН, гистологический вариант ЗН, вид лечения, которому подвергся пациент

(хирургическое лечение, полихимиотерапия — ПХТ, ЛТ). В случае проведения ЛТ регистрировались зоны, подвергнутые облучению. У всех больных диагноз ВЗО был подтвержден гистологическим исследованием. Данные о ВЗО включали дату постановки диагноза, локализацию и гистологический вариант опухоли. Согласно международным рекомендациям, различные ЗН, развившиеся у одного больного, регистрировались отдельно.

Результаты

За время исследования на территории МО выявлено 10 случаев развития ВЗО, что составило 0,6% от всех зарегистрированных случаев заболевания ЗН за исследуемый период. Необходимо подчеркнуть, что в данное исследование были включены пациенты, у которых ВЗО развились до достижения ими возраста 19 лет. Характеристики больных представлены в таблице. Медиана возраста на момент постановки диагноза первичного ЗН составила 4,5 года (разброс 3 мес — 13 лет). При распределении по полу зарегистрировано преобладание лиц мужского пола (1,5:1). В структуре первичных ЗН превалировали гемобласты — 5 (50%) наблюдений, зафиксировано 4 (40%) случая солидных экстракраниальных опухолей и 1 (10%) — опухоли ЦНС. Гистологические варианты первичных гемобластозов включали ОМЛ — 2 пациента, по 1 случаю приходилось на ОЛЛ, ЛХ и Т-клеточную лимфобластную НХЛ. Гистологические варианты первичных солидных опухолей были представлены ретинобластомой ($n=2$), по 1 случаю приходилось на синовиальную саркому, рабдомиосаркому и глиобластому головного мозга. Всем пациентам по поводу первичного ЗН проводилась ПХТ в различных режимах, 8 (80%) больным — ЛТ, 1 (10%) пациент не получал ЛТ (случай 2), еще у 1 (10%) больного (случай 3) данные о предшествующем курсе ЛТ неизвестны. Медиана возраста на момент постановки диагноза ВЗО составила 11,3 (разброс 3,6—18,7) года. Медиана времени от момента постановки диагноза первичного ЗН до выявления ВЗО (латентный период) составила 5,4 (разброс 3,3—10,7) года. При распределении по гистологическим вариантам ВЗО в 4 (40%) наблюдениях выявлены злокачественные эпителиальные опухоли (щитовидной железы — ЩЖ, слюнной железы, толстой кишки), в 2 (20%) — диагностированы ЗН костей (остеосаркома, саркома Юинга), по 1 (10%) случаю пришлось на рабдомиосаркому, медуллобластому, стромальную опухоль яичника и диффузную крупноклеточную В-клеточную НХЛ. Всем больным проводилась терапия по поводу ВЗО. На момент написания статьи 8 (80%) пациентов живы с медианой наблюдения 55,5 (разброс 8—98) мес, из них 7 (70%) — в ремиссии. Один (1%) пациент жив с ВЗО, 2 (20%) больных (случаи 3, 7) погибли от прогрессирования ВЗО в сроки 18 и 8 мес от момента постановки диагноза, у 3 (30%) — имели место синдромы, повы-

шающие риск развития ВЗО: наследственная форма ретинобластомы ($n=2$), синдром Тюрко ($n=1$).

Обсуждение

Описаны случаи развития ВЗО у детей и подростков в МО. Удельный вес ВЗО от всех зарегистрированных случаев заболевания составил 0,6%. Как уже отмечалось выше, лица, излеченные от злокачественной опухоли в детском возрасте, имеют более высокий по сравнению с общей популяцией риск развития ЗН. Известно, что риск развития ВЗО сохраняется на протяжении десятилетий, при этом со временем относительный риск уменьшается [7]. Так, по данным Программы регистрации статистических данных по онкологической заболеваемости и смертности (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program — SEER), относительный риск развития ВЗО был максимальным через 1—4 года с момента постановки диагноза первичного ЗН (7,7), постепенно уменьшаясь, и у лиц, наблюдавшихся более 20 лет, составлял 4,1 [7]. Все ВЗО можно разделить на 2 большие группы: острые лейкозы (ОЛ) и миелодиспластический синдром и солидные негемопозитические опухоли [5]. Следует отметить, что определенные гистологические варианты ВЗО возникают в различные сроки от момента постановки диагноза первичного ЗН. При этом латентный период до развития вторичного ОЛ, как правило, достаточно короткий, тогда как вторые солидные ЗН имеют гораздо более длительный латентный период. Минимальный латентный период у пациентов, включенных в наше исследование, составил 3,4 года. Интересным представляется тот факт, что случаев развития вторичного ОЛ выявлено не было, и 9 из 10 ВЗО представляли собой солидные ЗН негемопозитического происхождения вне зависимости от типа первичного ЗН.

При распределении по полу в нашей группе больных отмечено превалирование лиц мужского пола. Вместе с тем данные литературы указывают на то, что у лиц женского пола частота встречаемости ВЗО выше, чем у мужчин [6]. Этот факт связан с возможностью развития РМЖ и РЩЖ, относящихся к числу наиболее часто встречающихся ВЗО [5,6]. Данная особенность, по-видимому, связана с тем, что в нашем исследовании больные регистрировались до достижения ими 19 лет, тогда как наибольшее число случаев РМЖ выявляется в более поздние сроки.

Во многих исследованиях продемонстрировано, что наиболее значимым фактором риска развития ВЗО является воздействие ЛТ [12]. У пациентов, подвергнутых ЛТ по поводу первичного ЗН, риск формирования ВЗО превышает общепопуляционный в 7,84 раза, тогда как в отсутствие подобной терапии риск составляет 4,66 [11]. Продemonстрировано увеличение риска развития ВЗО в зависимости от дозы ЛТ [13]. 80—90% ВЗО, развивающихся у лиц, подвергнутых ЛТ, формируются в поле облучения

или на краю облучаемого поля, при этом медиана латентного периода составляет 10 лет [14]. Наиболее распространенными вариантами ВЗО, индуцированных ЛТ, являются РМЖ у женщин, ЗН костей, СМТ и РЩЖ. В нашем исследовании 8 (80%) из 10 пациентов получали ЛТ, при этом в 5 случаях развитие ВЗО можно связать с предшествующим курсом ЛТ. В 3 случаях выявлялись злокачественные эпителиальные опухоли (РЩЖ — 2, рак слюнной железы — 1), в 2 — саркомы (рабдомиосаркома, саркома Юинга — по 1 случаю).

ЩЖ — один из наиболее чувствительных к ионизирующему излучению органов в организме человека [15]. Повышенный риск развития РЩЖ выявляется при облучении ЩЖ в дозе $> 0,1$ Гр [16]. По данным Исследования отдаленных эффектов у лиц, перенесших терапию по поводу ЗН в детском возрасте (Childhood Cancer Survival Study), в США на долю РЩЖ приходится 14,4% от всех случаев развития ВЗО [6]. Предшествующая ПХТ не оказывает канцерогенного воздействия на ЩЖ [17]. При этом влияние на ЩЖ может оказывать не только ЛТ, при которой ЩЖ непосредственно вовлекается в поле облучения или прилежит к полю облучения, но и рассеянное облучение на различные органы. Так, РЩЖ описан у лиц, перенесших терапию по поводу ОЛ, которым проводилось краиниальное облучение [17—19]. Интересным представляется тот факт, что дозиметрические исследования, проведенные у детей, подвергавшихся краиниальному облучению по поводу ОЛЛ в дозе 18 Гр, выявили дозу рассеянного облучения на ЩЖ, варьирующую от 0,47—0,79 [20] до 0,13—1,37 Гр [21], что превышает пороговое значение 0,1 Гр [16]. Фактором риска развития РЩЖ, индуцированного ЛТ, служит возраст на момент проведения терапии: чем младше пациент, тем выше у него риск развития РЩЖ. Наиболее чувствительными к лучевому воздействию являются дети в возрасте до 5 лет [15]. Большинство опухолей развивается через 10—19 лет от момента постановки диагноза первичного ЗН (медиана 15,9 года) [17]. Наиболее часто встречающимся гистологическим вариантом вторичного РЩЖ является папиллярный — от 78 до 95% от всех случаев заболевания [17, 18].

Оба пациента (случаи 1, 6), включенных в наше исследование, у которых был установлен диагноз РЩЖ, имели факторы риска, описанные выше. Возраст больных был младше 5 лет на момент постановки диагноза первичного ЗН. В 1 случае ЩЖ непосредственно прилежала к полю облучения, в другом — подвергалась воздействию рассеянной радиации. У обоих пациентов выявлен папиллярный вариант РЩЖ, оба они живы после проведения хирургического лечения.

Развитие рака слюнной железы, развившегося у пациента, перенесшего лимфобластную НХЛ (случай 8), может быть связано с проведением кур-

са профилактического краниального облучения в дозе 12 Гр, которому подвергался больной. Согласно данным литературы, ВЗО слюнных желез редко встречаются у лиц, перенесших онкологическое заболевание в детском возрасте. Основным фактором, предрасполагающим к развитию опухолей слюнных желез, является ЛТ [22, 23]. Высказывается мнение, что ПХТ, в частности с включением алкилирующих агентов, также может индуцировать канцерогенез в слюнных железах, на что указывает возможность развития ВЗО слюнных желез в отсутствие предшествующей ЛТ [24]. Медиана времени от постановки диагноза первичного ЗН до развития ВЗО слюнных желез, по данным исследований, со-

ставляет 5,5 — 9 лет [25, 26]. Наиболее часто опухоль локализуется в околоушной слюнной железе. Так, по данным Госпиталя Св. Иуды (St.Jude Children's Research Hospital, США), из 12 пациентов с ВЗО слюнных желез в 10 случаях опухоль исходила из околоушной слюнной железы [23]. Наиболее распространенным гистологическим вариантом ВЗО слюнной железы является мукоэпидермоидная карцинома. В 1 исследовании из 11 ВЗО слюнных желез в 10 случаях был выявлен указанный тип карциномы [23]. Прогноз у больных с ВЗО слюнных желез благоприятный. В исследовании W.S. Whatley и соавт. [23] из 12 пациентов 11 были живы без признаков заболевания, 1 — жив с нали-

Характеристика пациентов со ВЗО

Пациент	Пол	Первичная злокачественная опухоль				Вторая злокачественная опухоль				
		диагноз	возраст, годы	ЛТ (локализация; доза, Гр)	химиотерапия	диагноз	возраст, годы	латентный период, годы	длительность наблюдения, мес	исход
1	Ж	ОЛЛ	2,7	Краниальное облучение, 18,3	+	Папиллярный РЩЖ	10,2	7,5	98	Ремиссия
2	М	ОМЛ, М5-вариант	4,4	—	+	Медуллобластома мозжечка	8,6	4,2	92	Ремиссия
3	Ж	ОМЛ, М4-вариант	13,0	Нет данных	+	Гранулезоклеточная опухоль правого яичника	17,3	4,3	18	Смерть
4	Ж	Глиобластома лобной доли головного мозга	7,8	Краниальное облучение (доза неизвестна)	+	Аденокарцинома толстой кишки	13,6	5,8	70	Ремиссия
5	М	Билатеральная ретинобластома	0,3	Орбита с обеих сторон, 50	+	Рабдомиосаркома височной области справа	3,6	3,3	68	Ремиссия
6	М	ЛХ	3,1	Шейно-надключичные лимфоузлы, лимфоузлы средостения, парааортальные лимфоузлы, 30	+	Папиллярный РЩЖ	8,1	5	43	Ремиссия
7	Ж	Синовиальная саркома мягких тканей правой голени	11,3	Голень справа, 42	+	Саркома Юинга правой большеберцовой кости	18,7	7,4	8	Смерть
8	М	Т-клеточная лимфобластная НХЛ средостения	7,5	Краниальное облучение, 12	+	Мукоэпидермоидная карцинома околоушной слюнной железы справа	16,3	8,8	15	Ремиссия
9	М	Эмбриональная рабдомиосаркома левой орбиты	4,6	Орбита слева, 45,6; лимфоузлы шеи слева, 45,6; лимфоузлы шеи справа, 38,4	+	Диффузная крупноклеточная В-клеточная НХЛ тонкой кишки	9,1	4,5	11	Ремиссия
10	М	Билатеральная ретинобластома	1,7	Орбита слева, 20	+	Остеосаркома правой бедренной кости	12,4	10,7	8	Жив с опухолью

Примечание. ОЛЛ — острый лимфобластный лейкоз, ОМЛ — острый миелобластный лейкоз, ЛХ — лимфома Ходжкина, НХЛ — неходжкинская лимфома.

чием отдаленных метастазов, медиана наблюдения составила 5,5 года. В нашем случае у больного была диагностирована мукоэпидермоидная карцинома околоушной слюнной железы. Пациент жив в ремиссии в течение 15 мес от момента постановки диагноза.

Развитие опухолей семейства саркомы Юинга (ОССЮ) в качестве ВЗО встречается достаточно редко. По данным Госпиталя Св. Иуды, на долю указанных опухолей пришлось 1,3% от всех случаев заболевания ВЗО [27]. М.А. Tucker и соавт. [28] выявили только 3 случая заболевания ОССЮ у 64 пациентов с вторичными саркомами костей. В 2 других исследованиях, включивших больных с вторичными саркомами костей, ОССЮ не выявлено [29, 30]. В исследовании, проведенном в Италии, ОССЮ составили 16% (4/25) от всех вторичных СМТ [31]. Медиана времени от постановки диагноза первичного ЗН до развития вторичной ОССЮ составила 5,9 (разброс 3,1—18,3) года [27]. Из 6 пациентов, описанных S.L. Spunt [27], у 4 опухоль локализовалась в костях (ребра — 2, по 1 случаю — кости таза и конечности), у 2 — в мягких тканях грудной клетки. Развитие ОССЮ нельзя было связать с предшествующей ЛТ.

У больной, включенной в настоящее исследование (случай 7), саркома Юинга с поражением большеберцовой кости развилась в облученном поле (доза ЛТ 42 Гр) через 7,4 года после проведения терапии по поводу синовиальной саркомы правой голени. Больная погибла от прогрессирования ВЗО через 8 мес с момента постановки диагноза.

У 2 пациентов, перенесших ОМЛ, возникли медуллобластома мозжечка и гранулезоклеточная опухоль яичника (случаи 2, 3). Больной с медуллобластомой в качестве ВЗО получал только ПХТ по поводу ОМЛ, краниальное облучение не проводилось. На момент написания статьи пациент был жив в ремиссии при сроке наблюдения 92 мес. Следует отметить, что данные литературы указывают на частое развитие опухолей головного мозга в качестве ВЗО. Показано, что наиболее часто ВЗО головного мозга развиваются у больных с ОЛЛ и первичными опухолями ЦНС. Основную роль в генезе ВЗО головного мозга играет ЛТ [5]. На примере больных ОЛЛ, включенных в исследования группы BFM (Berlin—Frankfurt—Munster group), продемонстрировано, что риск развития ВЗО головного мозга в 19 раз превышает общепопуляционный [32]. Больная с гранулезоклеточной опухолью яичника погибла от прогрессирования заболевания через 18 мес с момента установления диагноза ВЗО.

НХЛ в качестве ВЗО встречаются крайне редко [33, 34]. По данным группы BFM, доказанные вторичные НХЛ составили 0,4% от числа всех зарегистрированных пациентов с НХЛ [33]. У 7 больных была диагностирована лимфобластная, у 5 — диффузная крупноклеточная В-клеточная НХЛ.

У пациента с эмбриональной рабдомиосаркомой левой орбиты (случай 9) через 4,5 года от момента постановки диагноза первичного ЗН развилась диффузная крупноклеточная В-клеточная НХЛ с поражением тонкой кишки. Больной жив через 11 мес от момента постановки диагноза после проведения курса ПХТ.

Помимо ЛТ, важным фактором риска служит генетическая предрасположенность к развитию опухолей. Наиболее характерными синдромами, предрасполагающими к возникновению ВЗО, являются наследственная форма ретинобластомы, нейрофиброматоз I типа, синдром Ли—Фраумени [14]. Кроме того, исследование семейного анамнеза у больных со ВЗО показало, что у родственников пациентов достоверно чаще встречаются ЗН в более раннем, чем в общей популяции, возрасте (до 45 лет) [35].

В нашем исследовании роль генетических факторов в формировании ВЗО установлена у 3 пациентов. Так, у больной с глиобластомой головного мозга и последующим развитием аденокарциномы толстой кишки (случай 4) был выявлен синдром Тюрко, наследуемый по аутосомно-доминантному типу и характеризующийся развитием полипов или рака толстой кишки в сочетании со злокачественными опухолями ЦНС [36].

В 2 наблюдениях (случаи 5, 10) ВЗО развились у больных с билатеральной ретинобластомой. Известно, что в основе развития билатеральной ретинобластомы лежит герминальная мутация гена *Rb1*. Наличие данной мутации расценивается как первое событие канцерогенеза согласно «двухударной» теории канцерогенеза А. Кнудсона. В когортных исследованиях, включавших пациентов, излеченных от ретинобластомы, показано, что у больных с наследственной формой заболевания риск возникновения ВЗО существенно выше (в 19 раз), чем в общей популяции и у пациентов с ненаследственной формой [37]. У последних риск развития последующей опухоли превышает общепопуляционный лишь в 1,2 раза [37]. При анализе пациентов с наследственной формой ретинобластомы показано, что применение в данной группе больных дистанционной ЛТ приводит к трехкратному повышению риска развития ВЗО, при этом наибольший риск отмечен для опухолей, локализующихся в облученном поле [38]. Так, для СМТ риск превышает общепопуляционный в 140 раз [38]. Больные с наследственной формой заболевания имеют повышенный риск развития ВЗО, сохраняющийся на протяжении всей жизни [39]. Наиболее распространенными ВЗО являются саркомы костей и СМТ, опухоли ЦНС, носоглотки, орбиты и меланома [38].

Случай 5 интересен тем, что у пациента с билатеральной ретинобластомой, диагностированной в возрасте 3 мес, отмечено развитие вторичной СМТ (рабдомиосаркома) в поле облучения. Ла-

тентный период составил 3,4 года. В данном наблюдении имеет место сочетание факторов риска в виде генетической предрасположенности и предшествующего курса ЛТ.

У второго пациента через 10,7 года от момента постановки диагноза первичного ЗН развилась остеосаркома в необлученном поле (правая бедренная кость). Остеосаркома — одна из наиболее часто встречающихся ВЗО в данной группе больных [40—42]. Возможно, это связано с тем, что в патогенезе остеосаркомы важную роль играют мутации гена *RBI* [43].

Выводы

Проанализированы случаи развития ВЗО у детей и подростков на территории МО. ВЗО являются относительно редким, но наиболее тяжелым осложнением противоопухолевой терапии.

Лица, перенесшие терапию по поводу ЗН в детском возрасте, нуждаются в длительном (возможно, пожизненном) наблюдении в связи с высоким риском развития ВЗО. Следует отметить, что улучшение выживаемости больных, в частности за счет интенсификации режимов ЛТ и ПХТ, может

привести к увеличению числа случаев ВЗО. Так, по данным детского канцер-субрегистратора Республики Беларусь, отмечено двукратное увеличение частоты встречаемости ВЗО за период 2001—2007 гг. по сравнению с 1995—2000 гг. [44].

С учетом того что большинство случаев ВЗО развивается во взрослом возрасте, для улучшения выявления и мониторинга ВЗО в данной возрастной группе целесообразным является слияние баз данных детских и взрослых популяционных канцер-регистров.

Одним из наиболее значимых факторов риска формирования ВЗО служит ЛТ. В связи с этим разработка современных риск-адаптированных протоколов лечения ЗН у детей и подростков должна быть направлена на уменьшение лучевой нагрузки, что особенно важно для детей раннего возраста.

Данные нашего исследования указывают на то, что при проведении адекватной противоопухолевой терапии у части больных со ВЗО возможно достижение длительной ремиссии. В связи с этим в случае развития ВЗО показано проведение куративной терапии.

Л и т е р а т у р а

- Gatta G., Capocaccia R., Stiller C. et al.; EUROCARE Working Group. Childhood cancer survival trends in Europe: a EUROCARE Working Group study. *J Clin Oncol* 2005;23(16):3742—51.
- Ries L.A.G., Melbert D., Krapcho M., et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975—2005, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2005/. Access 23.01.2009
- Robison L.L., Green D.M., Hudson M. et al. Long-term outcomes of adult survivors of childhood cancer. *Cancer* 2005;104(11 Suppl):2557—64.
- Mertens A.C., Yasui Y., Neglia J.P. et al. Late mortality experience in five-year survivors of childhood and adolescent cancer: the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 2001;19(13):3163—72.
- Bhatia S., Sklar C. Second cancers in survivors of childhood cancer. *Nat Rev Cancer* 2002;2(2):124—32.
- Neglia J.P., Friedman D.L., Yasui Y. et al. Second malignant neoplasms in five-year survivors of childhood cancer: childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(8):618—29.
- Inskip P.D., Curtis R.E. New malignancies following childhood cancer in the United States, 1973—2002. *Int J Cancer* 2007;121(10):2233—40.
- Olsen J.H., Garwicz S., Hertz H. et al. Second malignant neoplasms after cancer in childhood or adolescence. Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology Association of the Nordic Cancer Registries. *BMJ* 1993;307(6911):1030—6.
- Jenkinson H.C., Hawkins M.M., Stiller C.A. et al. Long-term population-based risks of second malignant neoplasms after childhood cancer in Britain. *Br J Cancer* 2004;91(11):1905—10.
- MacArthur A.C., Spinelli J.J., Rogers P.C. et al. Risk of a second malignant neoplasm among 5-year survivors of cancer in childhood and adolescence in British Columbia, Canada. *Pediatr Blood Cancer* 2007;48(4):453—9.
- Inskip P.D., Ries L.A.G., Cohen R.J., Curtis R.E. New malignancies following childhood cancer. In: *New Malignancies Among Cancer Survivors: SEER Cancer Registries, 1973—2000*. National Cancer Institute. NIH Publ. No. 05-5302. R.E. Curtis, D.M. Freedman, E. Ron et al (eds). Bethesda, MD, 2006.
- Garwicz S., Anderson H., Olsen J.H. et al. Second malignant neoplasms after cancer in childhood and adolescence: a population-based case-control study in the 5 Nordic countries. The Nordic Society for Pediatric Hematology and Oncology. The Association of the Nordic Cancer Registries. *Int J Cancer* 2000;88(4):672—8.
- Nguyen F., Rubino C., Guerin S. et al. Risk of a second malignant neoplasm after cancer in childhood treated with radiotherapy: correlation with the integral dose restricted to he irradiated fields. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008;70(3):908—15.
- Hieb B.A., Ogle S.K., Meadows A.T. Second malignancies following treatment for childhood cancer. In: *Survivors of childhood and adolescent cancer: Multidisciplinary approach*. 2nd ed. C.L. Schwartz, W.L. Hobbie, L.S. Constine, K.S. Ruccione (eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2005. p. 283—94.
- Inskip P.D. Thyroid cancer after radiotherapy for childhood cancer. *Med Pediatr Oncol* 2001;36(5):568—73.
- Ron E., Lubin J.H., Shore R.E. et al. Thyroid cancer after exposure to external radiation: a pooled analysis of seven studies. *Radiat Res* 1995;141(3):259—77.
- Sigurdson A.J., Ronckers C.M., Mertens A.C. et al. Primary thyroid cancer after a first tumour in childhood (the Childhood Cancer Survivor Study): a nested case-control study. *Lancet* 2005;365(9476):2014—23.
- Black P., Straaten A., Gutjahr P. Secondary thyroid carcinoma after treatment for childhood cancer. *Med Pediatr Oncol* 1998;31(2):91—5.
- Perel Y., Leverger G., Carrere A. et al. Second thyroid neoplasms after prophylactic cranial irradiation for acute lymphoblastic leukemia. *Am J Hematol* 1998;59(1):91—4.
- Mazonakis M., Tzedakis A., Damilakis J. et al. Scattered dose to thyroid from prophylactic cranial irradiation during childhood: a Monte Carlo study. *Phys Med Biol* 2006;51(8):139—45.
- Bessho F., Ohta K., Akanuma A., Sakata K. Dosimetry of radiation scattered to thyroid gland from prophylactic cranial irradiation for childhood leukemia. *Pediatr Hematol Oncol* 1994;11(1):47—53.
- Modan B., Chetrit A., Alfandary E. et al. Increased risk of salivary gland tumors after low-dose irradiation. *Laryngoscope* 1998;108(7):1095—7.

23. Whatley W.S., Thompson J.W., Rao B. Salivary gland tumors in survivors of childhood cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;134(3):385—8.
24. Rutigliano D.N., Meyers P., Ghossein R.A. et al. Mucoepidermoid carcinoma as a secondary malignancy in pediatric sarcoma. *J Pediatr Surg* 2007;42(7):9—13.
25. Védrine P.O., Coffinet L., Temam S. et al. Mucoepidermoid carcinoma of salivary glands in the pediatric age group: 18 clinical cases, including 11 second malignant neoplasms. *Head Neck* 2006;28(9):827—33.
26. Kaste S.C., Hedlund G., Pratt C.B. Malignant parotid tumors in patients previously treated for childhood cancer: clinical and imaging findings in eight cases. *Am J Roentgenol* 1994;162(3):655—9.
27. Spunt S.L., Rodriguez-Galindo C., Fuller C.E. et al. Ewing sarcoma-family tumors that arise after treatment of primary childhood cancer. *Cancer* 2006;107(1):201—6.
28. Tucker M.A., D'Angio G.J., Boice J.D. Jr. et al. Bone sarcomas linked to radiotherapy and chemotherapy in children. *N Engl J Med* 1987;317:588—93.
29. Newton W.A. Jr., Meadows A.T., Shimada H. et al. Bone sarcomas as second malignant neoplasms following childhood cancer. *Cancer* 1991;67:193—201.
30. Hawkins M.M., Wilson L.M., Burton H.S. et al. Radiotherapy, alkylating agents, and risk of bone cancer after childhood cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:270—8.
31. Bisogno G., Sotti G., Nowicki Y. et al. Soft tissue sarcoma as a second malignant neoplasm in the pediatric age group. *Cancer* 2004;100(8):1758—65.
32. Löning L., Zimmermann M., Reiter A. et al. Secondary neoplasms subsequent to Berlin-Frankfurt-Münster therapy of acute lymphoblastic leukemia in childhood: significantly lower risk without cranial radiotherapy. *Blood* 2000;95(9):2770—5.
33. Landmann E., Oschlies I., Zimmermann M. et al. Secondary non-Hodgkin lymphoma (NHL) in children and adolescents after childhood cancer other than NHL. *Br J Haematol* 2008;143(3):387—94.
34. Eguiguren J.M., Ribeiro R.C., Pui C.H. et al. Secondary non-Hodgkin's lymphoma after treatment for childhood cancer. *Leukemia* 1991;5(10):908—11.
35. Kony S.J., de Vathaire F., Chompret A. et al. Radiation and genetic factors in the risk of second malignant neoplasms after a first cancer in childhood. *Lancet* 1997;350(9071):91—5.
36. Hamilton S.R., Liu B., Parsons R.E. et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. *N Engl J Med* 1995;332(13):839—47.
37. Kleinerman R.A., Tucker M.A., Tarone R.E. et al. Risk of new cancers after radiotherapy in long-term survivors of retinoblastoma: an extended follow-up. *J Clin Oncol* 2005;23(10):2272—9.
38. Kleinerman R.A., Tucker M.A., Abramson D.H. et al. Risk of soft tissue sarcomas by individual subtype in survivors of hereditary retinoblastoma. *J Natl Cancer Inst* 2007;99(1):24—31.
39. Fletcher O., Easton D., Anderson K. et al. Lifetime risks of common cancers among retinoblastoma survivors. *J Natl Cancer Inst* 2004;96(5):357—63.
40. Draper G.J., Sanders B.M., Kingston J.E. Second primary neoplasms in patients with retinoblastoma. *Br J Cancer* 1986;53(5):661—71.
41. Smith L.M., Donaldson S.S., Egbert P.R. et al. Aggressive management of second primary tumors in survivors of hereditary retinoblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989;17(3):499—505.
42. Rubin C.Z., Rosenfield N.S., Abramson S.J. et al. The location and appearance of second malignancies in patients with bilateral retinoblastoma. *Sarcoma* 1997;1(2):89—93.
43. Gorlick R., Anderson P., Andrulis I. et al. Biology of childhood osteogenic sarcoma and potential targets for therapeutic development: meeting summary. *Clin Cancer Res* 2003;9(15):5442—53.
44. Савва Н.Н., Зборовская А.А., Алейникова О.В. Злокачественные новообразования у детей Республики Беларусь. Заболеваемость, выживаемость, смертность, паллиативная помощь. Минск, 2008. с. 82—111.

ХРОНИЧЕСКИЙ МИЕЛОЛЕЙКОЗ — ДО И ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИМАТИНИБА (часть II): ОБЗОР НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ И ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Е.Г. Ломаи, Н.С. Лазорко, Е. Саламатова, Е.Г. Романова, А.Ю. Зарицкий
*ГУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург;
 ФГУ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова*

Контакты: Екатерина Геннадьевна Романова katrin51297@mail.ru

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) — идеальная модель опухолевого заболевания для изучения патогенеза и эффективности патогенетически направленной терапии. Понадобилось почти полтора века с момента первого описания заболевания [1, 2], почти полвека после обнаружения филадельфийской хромосомы (Ph-хромосома) в клетках больных ХМЛ [3] и еще несколько десятилетий после выявления на Ph-хромосоме гена *BCR-ABL* с тирозинкиназной активностью [4, 5] до открытия иматиниба (ИМ) — препарата, ингибирующего тирозинкиназу (ТК) p210^{BCR-ABL} [6].

В многочисленных исследованиях уже подтверждена высокая эффективность не только

ИМ (Гливек® — «Новартис Фарма АГ», Швейцария), но и ингибиторов ТК (ИТК) p210^{BCR-ABL} новой генерации — нилотиниба (Тасigna — «Новартис Фарма АГ», Швейцария) и дазатиниба (Спрайсел® — «Бристоль Майерс Сквибб», США). Все эти препараты уже широко применяются в клинической практике. При этом ИМ признан препаратом 1-й линии терапии, а нилотиниб и дазатиниб используются у пациентов с резистентностью к ИМ или его непереносимостью.*

* Инструкции по медицинскому применению препаратов Тасigna (нилотиниб) и Спрайсел (дазатиниб).

Механизмы действия ИТК

ИМ. ИМ, конкурентно присоединяясь к АТФ-связывающему карману SH1 домена белка p210^{BCR-ABL}, блокирует ТК в ее неактивной конформации и предотвращает дальнейшую активацию ее субстратов [7–9]. Добавление ИМ в BCR-ABL(+)-, но не BCR-ABL(-)-культуру клеток резко угнетает их пролиферативную и повышает апоптотическую активность. Отмечено восстановление контакта клеток со стромой под воздействием ИМ, что, вероятно, связано с увеличением экспрессии хемокинового рецептора в CD34(+)-клетках пациентов с ХМЛ. Нутриенты очень важны для выживания лейкемических клеток. В эксперименте в Ph-позитивных клетках ИМ эффективно ингибировал транспорт глюкозы в клетку за счет уменьшения экспрессии GLUT1, обеспечивающего активный транспорт глюкозы, и индуцировал апоптоз лейкемических клеток [10–14]. Противоопухолевая активность ИМ позже была доказана на животных [15–17].

Наряду с p210^{BCR-ABL} препарат блокирует и другие ТК, такие как с-KIT (фактор стволовой клетки), PDGFR (рецептор фактора роста, выделяемого тромбоцитами), Fms и Arg [18–21]. Предполагается, что ингибирование иматинибом с-KIT и PDGFR-тирозинкиназ приводит к подавлению нормального гемопоэза и цитопениям, появлению периферических отеков, а также регрессу фиброза костного мозга [20, 22–25].

Показано, что под действием ИМ изменяется морфология костного мозга. Выявлено, что препарат резко подавляет клеточность костного мозга за счет снижения количества нейтрофильных гранулоцитов и мегакариоцитов. При этом наблюдалось увеличение числа эритроидных предшественников. В динамике на фоне терапии ИМ было отмечено уменьшение количества микрососудов в костном мозге и почти у 70% больных выявлен значительный регресс фиброза костного мозга. Уменьшение фиброза костного мозга было зафиксировано и в других исследованиях [26, 27].

Несмотря на то что ИМ блокирует и другие ТК, проведенные культуральные исследования и эксперименты на животных, а также использование препарата в клинической практике показали его высокую специфичность при минимальном действии на BCR-ABL-негативные клетки.

Нилотиниб. Целенаправленное изменение структуры метилпиперазинилового кольца ИМ значительно увеличило сродство препарата к АТФ-карману BCR-ABL [28]. Новая молекула была названа AMN107, а позже нилотинибом. Нилотиниб, как и ИМ, встраивается в АТФ-связывающий карман p210^{BCR-ABL} ТК в ее неактивной конформации и, блокируя его, предотвращает дальнейшую активацию сигнальных путей [29]. В исследованиях *in vitro* продемонстрирована су-

щественно более высокая чувствительность лейкемических клеток, экспрессирующих как дикий, так и мутированные виды гена *BCR-ABL* к нилотинибу по сравнению с ИМ. Исключение составили только клеточные линии, экспрессирующие мутантный ген *BCR-ABL*^{T315I} [30]. Нилотиниб активен в отношении как диких, так и некоторых мутантных видов ТК с-KIT и PDGFR [31, 32]. При этом, если ингибирующая активность нилотиниба в отношении BCR-ABL увеличилась в десятки раз, то интенсивность воздействия на с-KIT и PDGFR сравнима с ИМ, т.е. нилотиниб оказывает более избирательное действие на BCR-ABL-ТК [33].

Дазатиниб. Дазатиниб, подобно ИМ и нилотинибу, соединяется с АТФ-карманом *BCR-ABL*-ТК, но в отличие от последних способен связываться с ТК как в ее неактивной, так и активной конформации [34]. Однако влияет ли это на функциональную активность ИТК — не совсем ясно. Дазатиниб, как и нилотиниб, ингибирует большинство ИМ-резистентных клонов лейкемических клеток ХМЛ, кроме экспрессирующих *BCR-ABL*^{T315I} [35]. Препарат является двойным ингибитором ТК — ингибитором протеинов BCR-ABL и семейства Src (Hck, Lyn, Fyn). Src-протеины могут участвовать в передаче сигналов от BCR-ABL к белкам STAT, Akt [36, 37]. При бластном кризе (БК) ХМЛ выявлена гиперэкспрессия или активация белков Hck и Lyn. Более того, в экспериментах на животных для развития БК было необходимо присутствие Lyn, Hck и Fgr [38, 39]. Дазатиниб взаимодействует со многими ТК и нетирозинкиназными протеинами. Вследствие этого препарат считается менее специфичным в отношении BCR-ABL-ТК по сравнению с ИМ и особенно с нилотинибом. Воздействие на множество протеинов может обусловить, с одной стороны, более широкий токсический профиль препарата, а с другой — более высокую эффективность в продвинутых фазах ХМЛ по сравнению с ИМ и нилотинибом, когда задействованы иные механизмы, кроме *BCR-ABL* [40].

В исследованиях дазатиниб ингибировал рост как опухолевых, так и нормальных клеток путем их накопления в фазе G1/S клеточного цикла [41].

Фармакокинетика**и лекарственное взаимодействие ИТК**

ИМ. ИМ быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Биодоступность препарата высокая и достигает 98%. Время его полувыведения составляет 20 ч. После приема максимальная концентрация ИМ в плазме достигается через 2–4 ч. В исследованиях продемонстрировано, что при приеме препарата в дозе 400 мг 1 раз в день устойчивая пиковая концентрация в плазме составляет 2596 нг/мл, а средняя концентрация в плазме достигает 1216 нг/л. При приеме ИМ в дозе 400 мг/сут устойчивая концентрация

в плазме — $C_{\min}$ (минимальная концентрация препарата перед приемом новой дозы ИМ) на 29-й день терапии составила 979 (± 530) нг/мл [42]. $C_{\min}$ незначительно изменяется в зависимости от показателей массы тела и площади поверхности тела пациентов, а также от возраста. В то же время этот показатель был несколько выше у женщин по сравнению с мужчинами, что вероятнее всего объясняется разницей в массе их тела (в среднем масса тела мужчин была на 19% выше таковой у женщин), а не разным метаболизмом препарата. При высокой $C_{\min}$ (>2000 нг/мл) отмечено повышение частоты развития таких осложнений, как кожная сыпь, миалгии, задержка жидкости и анемия. Интересно, что наличие необычно высокой концентрации (около 3000 нг/мл) ИМ не всегда сопровождалось возникновением у больных значительной токсической реакции. Так, несмотря на то что у 2 из 6 пациентов терапию временно прерывали из-за развития осложнений, ни у кого из больных данной группы лечение ИМ полностью не прекращали. Более того, такие осложнения, как судороги, головные боли, кровотечения, боли в животе и диарея, чаще наблюдались у больных с низкой ($C_{\min} < 647$ нг/мл) по сравнению с высокой (1170) концентрацией препарата. Кроме того, частота случаев прекращения терапии ИМ из-за осложнений существенно не различалась в группах больных с низкой (<647 нг/мл), средней (647—1170) и высокой (>1170) $C_{\min}$ и составила соответственно 4,8% (4/87), 2,8% (5/178) и 7% (6/86). С другой стороны, в данном исследовании была выявлена связь между концентрацией ИМ и ответом на терапию. Так, $C_{\min}$ на 29-й день составила 1009 (± 544) и 812 (± 409) нг/мл в группах больных, достигших и не достигших полного цитогенетического ответа (ПЦО). В группе больных с высокой $C_{\min}$ на 29-й день (>1170 нг/мл) по сравнению с пациентами с более низким уровнем данного показателя (≤ 1170 нг/мл) вероятность достижения ПЦО и большого молекулярного ответа (БМО) была достоверно выше. В данном исследовании в мультивариантном анализе уровень концентрации ИМ и группа риска Sokal были наиболее значимыми предикторами достижения ПЦО [42]. Однако следует отметить, что из-за вариабельности экспрессии транспортных белков (h-OCT, белки семейства ABCG — MDR1) внутриклеточная концентрация ИМ может существенно отличаться от его уровня в плазме. Более того, экспрессия этих белков в нормальных и опухолевых клетках может быть разной. К сожалению, еще не разработаны методы определения концентрации ИМ именно в лейкоэмических клетках ХМЛ. Все это затрудняет трактовку полученных результатов и не позволяет менять тактику ведения пациента только на основании анализа концентрации ИМ в плазме крови. Даже чрезмер-

но высокая концентрация ИМ без осложнений не является поводом для снижения дозы ИМ и тем более его отмены, а низкая концентрация препарата при отсутствии резистентности не требует повышения его дозы.

ИМ метаболизируется в печени через цитохромы семейства P450 (CYP) в основном через CYP3A4, в меньшей степени через другие его изоформы, такие как CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9 и CYP2C19. Препараты, ингибирующие или индуцирующие цитохромы семейства P450, могут, соответственно, повысить или снизить концентрацию ИМ в плазме. Одновременный прием ИМ с ингибиторами цитохромов может увеличить риск возникновения токсических эффектов препарата, а сочетанный прием ИМ с индукторами цитохромов чреват снижением эффективности терапии. Некоторые изоформы цитохрома P450 (CYP3A4, CYP2C9, CYP2D6 и CYP3A4/5) являются субстратами ИМ, поэтому может увеличиться концентрация препаратов, подвергающихся метаболизму через эти ферменты. Грейпфрутовый сок является ингибитором P450 и, следовательно, может привести к повышению концентрации ИМ. Экстракты и настои зверобоя, являющиеся сильными индукторами P450, могут снизить концентрацию ИМ и, следовательно, его эффективность. Больные ХМЛ, получающие терапию ИМ, должны избегать приема этих средств [43].

Известно, что ИМ потенциально может удлинять интервал QT и по этой причине его применение с другими препаратами, влияющими на удлинение интервала QT, не рекомендовано [44, 45].

Сочетанное применение ацетаминофена (парацетамол) и ИМ может повысить риск развития тяжелого повреждения печени. Описаны единичные случаи гибели пациентов в связи с развитием тяжелого некроза печени при одновременном приеме ИМ и ацетаминофена [46].

В литературе нет четких сведений о влиянии алкоголя на всасывание или метаболизм ИМ. Тем не менее следует избегать одновременного приема алкоголя и ИМ из-за риска возникновения токсического гепатита и/или повреждения других органов.

Наряду с капсулами по 100 мг зарегистрированы таблетки гливека по 100 и 400 мг. Доказано, что биоэквивалентность, безопасность и переносимость капсул и таблеток гливека сопоставимы [47].

Несмотря на то что в настоящее время в некоторых странах появились генерики ИМ, их эффективность и безопасность в широкомасштабных клинических исследованиях не доказаны.

Нилотиниб. Пиковая концентрация нилотиниба достигается через 3 ч после его приема, период полувыведения составляет 17 ч. После однократного приема нилотиниба здоровыми добровольцами $> 90\%$ препарата элиминируется че-

рез 7 дней, в основном с фекалиями. Возраст, пол, масса тела, этническая принадлежность существенно не влияют на фармакокинетику нилотиниба. Устойчивая сывороточная концентрация препарата при его приеме в дозе 800 мг/сут однократно на 30% выше по сравнению с дозой 400 мг 2 раза в день. При повышении дозы до 1200 мг/сут дальнейшего увеличения концентрации препарата в сыворотке не отмечалось. Биодоступность нилотиниба существенно повышается при приеме препарата с пищей. Показано, что концентрация препарата при его приеме через 30 мин после употребления жирной пищи по сравнению с приемом натощак выше почти на 80%. В связи с этим рекомендованы прием препарата не раньше чем через 2 ч после еды и следующий прием пищи — не раньше чем через 1 ч после приема препарата. Важно соблюдать этот интервал между приемом пищи и препарата, сокращение его не рекомендовано из-за высокого риска неконтролируемого повышения концентрации препарата. При этом увеличение интервала между приемом препарата и пищи вполне допустимо. Например, возможен прием нилотиниба утром натощак, а прием пищи после вечерней его дозы вовсе необязателен [48—51].

Нилотиниб также является субстратом цитохрома P450 и, как и в случае с ИМ, ингибиторы фермента CYP3A4 могут повысить концентрацию нилотиниба, а его индукторы — снизить его уровень в сыворотке. Следовательно, необходимо избегать одновременного приема препаратов, метаболизирующихся через цитохромы печени, с нилотинибом. Грейпфруты и грейпфрутовый сок, являющиеся ингибиторами CYP3A4, должны быть исключены из рациона.

Капсула нилотиниба содержит лактозу, применение ее не рекомендуется при врожденной недостаточности лактазы или глюкозогалактозной мальабсорбции.

Нилотиниб — ингибитор ферментов CYP3A4, CYP2C8, CYP2D6, CYP22D6, UGT1A1. При одновременном применении с кетоконазолом концентрация нилотиниба повышалась в 3 раза. Данный показатель снижался на 80% при приеме нилотиниба с рифампицином [52, 53].

В отличие от ИМ уровень экспрессии белка h-OCT не влияет на внутриклеточную концентрацию препарата. В настоящее время не совсем ясно, является ли нилотиниб субстратом для P-гликопротеина. Противоречивые данные по этому поводу были получены в исследованиях С. Brendel и А. Davies [54—56].

Дазатиниб. Пиковая концентрация дазатиниба в плазме наблюдается через 0,5—6 ч после его приема. Время полувыведения препарата короткое и составляет всего 3—5 ч. В сосудистом русле > 90—96% препарата связывается с белками

плазмы. Выводится препарат преимущественно с калом. Исследования показали, что нет достоверных различий фармакокинетических характеристик дазатиниба в зависимости от пола и возраста, а также достоверных сведений о влиянии пищи на всасывание препарата. Прием дазатиниба рекомендован во время или сразу после еды. Исследования подтвердили сравнимую эффективность приема дазатиниба как в суточной дозе 100 и 140 мг, так и при приеме препарата однократно или 2 раза в день у больных в хронической фазе (ХФ) ХМЛ. Токсичность при приеме дазатиниба в высокой дозе и/или в режиме 2 раза в день была выше по сравнению с однократным приемом препарата в дозе 100 мг/сут. В связи с этим больным в ХФ ХМЛ рекомендовано принимать дазатиниб в дозе 100 мг/сут однократно: для пациентов в продвинутых фазах болезни — в фазе акселерации (ФА) и БК — стандартным считается прием препаратов в дозе 70 мг 2 раза в сутки [57, 58].

Методы определения концентрации нилотиниба или дазатиниба в плазме крови или в клетке пока не стандартизованы и в клинической практике не применяются. По-видимому, подобно нилотинибу, влияние транспортных белков h-OCT и MDR-1 на внутриклеточную концентрацию дазатиниба минимально [59]. Значимость определения их экспрессии в клинической практике у больных ХМЛ, получающих терапию ИТК, не установлена и используется только в рамках исследовательских работ.

Основным ферментом, ответственным за формирование активных метаболитов препарата, является цитохром CYP3A4, в образование последних вовлечены также флавиносодержащая монооксигеназа-3 (ФМОГ-3) и уридин дифосфат-глюкуронозилтрансфераза (UGT1A1). С другой стороны, в печеночных микросомах дазатиниб демонстрирует слабый ингибирующий эффект на CYP3A4 (в терапевтических концентрациях не ингибирует CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 и 2E1). Показано, что метаболиты дазатиниба играют незначительную роль в клинической активности препарата [58].

Использование индукторов CYP3A4 (дексаметазон, фенитаин, карбамазепин, рифампин, рифабутин, фенобарбитал) может приводить к снижению плазменной концентрации дазатиниба и должно быть ограничено. При необходимости совместного приема должно рассматриваться увеличение дозы дазатиниба. Ингибиторы CYP3A4 (кетоконазол, итраконазол, кларитромицин, атазанавир, индиновир, нефазодон, нелфинавир, ритонавир, саквинавир, телитромицин, вериконазол), наоборот, способны увеличивать плазменную концентрацию дазатиниба. Грейпфрутовый сок также способствует увеличению

плазменной концентрации дазатиниба. В случаях одновременного применения дазатиниба с сильными ингибиторами CYP3A4 должна обсуждаться редукция дозы (вплоть до 20 мг/сут). Если при этом возникают токсические эффекты, а отмена ингибитора CYP3A4 невозможна, необходимо временно прервать прием дазатиниба. После окончания лечения ингибитором CYP3A4 увеличение (возобновление) дозы дазатиниба возможно через неделю (средний период выведения ингибиторов CYP3A4) [58].

Показано, что при снижении pH желудка растворимость дазатиниба снижается. В связи с этим прием антагонистов H₂ и ингибиторов протонной помпы при терапии дазатинибом не рекомендуется, а при необходимости антациды должны приниматься за 2 ч от приема дазатиниба (до или после) [60].

Исследования *in vitro* показали, что применение дазатиниба может вызывать удлинение интер-

вала QT. В клинических исследованиях средние изменения интервала QT от базовой линии составили от 3 до 6 мс. Тем не менее дазатиниб должен назначаться с осторожностью пациентам, имеющим изменения интервала QT или вероятность их развития (больные с гипокалиемией, гипомagneмией, врожденным синдромом удлиненного QT, получающие антиаритмическую терапию или любые препараты, способные вызвать удлинение интервала QT, длительную высокодозную антрациклинами терапию). Гипокалиемия и гипомagneмия должны быть медикаментозно скорректированы перед назначением препарата.

Необходимо избегать также одновременного приема дазатиниба с антикоагулянтами и дезагрегантами. В исследованиях *in vitro* продемонстрировано снижение функциональной активности тромбоцитов под влиянием дазатиниба. У пациентов, получающих дазатиниб, а также при добавлении препарата в кровь здоровых доноров было выявлено

подавление агрегации тромбоцитов, схожее с действием аспирина (положительный тест с арахидоновой кислотой и эпинефрином). При этом изменений вторичного гемостаза не выявлено [61]. Очевидно, что совместное применение дазатиниба и антикоагулянтов или дезагрегантов может увеличить риск развития геморрагических осложнений.

Лекарственное взаимодействие ИТК с другими препаратами представлено в табл. 1.

Список сильных индукторов и ингибиторов P450, а также субстратов этих ферментов можно увидеть на сайте www.drug-interactions.com.

Список препаратов, удлиняющих QT, представлен на сайте www.QTdrugs.org.

Рекомендуется отмена сильных ингибиторов или индукторов цитохрома P450 на фоне терапии ИТК. В случае если их прием обязателен, может быть рассмотрен вопрос об изменении дозы ИТК. Решить вопрос о повышении или снижении дозы гливека при лекарственном взаимодействии целесообразно на основании измерения концентрации препарата в плазме. Однако при этом необходимо учитывать переносимость препарата, а также ответ на терапию.

Таблица 1. Возможные эффекты лекарственного взаимодействия ИТК

Препарат	ИМ	ИТК нилотиниб		дазатиниб
Ацетаминофен	Увеличение риска развития гепатотоксичности	—	—	
Антациды, антагонисты H ₂ и ингибиторы протонной помпы	—	—	Растворимость дазатиниба снижается при подавлении рН желудка. Рекомендуется прием антацидов за 2 или через 2 ч после применения препарата. Прием антагонистов H ₂ и ингибиторов протонной помпы не рекомендуется	
Ингибиторы CYP450 3A4	Повышение концентрации ИТК			
Индукторы CYP450 3A4	Снижение концентрации ИТК			
Препараты, являющиеся субстратом CYP3A4	ИМ ингибирует CYP3A4 и повышает концентрацию его субстратов	—	—	
Ингибиторы Р-гликопротеина	Повышение концентрации	Возможно повышение концентрации	Не влияет	
Грейпфрутовый сок	Повышение концентрации ИТК			
Экстракты и настои зверобоя	Снижение концентрации ИТК			
Препараты, удлиняющие QT	Высокий риск удлинения QT			
Антикоагулянты и дезагреганты	—	—	Повышение риска возникновения кровотечений	

Лечебные дозы ИТК

ИМ. Согласно международным рекомендациям ELN и NCCN*, начальная суточная доза для пациентов в ХФ ХМЛ составляет 400, в ФА и БК — 600 мг. Доза препарата при возникновении нежелательных явлений (НЯ) снижается поэтапно до минимально лечебной — 300 мг/сут, а при недостаточном или субоптимальном ответе на терапию (табл. 2) — повышается до 600–800 мг/сут. Доза препарата не регулируется в зависимости от возраста и массы тела пациента. Нет четких данных о необходимости начала терапии ИМ в сниженных дозах у больных с тяжелыми поражениями печени или почек, в том числе у пациентов, находящихся на гемодиализе. В этих группах больных необходим тщательный контроль функции печени и почек с коррекцией дозы ИМ при возникновении токсических эффектов, связанных с приемом препарата.

Нилотиниб. Начальная доза препарата 400 мг 2 раза в сутки. Принимается препарат примерно через каждые 12 ч. При возникновении токсических эффектов доза снижается до 400 мг однократно. В случае развития резистентности доза нилотиниба не повышается. Необходимо четкое соблюдение интервала между приемом препарата и пищи. Уменьшение данного интервала чревато повышением концентрации нилотиниба в плазме и высоким риском развития токсических эффектов препарата. У больных, резистентных к дозе нилотиниба 800 мг, показана хорошая переносимость препарата и вероятность достижения ПЦО после повышения его дозы до 1200 мг [62]. Однако на сегодняшний день для применения в рутинной клинической практике такое увеличение дозы препарата не рекомендовано.

Дазатиниб. Рекомендуемая доза дазатиниба в ХФ составляет 100 мг в день однократно утром или вечером. В ФА и БК препарат назначается в дозе 140 мг/сут — двукратный прием 70 мг утром и вечером. Дазатиниб принимается независимо от приема пищи.

Лечебные дозы ИМ и других ИТК представлены в табл. 2.

* ELN (European Leukemia Net) — европейская сеть по лечению лейкозов. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) — национальная онкологическая сеть.

Безопасность и переносимость

ИМ. Первые клинические исследования ИМ продемонстрировали его хорошую переносимость и высокую безопасность. Рутинная клиническая практика подтвердила, что тяжелые осложнения встречаются редко. У подавляющего большинства пациентов терапия проводится амбулаторно. Как правило, осложнения, связанные с ИМ, возникают в течение первых недель и месяцев терапии, а вероятность их появления после первого года терапии крайне низкая.

НЯ на фоне терапии ИМ делят на гематологические, т.е. цитопении, и негематологические. Миелосупрессия, возникающая на фоне терапии ИМ, может быть как результатом резкого уменьшения опухолевого клона, так и следствием ингибирования с-KIT- и PDGFR-TK [63]. Частота развития цитопений выше в поздней по сравнению с ранней ХФ и особенно высока в ФА и БК [64]. Вероятно, это объясняется постепенным снижением количества резидуальных Ph-негативных стволовых клеток у больных по мере развития ХМЛ, особенно в продвинутых фазах болезни. Продолжительные глубокие цитопении редко возникают у больных в ранней ХФ [26]. Частота развития цитопений у больных в разных фазах ХМЛ и на разных дозах ИМ в ХФ представлена в табл. 3.

Нетяжелая (I–II степени) негематологическая токсичность в группе пациентов в ХФ встречается часто, но эти осложнения легко купируются симптоматической терапией. В исследовании IRIS** наиболее частыми негематологическими НЯ легкой и средней степени тяжести были периферические отеки (60%), мышечные судороги (49%), диарея (45%), тошнота (50%), миалгии и оссалгии (47%), кожная сыпь (40%), боли в животе (37%), слабость (39%), артралгии (31%), головные боли (37%). Частота возникновения тяжелых негематологических НЯ составила 17%. При этом гепатотоксичность III–IV степени наблюдалась всего у 5% пациентов. Несмотря на то

** IRIS — международное рандомизированное клиническое исследование ИМ у больных в ХФ ХМЛ (сравнение эффективности ИМ и интерферона-α у больных с впервые диагностированным ХМЛ в ХФ).

Таблица 2. Лечебные дозы ИТК

Препарат	Исходная доза, мг/сут		Уровни доз Все фазы
	ХФ	ФА/БК	
ИМ	400	600	300 ↔ 400 ↔ 600 ↔ 800 мг (300–600 мг — прием 1 раз в сутки, 800 мг — 2 раза в сутки по 400 мг каждые 12 ч). Препарат принимают после еды
Нилотиниб	800		400 ↔ 800 мг (400 мг 1 раз в сутки, 800 мг — 2 раза в сутки по 400 мг каждые 12 ч). Препарат принимают через 2 ч после еды и еще 1 ч не рекомендован прием пищи)
Дазатиниб	100	140	70–80 ↔ 100 ↔ 140 ↔ 180–200 мг (70–100 мг принимается однократно после еды, 140–200 мг — в 2 приема каждые 12 ч)

Таблица 3. Частота встречаемости миелосупрессии тяжелых степеней в зависимости от фазы ХМЛ и дозы ИМ в ХФ ХМЛ [65, 66]

Показатель	нейтропения		Частота, % тромбоцитопения Степень		анемия	
	III	IV	III	IV	III	IV
Фаза ХМЛ: ранняя ХФ поздняя ХФ	11	2	7	<1	3	<1
	25	8	16	<1	4	<1
ФА	33	36	31	13	34	6
БК	16	48	29	33	41	11
Доза ИМ (ХФ), мг:						
	400	20	12		4	
	800	36	25		10	

что задержка жидкости тяжелой степени (периферические отеки, отек легких, асцит, выпот в плевральную полость) встречается крайне редко (<2,5% случаев), больным должен быть рекомендован регулярный контроль массы тела. При резком ее увеличении необходимо тщательное обследование пациента для исключения задержки жидкости и подбора адекватной симптоматической терапии.

В исследовании IRIS сердечная недостаточность, обусловленная приемом ИМ, была описана только у 1 (<1%) пациента. В целом в данном исследовании при медиане наблюдения 60 мес всего 4% больных прекратили терапию ИМ из-за возникновения НЯ, связанных с приемом препарата.

Как правило, НЯ возникали в течение первых недель терапии. Частота возникновения гематологических и негематологических НЯ III–IV степени в зависимости от сроков проведения терапии ИМ представлена в табл. 4.

Известны редкие случаи намеренной или случайной передозировки ИМ (разовая доза до 6400 мг) [67]. В случае передозировки препарата показано проведение симптоматической и дезинтоксикационной инфузионной терапии, мониторингирование сердечной деятельности, коррекция уровня электролитов. Кроме того, описаны слу-

чай развития очень редких осложнений, таких как гинекомастия [68], обострение хронического гепатита В, возникновение витилиго [69], эритродермии [70], обострение псориаза [71], развитие гемолитической анемии [72, 73].

Нилотиниб. Так же как и при лечении ИМ, наиболее частыми осложнениями терапии нилотинибом являются нейтропения и тромбоцитопения. Реже возникают негематологические токсические эффекты, которые обычно спонтанно регрессируют после кратковременной отмены

препарата. Как и ожидалось, осложнения возникали реже у больных, получающих терапию нилотинибом в качестве 1-й линии [74].

На фоне терапии нилотинибом у части пациентов выявляется гипербилирубинемия за счет непрямой фракции. В исследовании J. Kantarjian и соавт. [74] у 50% больных с изолированной гипербилирубинемией за счет непрямой фракции выявлен полиморфизм гена *UGT1A1* — в основном генотип (TA)7/(TA)7, который характерен для синдрома Жильбера [75]. Частота возникновения токсических реакций у больных ХМЛ на фоне терапии нилотинибом представлена в табл. 5, 6 [76, 77].

Исследования показали, что нилотиниб может потенциально удлинять реполяризацию желудочков. Известно, что удлинение интервала QT иногда приводит к возникновению желудочковой тахикардии по типу Torsade de Pointes, синкопальных состояний, судорог и смерти. Частота удлинения интервала QT на фоне терапии нилотинибом представлена в табл. 7 [76, 78].

В исследовании ENACT описаны 4 случая (<0,3%, n=1381) внезапной смерти у пациентов. При этом в 2 случаях диагностирован острый инфаркт миокарда, в остальных — причина развития острой сердечной недостаточности не установле-

Таблица 4. Гематологические и негематологические НЯ III–IV степени у больных, получающих терапию ИМ в исследовании IRIS

Вид цитопении	за все годы (n=551)	Частота		
		до 2 лет терапии (n=551)	3–4-й годы терапии (n=456)	после 4 лет терапии
Нейтропения, %	17	14	3	1
Тромбоцитопения, %	9	8	1	<1
Анемия, %	4	3	1	<1
Повышение ферментов печени, %	5	5	<1	0
Другие негематологические осложнения, %	17	14	4	2

на. У всех больных в анамнезе были заболевания сердца. При последней ЭКГ интервал QT у них не превышал 460 мс. На момент смерти у 2 пациентов терапия нилотинибом была прекращена за 4 и 8 дней. Длительность предшествующей терапии нилотинибом составила 49 и 430 дней соответственно. Один из этих больных после отмены нилотиниба получал терапию дазатинибом. Таким образом, четкой связи смерти данных пациентов с увеличением интервала QT на фоне нилотиниба не зафиксировано [79].

До назначения нилотиниба рекомендуется осуществлять тщательный контроль уровня электролитов. Гипокалиемия, гипомагниемия должны быть откорректированы перед началом терапии. Противопоказан одновременный прием лекарственных средств, удлиняющих QT , и препаратов-ингибиторов CYP3A4, увеличивающих концентрацию нилотиниба. Целесообразно выполнение ЭКГ до начала терапии и через 7 дней после него и далее по клиническим показаниям.

Интересно, что, несмотря на структурную схожесть и идентичность механизмов действия нилотиниба и ИМ, перекрестная непереносимость при лечении этими препаратами не выявлена. В исследовании J. Cortes и соавт. [80] всего у 2 (3%) больных из 71, ранее прекративших лечение ИМ в связи с негематологической токсичностью, возникли те же осложнения (III–IV степени) на фоне нилотиниба. Как и ожидалось, частота развития гематологических токсических осложнений на терапии нилотинибом у больных, ранее прекративших терапию ИМ из-за развития цитопений, была выше. Медиана дозы препарата составила 725,8 и 768,8 мг в день в ХФ и ФА соответственно. Данные о перекрестной токсичности между ИМ и нилотинибом представлены в табл. 8.

Несмотря на то что цитопении возникали часто, терапию нилотинибом из-за миелосупрессии прекращали редко у больных с гематологической непереносимостью ИМ. Глубокие рецидивирующие цитопении (в основном тромбоцитопении) были причиной отказа от продолжения терапии нилотинибом всего у 7 (7%) из 95 больных, ранее также прервавших лечение ИМ из-за развития гематологической токсичности [81].

При применении нилотиниба в качестве ИТК 3-й линии (после ИМ и дазатиниба) увеличения токсичности не наблюдалось. В данной группе пациентов частота развития как гематологических, так и негематологических осложнений была сравнима с токсичностью у больных, получающих терапию нилотинибом после ИМ во 2-й линии терапии [82].

Дазатиниб. Наиболее распространенными осложнениями терапии дазатинибом, так же как и другими ИТК, были цитопении, особенно

Таблица 5. Осложнения на терапии нилотинибом в дозе 800 мг/сут у больных в ХФ и ФА с резистентностью или непереносимостью ИМ

Осложнение	Частота, %			
	ХФ		ФА	
	все	Степень III–IV	все	III–IV
Сыпь	30	2	21	0
Кожный зуд	25	<1	18	0
Головная боль	18	2	9	<1
Запоры	12	0	10	0
Тошнота	24	<1	10	<1
Слабость	20	1	10	<1
Диарея	12	2	9	<1
Рвота	12	<1	НД*	НД

*НД — нет данных.

Таблица 6. Показатели биохимических анализов крови больных в ХФ и ФА на терапии нилотинибом, предлеченных ИМ

Осложнение	Частота, %	
	ХФ	ФА
АЛТ	4	3
АСТ	2	2
Общий билирубин	8	8
Креатинин	1	<1
Гипокальциемия	1	5
Гипомагниемия	<1	0
Гипофосфатемия	14	12
Повышение липазы	15	16
Гипергликемия	13	5

Примечание. АЛТ — аланинаминотрансфераза, АСТ — аспаратаминотрансфераза.

Таблица 7. Частота удлинения QT у больных в ХФ и ФА на фоне терапии нилотинибом

Удлинение интервала QT , мс	Частота, %			
	ХФ		ФА	
	фаза II	ENACT*	фаза II	ENACT
>60 по сравнению с базовым уровнем	2,5	<1	5,1	1,6
>500	<1	0	0	0

*ENACT — Expanding Nilotinib access in clinical trials.

Таблица 8. Перекрестная токсичность между ИМ и нилотинибом

Вид непереносимости ИМ	в ХФ с непереносимостью ИМ (n=94)		Число больных ХМЛ в ФА с непереносимостью ИМ (n=24)		всего в ХФ и ФА с токсичностью при приеме нилотиниба
	непереносимость ИМ	токсичность III—IV степени при приеме нилотиниба	непереносимость ИМ	токсичность III—IV степени при приеме нилотиниба	
Негематологическая:	56	2	15	0	2/71 (3)*
кожная сыпь	26	0	5	0	0/31 (0)
задержка жидкости	17	0	5	0	0/22 (0)
ЖКТ-осложнения:	16	1	1	0	1/17 (5,9)
гепатотоксичность	10	1	3	0	1/13 (7,7)
повышение АЛТ	4	0	1	0	0/5 (0)
повышение АСТ	4	1	0	0	1/4 (25)
Миалгии/артралгии	9	0	2	0	0/11 (0)
Гематологическая:	29	16	8	3	19/37 (51)
тромбоцитопения	24	13	5	1	14/29 (48)
нейтропения	8	4	3	2	6/11 (54,5)
анемия	2	1	1	0	1/3 (33)

*В скобках представлен процент больных.

в ФА/БК. Частота возникновения цитопений в ХФ и ФА у больных, предлеченных ИМ, показана в табл. 9.

Прием дазатиниба ассоциирован с задержкой жидкости. Перикардальный выпот, асцит, анасарка, а также отек легких наблюдались в 1% случаев каждый. Чаше выявляли выпот в плевральную полость. При этом с уменьшением суточной дозы дазатиниба со 140 до 100 мг частота возникновения негематологических токсических эффектов, в том числе выпота в плевральную полость, также снижалась. Кроме того, однократный режим приема дазатиниба также снижал риск возникновения токсических реакций. Так, у больных в ХФ применение дазатиниба по 70 мг 2 раза в сутки по сравнению с дозой 100 мг однократно гораздо реже приводило к развитию плеврального выпота любой степени (16 и 7%, $p=0,024$) и тромбоцитопении III—IV степени (37 и 22%, $p=0,004$) [86].

Частота возникновения выпота в плевральную полость у больных ХМЛ на терапии дазатинибом в зависимости от фазы ХМЛ, суточной дозы и режима приема препарата представлена в табл. 10. Механизм развития этого осложнения до конца не ясен. Возможно, играет роль подавление дазатинибом PDGFR-ТК, которая экспрессируется в перидитах и участвует в ангиогенезе [87]. Как правило, возникновение плеврального выпота не коррелирует с генерализованной задержкой жидкости, но достоверно часто встречается у пациентов с аутоиммунными заболеваниями в анамнезе. Кроме того, в пользу аутоиммунного генеза заболевания могут свидетельствовать также характер выпота (экссудат) и эффект терапии глюкокортикоидами. Еще одно доказательство иммунного характера изменений — выявление повышенного числа лимфо-

цитов в плевральном выпоте. ТК ТЕК и ВТК, являющиеся мишенями для действия дазатиниба, вовлечены в сигнальные пути Т- и В-лимфоцитов, также экспрессированы в эндотелиальных, тучных клетках и клетках легких, и их подавление может быть причиной развития выпота в плевру [40, 88]. С другой стороны, обнаружено подавление иммуноглобулин-Е-опосредованной активации базофилов и секреции гистамина в исследовании *in vitro* [89]. Также было показано резкое подавление антиген-специфической функции Т-лимфоцитов. Выявлено, что дазатиниб ингибировал пролиферацию, активацию, продукцию цитокинов и дегрануляцию Т-клеток. При этом CD4⁺ по сравнению с CD8⁺ и наивные Т-клетки по сравнению с Т-клетками памяти оказались более чувствительными к препарату. Все это может снизить иммуномодулирующую активность Т-клеток, необходимых для подавления опухолей и внутриклеточных инфекций. Известно, что дазатиниб разрабатывался в качестве иммунодепрессанта при аутоиммунных заболеваниях, а также для подавления реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [90]. В связи с этим из-за вероятности подавления реакции «трансплантат против лейкоза» широкое применение дазатиниба после использования немиелоаблативных режимов алло-ТГСК для профилактики рецидива ХМЛ нецелесообразно. Необходимо принимать во внимание и вероятность активации вируса гепатита, цитомегаловируса, герпес-вирусов. При этом, несмотря на то что Src-киназы играют существенную роль в репликации вируса простого герпеса, точных данных об их влиянии на репликацию других вирусов еще не получено [91—93].

Установлено, что при приеме препарата 100 мг/сут однократно достигается наименьший уровень $C_{\min}$ (2,69 нг/мл) по сравнению с другими дозировками ($>3,86$ нг/мл). Исследования показали, что вероятность возникновения плеврального выпота была существенно ниже при $C_{\min} < 2,5$ нг/мл по сравнению с более высоким его уровнем. При этом разницы в частоте достижения большого цитогенетического ответа (БЦГО) у пациентов в этих группах не выявлено [95].

Наряду с выпотом в плевральную полость встречается и поражение легких. В исследовании A. Vargeron и соавт. [96] у 9 (22,5%) из 40 больных, получающих дазатиниб по 70 мг 2 раза в день, выявлялись диспноэ, кашель, боль в грудной клетке. У 6 из них обнаружен плевральный выпот и у 7 — паренхиматозное поражение легких. При этом у 4 больных были выявлены одновременно оба поражения. Лимфоцитоз выявлялся в плевральном выпоте и содержимом бронхоальвеолярного лаважа у всех больных, кроме одного, а также у половины пациентов в биоптате плевры. После перерыва в терапии дазатинибом и снижения дозы препарата у 3 из 4 больных рецидива плеврального выпота и поражения легких не наблюдалось.

Тяжелые геморрагические осложнения возникали нечасто и в основном на фоне глубокой тромбоцитопении. В исследовании A. Quintas-Cardama и соавт. кровотечения разной степени тяжести отмечены у 23% больных. При этом кровотечения I, II и III степени встречались в 5, 12 и 7% случаев соответственно. Медиана времени возникновения кровотечений от момента начала терапии дазатинибом составила 6 (0,5—38) нед. У 69% больных геморрагические осложнения возникли в течение первых 3 мес терапии. Ни у кого из пациентов не выявлено нарушений вторичного звена гемостаза, у 37% — кровотечения возникли при уровне тромбоцитов $>100 \times 10^9/\text{л}$. Как и в случае с плевральным выпотом, кровотечения встречались только при приеме препарата в дозе ≥ 140 мг в день (100%) и достоверно реже при однократном (12%) применении по сравнению с двухразовым приемом (88%). При этом у большинства

Таблица 9. Наиболее характерные осложнения на терапии нилотинибом и дазатинибом [74, 83—85]

Вид токсичности	Нилотиниб	Дазатиниб
Цитопении:		
III—IV степени в ХФ у больных, предлеченных ИМ, %:		
анемия	7,9 (5,3—9,9)	18 (9—20)
нейтропения	28,3 (13,1—33,1)	49 (36,4—58)
тромбоцитопения	28,5 (19,9—32,9)	48 (35—54)
III—IV степени и выпот в плевральную полость в ХФ у больных, получающих ИТК в качестве 1-й линии, %:		
анемия	Н/д*	5
нейтропения	7	11
тромбоцитопения	3	11
выпот в плевральную полость (все степени) в ФА у больных, предлеченных ИМ:	—	14
анемия	22,9 (13,5—30,4)	70 (67,3—80)
нейтропения	37,1 (14,7—43,8)	74 (71—81,8)
тромбоцитопения	37,4 (28,0—39,4)	83 (79,4—83)
Выпот в полость плевры, %	Н/д*	14%
Пневмонии, %	4,2 (4,2—5,6)	8 (3,4—8)
Гипербилирубинемия, %	6	Н/д
Увеличение липазы/панкреатиты, %	9	Н/д
Повышение амилазы	$<1\%$	Н/д
Желудочно-кишечные кровотечения, %	1,5 (1,1—1,5)	12 (0—12)
Диарея, %	1,7	10
Удлинение интервала QT	<1	<1
Гипергликемия, %	5—13%	Н/д

*Н/д — нет данных.

больных имело место кровотечение из ЖКТ (82%), гораздо реже встречались носовые (3%), десневые (11%) и маточные (5%) кровотечения. При биопсии слизистой ЖКТ почти у половины пациентов обнаружены криптит и апоптоз эпителия кишечника [97—99].

Таблица 10. Частота возникновения выпота в плевральную полость у больных ХМЛ на терапии дазатинибом [94]

Признак	Все степени	III—IV степень
Все	35	17
Фаза ХМЛ:		
ХФ	29	12
ФА	50	28
БК	32,5	15
Доза, мг/сут:		
>140	44,5	11
140	38	18,5
100	27	23
<100	32	0
Режим:		
1 раз в день	32	8
2 раза в день		20

В клинических исследованиях серьезные желудочно-кишечные кровотечения были зарегистрированы в 4% случаев, а тяжелые геморрагические инсульты наблюдались у 1% больных [58].

Осложнения на фоне терапии дазатинибом у больных с впервые установленным диагнозом ХМЛ встречались реже, особенно у пациентов, получающих дазатиниб в качестве 1-й линии терапии. Частота развития анемии, нейтропении и тромбоцитопении в этой группе пациентов составила 5, 11 и 11% соответственно. Среди негематологических токсических реакций наиболее часто выявлялся выпот в плевральную полость (14% — все степени) [85].

Следует также помнить о том, что если цитопении возникают уже в течение первых недель терапии, плевральный выпот и инфильтративные изменения в легких могут появиться отсроченно. Описаны случаи возникновения этих изменений и после нескольких лет терапии дазатинибом. Несмотря на частое появление плеврального выпота у больных, особенно получающих дазатиниб в высоких дозах, перерыв в приеме препарата, адекватная симптоматическая терапия вплоть до глюкокортикоидов и плеврального дренажа в тяжелых случаях, как правило, приводят к быстрому регрессу симптомов. У большинства пациентов после снижения дозы препарата рецидив плеврального выпота возникает редко.

Тактика ведения при осложнениях терапии ИТК*

В табл. 11—15 представлены рекомендации по ведению пациентов с ХМЛ при возникновении гематологической и/или негематологической токсичности при терапии ИТК.

Фертильность и деторождение

ИМ. Препарат не обладает мутагенными свойствами. Однако исследования на животных показали, что ИМ присуща тератогенность и, следовательно, его применение во время беременности может привести к повреждению плода. Недавно проведенное исследование показывает высокий риск применения ИМ во время беременности. Из 125 женщин, у которых беременность наступила на фоне терапии ИМ, спонтанный выкидыш наблюдался у 18, медицинский аборт выполнен еще у 35 (в 3 случаях были выявлены дефекты плода) больных. Беременность к моменту публикации статьи не разрешена у 1 пациентки (по данным УЗИ обнаружен дефект плода), 8 женщин родили детей с разными аномалиями, у 68 детей какой-либо патологии не отмечено. В целом в 12 (10%) из 125 случаев наблюдалась патология плода, часто множественная (менингоцеле, гипоспадия, полидактилия, гипоплазия головного мозга, патология почек, легких, сердца, скелета, пупочная грыжа и др.) [101].

* Предлагаемые рекомендации сделаны на основании международных рекомендаций ELN и NCCN по лечению ХМЛ.

Таблица 11. Тактика ведения пациента в ХФ ХМЛ при развитии гематологической токсичности на терапии ИТК

Осложнение, степень	ИМ	Тактика нилотиниб	дазатиниб
Анемия любой степени	— Отмена препарата или изменение его дозы не показаны — Исключить другие причины анемии (кровотечение, гемолиз и т.д.)*		
Нейтропения и/или тромбоцитопения: I—II степени АЧН $\geq 1 \times 10^9/\text{л}$ Тромбоциты $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$	Продолжить терапию в прежней дозе		
III—IV степени АЧН $< 1 \times 10^9/\text{л}$ Тромбоциты $< 50 \times 10^9/\text{л}$	— Прекращение терапии — Контроль клинического анализа крови 1—2 раза в неделю — Возобновление приема препарата при уровне АЧН $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$ и/или тромбоцитов $\geq 75 \times 10^9/\text{л}$ в прежней дозе, если нейтропения и/или тромбоцитопения III—IV степени сохранялись ≤ 2 нед, или снижение дозы до предыдущего уровня, но не < 300 мг, если нейтропения и/или тромбоцитопения III—IV степени продолжалась > 2 нед	— Прекращение терапии — Контроль клинического анализа крови 1—2 раза в неделю — Возобновление приема препарата при уровне АЧН $\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$ и/или тромбоцитов $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ в прежней дозе, если нейтропения и/или тромбоцитопения III—IV степени сохранялись ≤ 7 дней, или снижение дозы до предыдущего уровня, если нейтропения и/или тромбоцитопения IV степени продолжались > 7 дней	— Прекращение терапии — Контроль клинического анализа крови 1—2 раза в неделю — Возобновление приема препарата при уровне АЧН $\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$ и/или тромбоцитов $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ в прежней дозе, если нейтропения и/или тромбоцитопения III—IV степени сохранялись ≤ 2 нед, или снижение дозы до предыдущего уровня, если нейтропения и/или тромбоцитопения III—IV степени продолжались > 2 нед

Примечание: * Применение эритропоэтина хотя и может быть эффективным, при миелопролиферативных заболеваниях не рекомендуется.

АЧН — абсолютное число нейтрофилов. Применение колониестимулирующих факторов (КСФ) рекомендуется при повторных и/или затяжных нейтропениях, а также у пациентов с высоким риском прогрессии ХМЛ и/или инфекционных осложнений.

Таблица 12. Тактика ведения пациента в ФА/БК ХМЛ при развитии гематологической токсичности на терапии ИТК

Осложнение, степень	ИМ	Тактика нилотиниб	дазатиниб
Анемия любой степени	— Так же как при ХФ ХМЛ		
Нейтропения и/или тромбоцитопения любой степени	— Может быть связана с ХМЛ, а не с токсическим эффектом ИТК. — При цитопении любой степени, связанной с ХМЛ, продолжать терапию ИТК в прежней дозе или увеличить его дозу до следующего уровня. — Если цитопения является осложнением ИТК, тактика ведения пациента представлена ниже		
Нейтропения и/или тромбоцитопения, связанные с токсическим эффектом ИТК I—II степени АЧН $\geq 1 \times 10^9/\text{л}$ Тромбоциты $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$	Продолжить терапию в той же дозе		
III—IV степени АЧН $< 1 \times 10^9/\text{л}$ Тромбоциты $< 50 \times 10^9/\text{л}$	Контроль клинического анализа крови 1—2 раза в неделю. — Если цитопения III—IV степени сохраняется > 2 нед, продолжить прием препарата в той же дозе или снизить его дозу до предыдущего уровня. — Если цитопения III—IV степени продолжается > 4 нед, необходимо выполнить пункцию костного мозга. При наличии $\geq 5\%$ бластных клеток при гиперклеточности костного мозга — продолжить терапию в той же дозе или увеличить дозу препарата до следующего уровня. При выявлении $< 5\%$ бластных клеток и/или снижении клеточности в костном мозге — прервать терапию и возобновить прием препарата после восстановления уровня АЧН $\geq 1 \times 10^9/\text{л}$ и/или тромбоцитов $\geq 20 \times 10^9/\text{л}$ в сниженной до предыдущего уровня дозе		

Примечание. При нейтропении, не обусловленной ХМЛ, рекомендуется применение КСФ. Применение эритропоэтина хотя и может быть эффективно при анемии, но не рекомендуется при хронических миелопролиферативных заболеваниях [100].

Показано, что ИМ не проникает через плаценту. Вероятно, этим объясняется отсутствие патологии плода при приеме препарата со II триместра беременности [102].

При назначении терапии ИМ пациенткам детородного возраста с помощью гинеколога должен быть подобран оптимальный метод контрацепции. Предпочтение следует отдать барьерным методам контрацепции. Абсолютных противопоказаний к применению гормональных контрацептивов нет, однако их сочетанное использование с ИМ может увеличить риск развития гепатотоксичности. В связи с этим при назначении больным ХМА на лечении ИТК гормональных контрацептивов необходимо более тщательное наблюдение за показателями печеночных функций.

В случае наступления незапланированной беременности и нежелания пациентки ее прервать, а также при планировании беременности терапия ИМ должна быть прекращена. Во всех случаях больную необходимо обязательно предупредить о высоком риске прогрессирования болезни при перерыве терапии ИМ. Установлено, что после отмены ИМ даже у пациенток с длительным полным молекулярным ответом — ПМО (> 2 лет) вероятность развития рецидива ХМЛ высокая — до 50%. При этом у большинства больных рецидивы возникали в течение 6 мес после прекращения терапии ИМ и почти во всех случаях при возобновлении терапии ИМ удавалось повторно добиться ПМО [103].

Планирование беременности желательно не ранее чем через 2 года после достижения длительного и стабильного БМО/ПМО. Необходимо обследование пациентки гинекологом для оценки состояния фертильности. Вероятно, достаточно прекращения терапии ИМ за 7—10 дней (выведение препарата из организма) до начала попыток зачать ребенка. Необходимо прекратить лечение ИМ в течение I триместра беременности. По всей вероятности со II триместра беременности возможно возобновить терапию ИМ, так как препарат плохо проникает через плаценту. Тем не менее данных о безопасности препарата во II и III триместрах беременности крайне мало, поэтому в рутинной клинической практике отмена ИМ должна быть рекомендована в течение всего периода беременности. Количественное исследование BCR-ABL полимеразной цепной реакции во время беременности рекомендовано проводить 1 раз в месяц. Больным со стабильным БМО и/или ПМО показано наблюдение. При появлении признаков только молекулярной прогрессии целесообразно продолжить наблюдение и выполнить контрольный цитогенетический анализ. При возникновении цитогенетической прогрессии без утраты полного гематологического ответа (ПГО) — продолжить наблюдение или решить вопрос о терапии препаратами интерферона- α (ИФН- α), а в случае утраты и ПГО — терапию гидроксимочевинной, препаратами ИФН- α и/или проведение лейкоцитофереза. Следует отметить, что данные о влиянии препаратов ИФН- α на

Таблица 13. Тактика ведения пациента с ХМЛ при возникновении токсических негематологических осложнений при лечении ИТК

Осложнение	Симптоматическая терапия
Тошнота	Антиэметики
Рвота	— Прием ИМ с самой большой порцией пищи и большим стаканом воды, разделение дозы 800 мг/сут на 2 приема. — Прием дазатиниба с пищей и большим стаканом воды
Диарея	Антидиарейные средства
Отеки и задержка жидкости (периферические, периорбитальные, асцит, плевральный выпот, перикардиальный выпот)	— Симптоматическая терапия (диуретики, снижение потребления поваренной соли) — Контроль функции почек — Контроль уровня альбумина — При периорбитальных отеках применять локально мази с фенилэфедрином или глюкокортикоидами — ЭхоКГ для оценки ФВ — При выпотах в плевральную полость или полость перикарда II—IV степени — диуретики, глюкокортикоиды, а при их неэффективности — плевральная пункция/дренаж, аспирация плевральной жидкости и ее исследование для исключения специфического поражения при БК, инфекции, других опухолей. Рентгенография, КТ органов грудной клетки и/или ЭхоКГ для оценки динамики уровня выпота в плевру и/или перикард
Судороги	— Контроль уровня кальция, магния и калия в сыворотке крови — Препараты кальция и магния; тонизирующая вода; НПВП
Артралгии, миалгии, головные боли	НПВП, анальгетики
Кожная сыпь	Антигистаминные средства и/или местно глюкокортикоиды, при их неэффективности или токсидермии III—IV степени — системные глюкокортикоиды в сочетании с антигистаминными препаратами
Панкреатит	Контроль уровня липазы, амилазы, глюкозы 1—2 раза в неделю, симптоматическая терапия
Одышка	— Рентгенография органов грудной клетки (исключить выпот в плевральную или перикардиальную полости, особенно при терапии дазатинибом; исключить интерстициальный пневмонит или пульмонит, особенно при терапии ИМ) — ЭхоКГ с оценкой ФВ
Негематологическая токсичность, связанная с приемом ИТК (кроме гепатотоксичности): I—II степени	— Продолжить прием препарата в прежней дозе — Симптоматическая терапия
III степени	Активная симптоматическая терапия. При ее неэффективности — ведение как при токсичности IV степени (см. ниже)
IV степени	— Отмена препарата — Активная симптоматическая терапия — После уменьшения токсического эффекта ≤I степени возобновить прием препарата в сниженной до предыдущего уровня дозе — При повторных длительных осложнениях и неэффективности адекватной симптоматической терапии назначить другой ИТК

Примечание. ЭхоКГ — эхокардиография, ФВ — фракция выброса, КТ — компьютерная томография, НПВП — нестероидные противовоспалительные препараты.

плод противоречивы и они должны применяться с осторожностью.

В экспериментах на животных выявлена высокая концентрация ИМ в молозиве. Предполагается, что в случае грудного вскармливания через молоко матери ребенок может получить 1—2 мг ИМ в сутки. В связи с этим ИМ должен быть отменен не только во время беременности, но и на весь период грудного вскармливания ребенка [104].

Несмотря на то что не было зарегистрировано какой-либо патологии у детей, рожденных

партнершами мужчин, принимающих ИМ, сведений о безопасности препарата для плода мало, и пациентам должно быть рекомендовано применение надежной контрацепции. В случае планирования зачатия ребенка препарат должен быть отменен заранее (на 10—14 дней). Кроме того, предварительно необходимо провести обследование для оценки состояния фертильности. Опыты на животных продемонстрировали дозозависимое влияние ИМ на сперматогенез. Назначение ИМ в течение 70 дней приводило к снижению веса яичек и двигательной активности сперматозоидов.

Таблица 14. Тактика ведения пациентов при развитии токсических осложнений со стороны печени на терапии ИТК

Степень токсичности	Тактика ведения
I	Продолжить терапию ИТК в прежней дозе
II	- Исключить прием потенциальных гепатотоксинов, в том числе ацетаминофена. - Обследовать для исключения вирусных гепатитов, контроль уровня ферритина, УЗИ* печени. - Продолжить терапию в той же дозе или снизить дозу до предыдущего уровня
III—IV	- Прерывать терапию ИТК. - Мониторировать функцию печени 1—2 раза в неделю (АЛТ, АСТ, билирубин, щелочная фосфатаза, амилаза, липаза). - Возобновить терапию ИТК в сниженной до предшествующего уровня дозе после уменьшения токсичности ≤I степени. - При отсутствии в течение 6—12 мес возобновления гепатотоксичности рекомендуется вернуться к исходной дозе ИТК. - При повторной гепатотоксичности ≥III степени — назначить другой ИТК

*УЗИ — ультразвуковое исследование.

Выявлено также снижение уровня тестостерона и развитие гинекомастии, особенно у мужчин, принимающих высокие дозы ИМ. Однако, несмотря на подавление андрогенов, у пациентов с олигоспермией и гинекомастией, получающих ИМ, у их партнерш возможно наступление нормальной беременности. По-видимому, вышеописанные изменения связаны с подавлением ИМ ТК с-KIT и PDGFR, которые экспрессированы на ткани яичек [105—111].

При появлении признаков гинекомастии необходимо обследовать пациента у андролога для решения вопроса о необходимости и тактике заместительной гормональной терапии.

Приведенные данные и алгоритмы ведения больных ХМЛ при беременности основаны на небольшом числе наблюдений (не клинических исследований) и носят рекомендательный характер.

Нилотиниб. Мутагенность препарата не выявлена. Так же как и в случае с ИМ, влияние нилотиниба на фертильность не установлено. Показано, что препарат не является тератогенным. Тем не менее в экспериментах, проведенных на животных, было продемонстрировано, что нилотиниб повышал риск выкидышей, отмечались снижение размеров плода и незначительные аномалии скелета. Исследования на животных показали, что препарат может выделяться с молоком. В настоящее время пока недостаточно сведений о влиянии нилотиниба на развитие

плода. Нет четких данных о выделении нилотиниба через материнское молоко. Рекомендована отмена нилотиниба не только на весь период беременности, но и во время грудного вскармливания [53].

Дазатиниб. Препарат не является мутагенным, но может вызывать повреждения плода при назначении его беременным женщинам, т.е. является тератогенным. В экспериментах терапевтические дозы дазатиниба у крыс и кроликов вызывали тератогенный эффект, наблюдалась высокая частота гибели плода. Эмбриофетальная токсичность проявляется возникновением множественных скелетных аномалий, снижением оссификации, появлением отеков, недоразвитием печени. Женщины должны быть предупреждены о возможных последствиях. Необходимо применение надежных контрацептивов, а при наступлении беременности показано выполнение медицинского аборта. При желании пациентки сохранить беременность рекомендуется отмена дазатиниба.

Заключение

Вскоре после разработки ИМ стали появляться и новые ИТК. Несмотря на схожесть механизмов действия, между ИМ, нилотинибом и дазатинибом наличия перекрестной токсичности не выявлено. В связи с этим возможно использование этих препаратов в широкой клинической практике не только у пациентов с резистентно-

Таблица 15. Коррекция дозы ИТК при удлинении интервала QT на ЭКГ

QT	Коррекция дозы
≥480 мс	Отмена препарата Контроль калия, магния, при их дефиците — восполнение электролитов Контроль ЭКГ 1—2 раза в неделю до уменьшения интервала QT < 450 мс и при этом не более чем на 20 мс от базального уровня Если восстановление произошло в течение 2 нед — прием препарата в прежней дозе, если более 2 нед — снизить дозу на 1 уровень При повторном удлинении интервала QT ≥480 мс — отмена препарата

Примечание. Целесообразно выполнять ЭКГ до начала терапии во время лечения при одновременном с ИТК приеме препаратов, потенциально удлиняющих интервал QT.

стью к ИМ, но и с его непереносимостью. При выборе терапии в данной группе пациентов следует учитывать различный профиль токсичности нилотиниба и дазатиниба, а также вероятность появления гематологических (цитопения, обусловленная приемом ИМ) и негематологических (сопутствующие заболевания) осложнений в анамнезе. Известно, что плевральный выпот чаще развивается на терапии дазатинибом. Факторами, влияющими на развитие данного осложнения, могут быть:

- 1) артериальная гипертензия, хронические обструктивные или другие болезни легких;
- 2) фаза ХМЛ (чаще при ФА/БК);
- 3) доза и режим применения дазатиниба (чаще при приеме препарата в суточной дозе 140 мг и в режиме 2 раза в день).

С другой стороны, вероятно, именно дазатинибу следует отдать предпочтение у пациентов с гипергликемией, а также при наличии панкреатита в анамнезе. Оба препарата — нилотиниб и дазатиниб — следует применять крайне осторожно у пациентов с сердечной недостаточностью, дисфункцией левого желудочка, аритмиями, а также удлиненным интервалом QT [112].

Необходимо отметить, что абсолютных противопоказаний использования как нилотиниба, так и дазатиниба с учетом сопутствующей патологии нет. Вероятность возникновения тяжелых осложнений на ИТК невысокая, и, как правило, все токсические эффекты купируются при прерывании терапии, адекватном симптоматическом лечении и в дальнейшем после возобновления приема препарата редко рецидивируют.

Л и т е р а т у р а

1. Bennett J.H. Case of hypertrophy of the spleen and liver in which death took place from suppurative of the blood. *Edinburgh Med Surg J* 1845;64:413.
2. Craigie D. Case of disease of the spleen in which death took place in consequence of the presence of purulent matter in the blood. *Edinburgh Med Surg J* 1845;64:400.
3. Nowell P.C., Hungerford D.A. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960;132:1497—501.
4. Lugo T.G. et al. Tyrosin kinase activity and transformation potency of bcr-abl oncogene products. *Science* 1990;247:1079—82.
5. Daley G.Q. et al. Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by the P210 bcr/abl gene of the Philadelphia chromosome. *Science* 1990;247:824—30.
6. Deininger M.W. et al. The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL-positive cells. *Blood* 1997;90:3691—8.
7. Sawyers C.L. Tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia. *Cancer J Sci Am* 1999;5:63—9.
8. Druker B.J. et al. Lessons learned from the development of an abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia. *J Clin Invest* 2000;105:3—7.
9. Cowan-Jacob S. et al. Structural biology contributions to the discovery of drugs to treat of chronic myelogenous leukemia. *Acta Crystallographica* 2007;63:80—93.
10. Druker B.J. et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* 1996;2:561—6.
11. Vigneri P., Wang J.Y. Induction of apoptosis in chronic myelogenous leukemia cells through nuclear entrapment of BCR-ABL tyrosine kinase. *Nat Med* 2001;7:228—34.
12. Geay J.F., Buet D., Zhang Y. et al. p210BCR-ABL inhibits SDF-1 chemotactic response via alteration of CXCR4 signaling and down-regulation of CXCR4 expression. *Cancer Res* 2005;65(7):2676—83.
13. Barnes K., McIntosh E., Whetton A.D. et al. Chronic myeloid leukaemia: an investigation into the role of Bcr-Abl-induced abnormalities in glucose transport regulation. *Oncogene* 2005;24(20):3257—67.
14. Cullinane C., Dorow D.S., Kansara M. et al. An in vivo tumor model exploiting metabolic response as a bio-marker for targeted drug development. *Cancer Res* 2005;65(21):9633—6.
15. Gambacorti-Passerini C., le Coutre P., Mologni L. et al. Inhibition of the ABL kinase activity blocks the proliferation of BCR/ABL+ leukemic cells and induces apoptosis. *Blood Cells Mol Dis* 1997;23:380—94.
16. Le Coutre P., Mologni L., Cleris L. In vivo eradication of human BCR/ABL-positive leukemia cells with an ABL kinase inhibitor. *J Natl Cancer Inst* 1991;91:163—8.
17. Holyoake D.T. Recent advances in the molecular and cellular biology of chronic myeloid leukaemia: lessons to be learned from the laboratory. *Br J Haematol* 2001;113:11—23.
18. Heinrich M.C. et al. Inhibition of c-KIT receptor tyrosine kinase activity by STI 571, a selective tyrosine kinase inhibitor. *Blood* 2000;96:925—32.
19. Dewar A.L. et al. Macrophage colony-stimulating factor receptor c-fms is a novel target of imatinib. *Blood* 2005;105(8):3127—32.
20. Buchdunger E. et al. Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-KIT and platelet-derived growth factor receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;295:139—45.
21. Okuda K. et al. ARG tyrosine kinase activity is inhibited by STI571. *Blood* 2001;97(8):244.
22. Breccia M., Stefanizzi C., Cannella L. et al. Differences in hematological and non-hematological toxicity during treatment with imatinib in patients with early and late chronic phase chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2008;49(12):2328—32.
23. Biswas S.K., Zhao Y., Sandrasegarane L. Imatinib induces apoptosis by inhibiting PDGF- but not insulin-induced PI 3-kinase. Akt survival signaling in RGC-5 retinal ganglion cells. *Mol Vis* 2009;15:1599—610.
24. Bueso-Ramos C.E. et al. Imatinib mesylate therapy reduces bone marrow fibrosis in patients with chronic myelogenous leukemia. *Cancer* 2004;101(2):332—6.
25. Agis H., Jaeger E., Doninger B. et al. In vivo effects of imatinib mesylate on human haematopoietic progenitor cells. *Eur J Clin Invest* 2006;36:402—8.
26. Thiele J., Kvasnicka H.M., Schmitt-Graeff A. et al. Bone marrow changes in chronic myelogenous leukaemia after long-term treatment with the tyrosine kinase inhibitor STI571: an immunohistochemical study on 75 patients. *Histopathology* 2005;46(5):540—50.
27. Kvasnicka H.M., Thiele J., Staib P. et al. Therapy-related changes of angiogenesis in Philadelphia chromosome positive chronic myelogenous leukemia. *Pathologie* 2004;25(2):127—34.
28. Weisberg E. et al. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant BCR-ABL. *Cancer Cell* 2005;7(2):129—41.
29. Liu Y. et al. Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nat Chem Biol* 2006;2(7):358—64.

30. O'Hare T. et al. *In vitro* activity of BCR-ABL inhibitors AMN-107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant ABL kinase domain mutants. *Cancer Res* 2005;65(11): 4500—5.
31. Stover E.H. et al. The small molecule tyrosine kinase inhibitor AMN107 inhibits TEL-PDGFR β and FIP1L1-PDGFR α *in vitro* and *in vivo*. *Blood* 2005;106(9):3206—13.
32. Bubnoff von N. et al. The systemic mastocytosis-specific activating c-KIT mutation D816V can be inhibited by the tyrosine kinase inhibitor AMN107. *Leukemia* 2005; Advance online publication 1—2.
33. Weisberg E. et al. AMN 107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of bcr-abl. *Br J Cancer* 2006;94:1130—340.
34. Tokarski J.S. et al. The structure of Dasatinib (BMS354825) bound to activated abl kinase of domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant mutants. *Cancer Res* 2006;66: 5790—7.
35. O'Hare T. et al. *In vitro* activity of AMN 107 and BMS354825 against clinically relevant imatinib-resistant abl kinase domain mutants. *Cancer Res* 2005; 65: 4500—5.
36. Klejman A. et al. The Src family kinase Hck couples BCR/ABL to STAT5 activation in myeloid cells. *EMBO J* 2002;21:5766—74.
37. Skorski T. et al. Transformation of hematopoietic cells by BCR/ABL requires activation of a PI3-K/Akt dependent pathway. *EMBO J* 1997;16:6151—61.
38. Donato N.J. et al. BCR-ABL independence and Lyn kinase overexpression in chronic myeloid leukemia cells selected for resistance to STI571. *Blood* 2003;101:690—8.
39. Ptaszniak A. et al. Short interfering RNA targeting the Lyn kinase induces apoptosis in primary and drug-resistance BCR-ABL+ cells. *Nat Med* 2004;10:1187—98.
40. Rix U. et al. Chemical proteomic profiles of the BCR-ABL inhibitors imatinib, nilotinib and dasatinib reveal novel kinase and non-kinase targets. *Blood* 2007; First edition paper: 1—34.
41. Fabarius A. et al. Centrosome aberrations, disturbed mitotic spindle formation and G1 arrest in normal and leukemia cells treated with SRC/ABL inhibitor Dasatinib. *Blood* 2006;108:614—5(a).
42. Larson R. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study. *Blood* 2008;111(8):4022—8.
43. Izzo A.A., Ernst E. Interactions between herbal medicines and prescribed drugs: an updated systematic review. *Drugs* 2009;69(13):1777—98.
44. Wang Y., Zhou L., Dutreix C. et al. Effects of imatinib (Glivec) on the pharmacokinetics of metoprolol, a CYP2D6 substrate, in Chinese patients with chronic myelogenous leukaemia. *Br J Clin Pharmacol* 2008;65(6):885—92.
45. Orhanos G.S., Joannidis G.N. Cardiotoxicity induced by tyrosine kinase inhibitors. *Dep Oncol Acta Oncol* 2009;4:1—7.
46. Ridruejo E., Caccione R. et al. Imatinib-induced fatal acute liver failure. *World J Gastroenterol* 2007;13(48): 6608—11.
47. Nikolova Z. et al. Bioequivalence, safety and tolerability of imatinib tablets compared with capsules. *Cancer Chemother Pharmacol* 2004;53:433—8.
48. Deremer D.L., Ustun C., Natarajan K. Nilotinib: a second-generation tyrosine kinase inhibitor for the treatment of chronic myelogenous leukemia. *Clin Ther* 2008;30(11):1956—75.
49. Kagan M. et al. Safety, pharmacokinetics, metabolism and mass balance of AMN 107, a novel aminopyridine tyrosine kinase inhibitor in healthy subjects. *Blood* 2005;106:302 (abstr 4887).
50. Tanaka C. et al. Clinical pharmacokinetics of AMN107, a novel inhibitor of abl, in healthy subjects and patients with imatinib resistant and intolerant chronic myelogenous leukemia or relapsed/refractory Ph+ acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2006;18(suppl 24):144 (abstr 3095).
51. Novartis pharmaceuticals corporation: East Hanover (NJ). Tasigna® (Nilotinib capsules): US prescribing information [Online]. Available from URL: <http://www.fda.gov>
52. Singer J.B. et al. UGT1A1 promotor polymorphism increases risk of nilotinib-induced hyperbilirubinemia. *Leukemia* 2007;21:2311—5.
53. Hazarika M. et al. Tasigna for chronic and accelerated phase Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia resistant to or intolerant of Imatinib. *Clin Cancer Res* 2008;14(17):5325—31.
54. White D.L. et al. OCT-1 mediated influx is a key determinant of the intercellular uptake of imatinib but not nilotinib: OCT-1 activity is the cause of low *in vitro* sensitivity to imatinib. *Blood* 2006;108(2):697—704.
55. Brendel C. et al. Imatinib mesilate and Nilotinib exhibit high-affinity interaction with ABCG2 on primitive hematopoietic stem cells. *Leukemia* 2007;109(8):3609—10.
56. Davies A. et al. Characterization of nilotinib transport in chronic myeloid leukemia cells. *Blood* 2007;110:2364 (abstr).
57. Tyler T. Once-daily dasatinib for treatment of patients with chronic myeloid leukemia. *Ann Pharmacother* 2009;43(5):920—7.
58. Sprycel® prescribing information. Bristol Myers Squibb. NY, USA. 2007.
59. Giannoudis A., Davies A., Lucas C.M. et al. Effective dasatinib uptake may occur without human organic cation transporter 1 (hOCT1): implications for the treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukemia. *Blood* 2008;112(8):3348—54.
60. Egorin M.J., Shah D.D., Christner S.M. et al. Effect of a proton pump inhibitor on the pharmacokinetics of imatinib. *Br J Clin Pharmacol* 2009;68(3):370—4.
61. Quintas-Cardama A., Han X., Kantarjian H., Cortes J. Tyrosine kinase inhibitor-induced platelet dysfunction in patients with chronic myeloid leukemia. *Blood* 2009;114(2):261—3.
62. Hochhaus A., Giles F.J., Baccarani P. et al. Safety and efficacy of Nilotinib dose escalation 600 mg BID in patients with imatinib-resistant or intolerant chronic myeloid leukemia in chronic phase, accelerated phase or blast crisis. *Blood* 2007;110(11):1038.
63. Biswas S.K., Zhao Y., Sandirasegarane L. Imatinib induces apoptosis by inhibiting PDGF- but not insulin-induced PI 3-kinase/Akt survival signaling in RGC-5 retinal ganglion cells. *Mol Vis* 2009;15:1599—610.
64. Matsuo E., Miyazaki Y. et al. Imatinib provides durable molecular and cytogenetic responses in a practical setting for both newly diagnosed and previously treated chronic myelogenous leukemia: a study in nagasaki prefecture, Japan. *Int J Hematol* 2007;85(2):132—9.
65. Hensley M.L., Ford J.M. Imatinib treatment: specific issues related to safety, fertility and pregnancy. *Semin Hematol* 2003;40(2 suppl 2):21—5.
66. Kantarjian H., Talpaz M. et al. High-dose imatinib mesylate therapy in newly diagnosed Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia. *Blood* 2004;103(8):2873—8.
67. Bhargava R., Mahapatra M., Mishra P., Kumar R. Overdose with 6400 mg of imatinib: is it safe? *Ann Oncol* 2007;18(10):1750—1.
68. Gambacorti-Passerini K. et al. Gynecomastia in men with chronic myeloid leukemia after imatinib. *Lancet* 2003;361:1954—6.
69. Cerchione C., Fabbicini R., Pane F. et al. Vitiligo-like lesions in an adult patient treated with Imatinib mesylate. *Leuk Res* 2009;33(8):104—5.
70. Oztas P., Erbas S. Imatinib-induced erythrodermia in a patient with chronic myeloid leukemia. *Acta Derm Venereol* 2006;86(2):174—5.
71. Woo S.M., Huh C.H. Exacerbation of psoriasis in a chronic myelogenous leukemia patient treated with imatinib. *J Dermatol* 2007;34(10):724—6.
72. De Arriba J., Nerin C., Garcia E.

- et al. Severe hemolytic anemia and skin reaction in a patient treated with imatinib. *Ann Oncol* 2003;14:962.
73. Novaretti M., Fonseca G., Conchon M. et al. First case of immune-mediated haemolytic anaemia associated to imatinib mesylate. *Eur J Haematol* 2003;71:455–8.
74. Cortes J. et al. Efficacy of nilotinib (AMN 107) in patients with newly diagnosed, previously untreated Philadelphia chromosome positive chronic myelogenous leukemia in early chronic phase. *Blood* 2007;110(11):abstr 29.
75. Talpaz M., Shah N.P., Kantarjian H. et al. Dasatinib in imatinib-resistant Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med* 2006;354(24):2531–41.
76. Kantarjian H.M. et al. Nilotinib is highly active and safe in chronic phase chronic myelogenous leukemia (CML-CP) patients with imatinib-resistance or in tolerance. *Blood* 2007;110:226: abstr 735.
77. Le Coutre P. et al. Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is effective in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in chronic phase following imatinib resistance and intolerance. *Blood* 2007;110(10):3540–6.
78. Nicolini F. et al. Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is effective in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in chronic phase following imatinib resistance and intolerance. *Blood* 2007;110:870.
79. Nicolini E.F. et al. Expanding Nilotinib access in clinical trials (ENACT) study in adult patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in blast crisis, accelerated phase or chronic phase: preliminary safety analysis. *ASCO Annual Meeting* 2008: abstr 7059.
80. Cortes J. et al. Nilotinib is associated with minimal cross intolerance in patients with imatinib-intolerant Philadelphia-Positive chronic myelogenous leukemia in either chronic phase or accelerated phase. *Blood* 2007;110. Abstr 1040.
81. Jabbour E. et al. Minimal cross-intolerance between nilotinib and imatinib in patients with imatinib intolerance chronic myeloid leukemia in chronic phase or accelerated phase. *Blood* 2008;112(11):abstr 3215.
82. Nicolini E.F. et al. Expanding Nilotinib access in clinical trials (ENACT) study in adult patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia: subgroup analysis of patients who failed prior dasatinib therapy. *Hematologica* 2009;94(2): abstr 633.
83. Stephens J. et al. *Haematologica* 2007;92(1):abstr 0552.
84. Stephens J. et al. *Haematologica* 2007;92(1):abstr 0658.
85. Cortes J. et al. Efficacy of dasatinib in patients with previously untreated chronic myelogenous leukemia in early chronic phase. *Blood* 2007;110(11):abstr 30.
86. Shah N.P. et al. Intermittent target inhibition with dasatinib 100mg once daily preserves efficacy and improves tolerability in imatinib-resistant and intolerant chronic phase chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2008;26(19):1–9.
87. Jayson G.C. et al. Blockade of platelet derived growth factor receptor-beta by CD860, humanized, PEGylated di-Fab', leads to fluid accumulation and its association with increased tumor vascularized volume. *J Clin Oncol* 2005;23:973–81.
88. Punjalingam S., Lavallade H., Bua M. et al. Pleural effusions in patients with chronic myeloid leukemia treated with dasatinib may have an immune-mediated pathogenesis. *Br J Haematol* 2008;141:7345–47.
89. Kneidinger M. et al. The effects of dasatinib on IgE receptor dependent activation and histamine release in human basophils. *Blood* 2008;111:3097–107.
90. Weichsel R. et al. Profound inhibition of antigen-specific T-cell effector functions by dasatinib. *Clin Cancer Res* 2008;14(8):2484–91.
91. Torres H.A. et al. Viral infection or reactivation in patients during treatment with dasatinib. *Leuk Lymph* 2007;48(12):2308–9.
92. Garcia-Munoz R. et al. Pavovirus B19 acute infection and reactivation of cytomegalovirus and herpes virus 6 in a chronic myeloid leukemia patient during treatment with dasatinib. *Leukem Lymph* 2007;48:2461–4.
93. State and role of Src family kinases in replication of herpes simplex virus 1. *J Virol* 2006;80:3349–59.
94. Quintas-Cardama A. et al. Pleural effusion in patients with chronic myelogenous leukemia treated with dasatinib after imatinib failure. *J Clin Oncol* 2007;25(25):3908–13.
95. Nicaise C. et al. Dasatinib pharmacokinetics and exposure-response: relationships to efficacy and safety in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase. *Hematologica* 2008;93(1): abstr 0559.
96. Bargeon A. et al. Lung abnormalities after dasatinib treatment for chronic myeloid leukemia. *Am J Respir Critic Care Med* 2007;176:814–8.
97. Quintas-Cardama A. et al. Association of pleural effusion and bleeding in patients with chronic myelogenous leukemia receiving dasatinib. *ASH* 2008;abstr 2112.
98. Hochhaus A. et al. Dasatinib induces durable cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase with resistance or intolerance to imatinib. *Leukemia* 2008;1–7.
99. Quintas-Cardama A. et al. Bleeding diathesis in patients with chronic myelogenous leukemia receiving dasatinib therapy. *Cancer* 2009;115(11): 2482–90.
100. Rizzo J.D. et al. Use of epoetin and darbopoetin in patients with cancer: 2007 American society of hematology/American society of clinical oncology clinical practice guideline update. *Blood* 2008;111:25–41.
101. Pye S.M. et al. The effects of imatinib on pregnancy outcome. *Blood* 2008;111(12):5505–8.
102. Gschwing H.P. et al. Drug metabolism. *Dispos* 2008;33(10):1902–12.
103. Rousselot P. et al. Imatinib mesylate discontinuation inpatients with chronic myeloid leukemia in complete molecular remission for more than 2 years. *Blood* 2007;109:58–60.
104. Russel M.A. Imatinib mesylate and metabolite concentrations in maternal blood, umbilical cord blood, placenta and breast milk. *J Perinatol* 2007;27:241–3.
105. Hansley M.L. et al. Imatinib treatment: specific issues related to safety, fertility and pregnancy. *Sem Hematol* 2003;40:21–5.
106. Gambacorti-Passerini C. et al. Gynecomastia in men with chronic myeloid leukemia after imatinib. *Lancet* 2003;363:1954–6.
107. Ramasamy K. et al. Successful pregnancies involving men with chronic myeloid leukemia on imatinib therapy. *Br J Haematol* 2007;137:374–5.
108. Ault P. et al. Pregnancy among patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib. *J Clin Oncol* 2006;24:1204–8.
109. Breccia M. et al. Male patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib involved in healthy pregnancies: report of five cases. *Leuk Res* 2008;32:519–20.
110. Sette C. et al. The role of stem cell factor and of alternative c-KIT gene products in the establishment, maintenance and function of germ cells. *Int J Dev Biol* 2002;44:599–608.
111. Basciani S. et al. Expression of PDGF-A, PDGF-B and PDGFR-alpha and PDGFR-beta during human testicular development and disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87: 2310–9.
112. Jabbour E., Hochhaus A., Cortes J. et al. Choosing the best treatment strategy for chronic myeloid leukemia patients, resistant to imatinib: weighing the efficacy and safety of individual drugs with BCR-ABL mutations and patient history. *Leukemia* 2009; Oct 1 [Epub ahead of print].

АМПЛИФИКАЦИЯ ГЕНА *BCR-ABL* У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ, РЕФРАКТЕРНЫХ К ИМАТИНИБУ

С.И. Куцев, С.В. Морданов

Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

Контакты: Сергей Иванович Куцев kutsev@mail.ru

У больных хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ), получающих терапию иматинибом, с высокой частотой достигается полный цитогенетический ответ. Тем не менее у некоторых пациентов наблюдается первичная или приобретенная резистентность к иматинибу. В данной работе исследовано значение амплификации гена *BCR-ABL* в развитии первичной резистентности к иматинибу у пациентов с ХМЛ. Амплификация гена *BCR-ABL* выявлена у 18% больных ХМЛ, рефрактерных к иматинибу. Показано достоверное снижение вероятности достижения полного цитогенетического ответа у пациентов с амплификацией гена *BCR-ABL*.

Ключевые слова: хронический миелоидный лейкоз, рефрактерность к иматинибу, амплификация гена *BCR-ABL*

BCR-ABL GENE AMPLIFICATION IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA AND IMATINIB RESISTANCE

S.I. Kutsev, S.V. Mordanov

Rostov state medical university, Rostov-on-Don

The treatment of Ph-positive chronic myeloid leukemia (CML) has achieved significant progress with the tyrosine kinase inhibitor (TKI) imatinib. Complete cytogenetic remission is a standard for patients treated in chronic phase. Nevertheless, primary and acquired resistance has been observed in few CML patients. Imatinib resistance in patients is related to heterogeneous mechanisms. The role of the *BCR-ABL*-related mechanism of imatinib resistance — *BCR-ABL* gene amplification in primary resistant cases was studied. The *BCR-ABL* gene amplification was established in 18% refractory to imatinib patients. Decreasing probability of complete cytogenetic response was revealed in these cases.

Key words: chronic myeloid leukemia, imatinib resistance, *BCR-ABL* gene amplification

Введение

В клинических исследованиях иматиниба (иматиниба мезилат, STI571) была показана высокая эффективность этого препарата в терапии хронического миелолейкоза (ХМЛ). Так, через 5 лет от начала терапии гливеком полный гематологический ответ был получен у 98% больных ХМЛ, большой цитогенетический ответ (БЦГО) — у 92% и полный цитогенетический ответ (ПЦГО) — у 87% пациентов; 5-летняя выживаемость без прогрессии заболевания составила 93% [1].

Несмотря на хорошие результаты, существует проблема резистентности к иматинибу. Первичная резистентность (или рефрактерность) определяется как отсутствие гематологического ответа через 3 мес, малого цитогенетического ответа (Ph-хромосома выявляется в 35—65% клеток костного мозга) — через 6 мес, БЦГО (Ph-хромосома определяется менее чем в 35% клеток костного мозга) — через 12 мес, ПЦГО (Ph-хромосома в клетках костного мозга не выявляется) — через 18 мес

терапии. Вторичная, или приобретенная, резистентность — это потеря гематологического, цитогенетического или молекулярного ответа либо прогрессия заболевания до фазы акселерации или бластного криза [2].

В основе развития резистентности к иматинибу лежат несколько механизмов, которые подразделяют на *BCR-ABL*-зависимые и *BCR-ABL*-независимые [3]. К *BCR-ABL*-зависимым механизмам относят мутации и амплификацию гена *BCR-ABL*. *BCR-ABL*-независимые механизмы включают в себя «клональную эволюцию» (появление дополнительных хромосомных aberrаций в Ph-позитивных лейкозных клетках), активацию *BCR-ABL*-независимых путей, например, членов семейства Src-киназ, избыточное связывание иматиниба с сывороточным α -1-кислым гликопротеином, дисбаланс между клеточными белками — переносчиками препарата.

Данные литературы о роли амплификации гена *BCR-ABL* в развитии резистентности к иматинибу довольно ограничены. Впервые в экспе-

риментах *in vitro* было показано, что гиперэкспрессия *BCR-ABL*-транскрипта, в основе которой лежит амплификация гена *BCR-ABL*, является одним из механизмов резистентности к иматинибу [4–6].

М.Е. Gorre и соавт. [7] методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) впервые показали *in vivo* амплификацию гена *BCR-ABL* у 3 из 9 пациентов, резистентных к иматинибу (33,3%).

А. Hochhaus также обнаружил множественные копии гена *BCR-ABL* методом FISH у 2 (28,6%) из 7 обследованных больных ХМЛ с первичной резистентностью и не выявил их ни у одного из 25 пациентов с рецидивом ХМЛ [8].

Цель исследования — изучение роли *BCR-ABL*-зависимого механизма резистентности, а именно — амплификации гена *BCR-ABL* — в развитии рефрактерности к иматинибу.

Материалы и методы

Проведено обследование 298 пациентов с диагнозом ХМЛ, подтвержденным цитогенетическим (обнаружение транслокации t(9;22)(q34;q11.2) в клетках костного мозга) и/или молекулярно-цитогенетическим (обнаружение слитного гена *BCR-ABL* в клетках костного мозга) методом. Все включенные в исследование больные ХМЛ получали иматиниб в дозе 400, 600 или 800 мг/сут в течение ≥6 мес в соответствии с рекомендациями Европейского общества по лечению лейкозов (ELN) [2]. Обязательным условием включения больных ХМЛ в исследование являлось наличие информированного согласия пациентов на анонимное использование результатов проведенного обследования в научных целях.

Медиана возраста на момент постановки диагноза составила 46,6 года (минимальный возраст — 12,9, максимальный — 77,4 года). Соотношение мужчины/женщины — 137/161. В исследование включались пациенты, начавшие терапию иматинибом как в хронической фазе ($n=215$; 72,1%), так и в фазе акселерации ($n=83$; 27,9%). Медиана длительности терапии иматинибом составила 24 (от 6 до 84) мес.

С целью цитогенетической диагностики и мониторинга эффективности терапии исследовали стерильный пунктат костного мозга. Всего было выполнено 1190 диагностических и мониторинговых исследований у 298 пациентов. Культивирование клеток костного мозга проводилось по об-

Результаты FISH-исследований костного мозга больных ХМЛ с амплификацией гена *BCR-ABL*

№	Ф.И.	Результат FISH-анализа
1	Щ.Л.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[161/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[10/200]/(ABL1x8-12), (BCRx9-12), (ABL1conBCRx9-12) [3/200] / (ABL1, BCR)x2[26/200]
2	Х.К.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[111/200]/(ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[71/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[18/200]
3	Т.З.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[87/200]/ (ABL1x2), (BCRx2), (ABL1conBCRx1)[62/200]/ (ABL1x5-6), (BCRx5-6), (ABL1conBCRx4)[6/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[45/200]
4	С.О.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[106/140]/ (ABL1x2), (BCRx2), (ABL1conBCRx1)[14/140]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[4/140]/ (ABL1x2), (BCRx2)[76/140]
5	Р.Л.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[140/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[44/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[16/200]
6	П.А.	nuc ish (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[144/200]/ (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[46/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[10/200]
7	П.Л.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[47/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[6/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[147/200]
8	К.С.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[169/200]/ (ABL1x4-5), (BCRx4-5), (ABL1conBCRx3-4)[6/200]/(ABL1x2), (BCRx2) [25/200]
9	К.В.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[132/200]/ (ABL1x2), (BCRx2), (ABL1conBCRx1)[35/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3) [15/200]/ (ABL1x3), (BCRx2), (ABL1conBCRx1)[14/200]/(ABL1x2), (BCRx2)[4/200]
10	Б.С.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[28/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[8/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[164/200]
11	Б.О.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[169/200]/ (ABL1x4-5), (BCRx4-5), (ABL1conBCRx3-4)[11/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[20/200]
12	Б.А.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[136/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[41/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[23/200]
13	М.М.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[102/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[65/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[33/200]
14	Л.Г.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[26/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[23/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[151/200]
15	Д.Л.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[47/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[6/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[147/200]
16	Г.Л.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[154/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[16/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[30/200]
17	С.Р.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[120/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[6/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[74/200]
18	К.В.	nuc ish (ABL1x3), (BCRx3), (ABL1conBCRx2)[154/200]/ (ABL1x4), (BCRx4), (ABL1conBCRx3)[26/200]/ (ABL1x2), (BCRx2)[20/200]

шепринятой методике. Цитогенетические препараты окрашивались GTG-дифференциальным методом. У каждого пациента проанализировано не менее 20 метафазных пластинок клеток костного мозга.

FISH хромосом с ДНК-зондом к слитному гену *BCR-ABL* проводилась при отсутствии метафазных пластинок в стандартном цитогенетическом исследовании, а также в случае резистентности к терапии иматинибом для выявления амплификации гена *BCR-ABL*. Всего выполнено 172 FISH-анализа. В работе использован двухцветный ДНК-зонд 22q11.2 LSI *BCR* SpectruGreen/9q34 LSI *ABL* SpectrumOrange dual fusion DNA probe («Vysis», Abbott). FISH-анализ проводился согласно протоколу производителя на цитогенетических препаратах, содержащих как метафазные хромосомы, так и интерфазные ядра. В каждом случае ХМЛ проанализировано не менее 200 интерфазных ядер клеток костного мозга. Результаты FISH-исследований приведены в работе в соответствии с Международной цитогенетической номенклатурой 2009 г. [9].

Кариотипирование и FISH-исследования проводили с помощью микроскопа Аксиоплан-2-мот («Carl Zeiss») и программного обеспечения *ikaros* и *isis* («Metasystems»).

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6,0 и электронных таблиц Excel 2003. Расчеты выполнены в соответствии с рекомендациями О.Ю. Ребровой [10] по обработке численных результатов экспериментов в медицине.

Результаты и обсуждение

Медиана длительности терапии иматинибом в нашем исследовании составила 24 (от 6 до 84) мес. Из 298 обследованных пациентов с ХМЛ, получавших терапию иматинибом в течение ≥ 6 мес, оптимальный ответ, т.е. БЦГО, достигнут у 197 (66,1%) больных. Из 263 пациентов, получавших терапию иматинибом на протяжении ≥ 12 мес, оптимальный ответ, т.е. ПЦГО, получен у 157 (59,7%) пациентов. Из 197 больных ХМЛ, получавших терапию иматинибом в течение ≥ 18 мес, ПЦГО зафиксирован у 97 (49,2%). У остальных 100 больных ХМЛ (50,8%) после 18 мес терапии не было получено ПЦГО, что согласно критериям ELN [2] свидетельствует о рефрактерности к проводимому лечению.

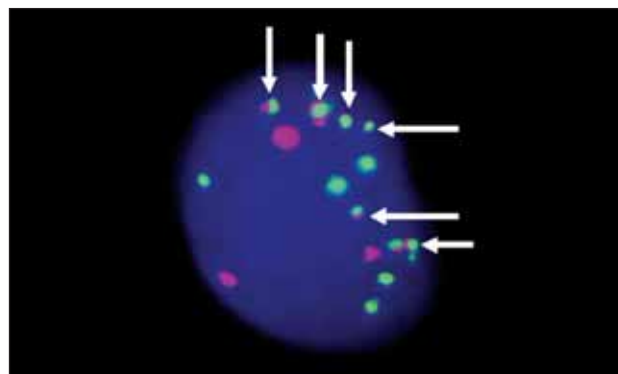


Рис. 1. Амплификация гена *BCR-ABL* в *BCR-ABL*-позитивной клетке костного мозга (последовательность *ABL* мечена красным цветом флуорохромом *SpectrumOrange*; последовательности *BCR* мечена зеленым цветом флуорохромом *SpectrumGreen*, желтые слитные сигналы гена *BCR-ABL* указаны стрелками). FISH хромосом с ДНК-зондом к слитному гену *BCR-ABL*. $\times 1000$

В результате проведенного исследования методом FISH с ДНК-зондом к слитному гену *BCR-ABL* его амплификация выявлена у 18 (18%) рефрактерных пациентов (см. таблицу).

При FISH-исследовании число клеток с амплификацией гена *BCR-ABL* у каждого пациента варьировало от 3 до 72% из 200 анализируемых клеток костного мозга. Количество дополнительных копий гена *BCR-ABL* в каждой клетке с его амплификацией равнялось от 1 до 6 (рис. 1).

Также был проведен FISH-анализ с ДНК-зондом к гену *BCR-ABL* у 48 больных, достигших оптимального ответа на терапию иматинибом, и у 24 пациентов с впервые выявленным ХМЛ. Ни у одного из этих больных не обнаружено амплификации гена *BCR-ABL*.

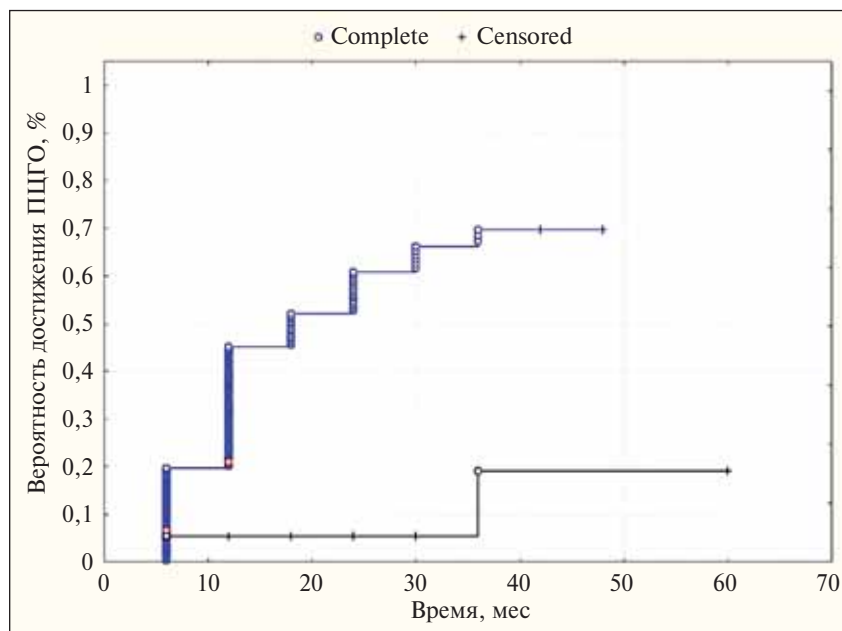


Рис. 2. Вероятность достижения ПЦГО на терапию иматинибом у больных ХМЛ в зависимости от наличия амплификации гена *BCR-ABL* (синяя кривая — без амплификации; черная кривая — с амплификацией)

В нашем исследовании, выполненном на довольно обширной когорте рефрактерных к иматинибу пациентов с ХМЛ, амплификация гена *BCR-ABL* имела место в 18% случаев. С учетом влияния амплификации гена *BCR-ABL* на достижение цитогенетического ответа на фоне терапии иматинибом следует отметить, что у некоторых рефрактерных пациентов с дополнительными копиями гена *BCR-ABL* сохраняется возможность достижения ПЦГО. Однако в нашем исследовании у больных с амплификацией гена *BCR-ABL* ($n=18$) вероятность достижения ПЦГО через 36 мес терапии иматинибом не превышает 20%, тогда как у пациентов без амплификации этого гена она достигает 70%. Анализ вероятности достижения ПЦГО в зависимости от наличия амплификации гена *BCR-ABL* показал ее достоверное ($p=0,00034$) снижение у больных ХМЛ с амплификацией гена *BCR-ABL* по сравнению с группой пациентов с ХМЛ без нее (рис. 2).

Таким образом, амплификация гена *BCR-ABL* является неблагоприятным прогностическим фактором для достижения цитогенетического ответа на фоне терапии иматинибом и предполагает изменение тактики терапии ХМЛ: повышение дозы иматиниба или перевод на терапию ингибиторами ти-

розинкиназ второго поколения. В связи с этим следует отметить, что 1 из 18 пациентов, рефрактерных к иматинибу, имевший признаки амплификации гена *BCR-ABL*, был переведен на терапию ингибитором тирозинкиназ второго поколения — нилоти-нибом в дозе 800 мг/сут, через 12 мес лечения у него был достигнут ПЦГО.

Заключение

Обнаружение лейкозных клеток с амплификацией гена *BCR-ABL* на фоне терапии иматинибом является неблагоприятным прогностическим фактором для достижения цитогенетического ответа на проводимое лечение и предполагает изменение тактики терапии при ХМЛ. В настоящее время анализ амплификации гена *BCR-ABL* у пациентов, резистентных к терапии иматинибом и другими ингибиторами тирозинкиназ, не входит в алгоритм обязательного мониторинга терапии ХМЛ. FISH-анализ с ДНК-зондом к гену *BCR-ABL* проводится только в случае отсутствия митотически делящихся клеток костного мозга. Между тем FISH-анализ позволяет выявлять клоны опухолевых клеток с множественными копиями гена *BCR-ABL* и должен проводиться, по крайней мере, у пациентов с первичной резистентностью (рефрактерностью) к иматинибу.

Л и т е р а т у р а

1. Druker B.J., Guilhot F., O'Brien S.G. et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2006;355(23):2408—17.
2. Baccarani M., Saglio G., Goldman J. et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European Leukemia Net. *Blood* 2006;108(6):1809—20.
3. Kantarjian H., Talpaz M., Giles F. et al. New insights into the pathophysiology of chronic myeloid leukemia and imatinib resistance. *Ann Intern Med* 2006;145(12):913—23.
4. Le Coutre P., Tassi E., Varella-Garcia M. et al. Induction of resistance to the Abelson inhibitor STI571 in human leukemic cells through gene amplification. *Blood* 2000;9:1758—66.
5. Mahon F.X., Deininger M.W., Schultheis B. et al. Selection and characterization of BCR-ABL positive cell lines with differential sensitivity to the tyrosine kinase inhibitor STI571: diverse mechanisms of resistance. *Blood* 2000;96:1070—9.
6. Weisberg E., Griffin J.D. Mechanism of resistance to the ABL tyrosine kinase inhibitor STI571 in BCR/ABL-transformed hematopoietic cell lines. *Blood* 2000;95:3498—505.
7. Gorre M.E., Ellwood-Yen K., Chiosis G. et al. BCR-ABL point mutants isolated from patients with imatinib mesylateresistant chronic myeloid leukemia remain sensitive to inhibitors of the BCR-ABL chaperone heat shock protein 90. *Blood* 2002;100:3041—4.
8. Hochhaus A. Cytogenetic and molecular mechanisms of resistance to imatinib. *Semin Hematol* 2003;40(Suppl 2):69—79.
9. Shaffer L.G., Slovak M.L., Campbell L.J. An International system for human cytogenetic nomenclature (2009). Karger, 2009.
10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. М.: Медицина Сфера, 2002.

СОЧЕТАНИЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ И ХРОНИЧЕСКОГО ИДИОПАТИЧЕСКОГО МИЕЛОФИБРОЗА: СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ

Н.А. Романенко, С.С. Бессмельцев, В.И. Ругаль,
Н.А. Потихонова, М.Н. Зенина, К.М. Абдулкадыров

ФГУ Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи, Санкт-Петербург

Контакты: Николай Александрович Романенко

В статье представлено описание больной с одновременно развившимися двумя гемобластозами лимфоидной и миелоидной направленности. Диагнозы множественной миеломы (ММ) и хронического идиопатического миелофиброза (ХИМФ) подтверждены данными гемограммы, миелограммы, трепанобиопсии, иммуногистохимического, цитогенетического, биохимического и рентгенологического исследований. Семь курсов терапии по программе VAD и 11-недельное лечение рекомбинантным эритропоэтином-β с последующими курсами поддерживающей терапии бортезомибом и реафероном позволили добиться полной клинико-гематологической ремиссии ММ. Однако прогрессирование ХИМФ завершилось развитием острого миелоидного лейкоза. Пациентке проведено 3 курса терапии по программе 5+2, что позволило добиться замедления и стабилизации состояния.

Ключевые слова: множественная миелома, хронический идиопатический миелофиброз, гемобласты, рекомбинантный эритропоэтин, деструкции костей, плазматические клетки

COMBINATION OF MULTIPLE MYELOMA AND CHRONIC IDIOPATHIC MYELOFIBROSIS: A CASE REPORT

N.A. Romanenko, S.S. Bessmeltsev, V.I. Rugal, N.A. Potichonova, M.N. Zenina, K.M. Abdulkadirov
Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St-Petersburg

Case report of a patient with simultaneously developed lymphoid and myeloid hemoblastosis is presented. Diagnosis of multiple myeloma and chronic idiopathic myelofibrosis are confirmed by complete blood count, myelogram, trephine biopsy, immunohistochemical, cytogenetic, biochemical and radiological examination. Complete remission of multiple myeloma was achieved after 7 courses «VAD» and 11-weeks treatment with recombinant erythropoietin beta with subsequent maintenance therapy courses of bortezomib and reafteron. However, chronic idiopathic myelofibrosis was progressed to acute myeloid leukemia. Disease stabilization was achieved with 3 therapy courses «5+2».

Key words: multiple myeloma, chronic idiopathic myelofibrosis, hemoblastosis, recombinant erythropoietin, bone destruction, plasmatic cells

В последние годы отмечается тенденция к повышению частоты трансформации одного опухолевого заболевания крови в другое, как правило, имеющее более злокачественное течение и рефрактерность к терапии. Например, хронический идиопатический миелофиброз (ХИМФ) трансформируется в острый миелоидный лейкоз, множественная миелома (ММ) — в плазмоклеточный лейкоз, неходжкинская лимфома маргинальной зоны — в острый лимфобластный лейкоз [1,2]. Эти трансформации чаще являются следствием предшествующего лечения алкилирующими препаратами или блокаторами топоизомеразы II и, как правило, возникают в пределах одного кроветворного ростка. Случаи, когда у одного пациента имеет место параллельное течение двух опухолевых про-

цессов, возникших из различных ростков кроветворения (лимфоидного и миелоидного), встречаются крайне редко [3]. Интересен также тот факт, что от момента манифестации одного заболевания до выявления второго может проходить несколько лет [4]. Такие сочетания всегда вызывают особый интерес и спор у специалистов [5–7].

ММ, относящаяся к лимфопролиферативным заболеваниям, встречается с частотой от 0,1 до 6 случаев на 100 000 населения [8, 9]. ММ преимущественно болеют лица пожилого возраста, медиана заболеваемости составляет 68 лет [9]. Основными диагностическими критериями ММ считаются:

1) увеличение опухолевых плазматических клеток в костном мозге > 10%;

2) наличие патологического моноклонального иммуноглобулина (парапротеин) в сыворотке крови (IgG >30 г/л, IgA >20 г/л) и обнаружение в моче белка Бенс-Джонса >1 г/сут;

3) выявление нарушений функций органов или систем, связанных с миеломой, так называемый CRAB (наличие одного признака или более): Calcium — гиперкальциемия (содержание кальция в сыворотке крови >2,75 ммоль/л), Renal insufficiency — почечная недостаточность (уровень креатинина >0,173 ммоль/л), Anaemia — анемия (уровень гемоглобина <100 г/л), Bone lesions — обнаружение генерализованного остеопороза, очагов деструкции костной ткани, патологических переломов при рентгенологическом обследовании [8—12].

Следует отметить, что при несекретирующем варианте ММ, встречающемся в 1—4% случаев [9, 10], достоверным будет считаться диагноз при наличии в миелограмме > 30% плазматических клеток и органных повреждений.

Одной из важных особенностей ММ является очаговость поражения костной ткани, что важно помнить при диагностике заболевания, когда исследуется костномозговой пунктат, так как иногда можно получить заключение миелограммы о том, что данный участок костного мозга либо соответствует норме, либо характеризуется незначительным повышением плазматических клеток. В связи с этим на этапе диагностики при ММ проводятся не только стерильные пункции (билатерально) и изучение моноклонального парапротеина, но и трепанобиопсия и исследование функций органов (CRAB). Необходимо также оценить иммунофенотип плазматических клеток (CD38+, CD138+, CD28+, CD44+, CD56+, CD58+, clg) [9].

Сублейкемический миелофиброз (ХИМФ) — одно из хронических миелопролиферативных заболеваний, уже в дебюте которого наблюдается выраженный фиброз костного мозга [13]. Выявляется чаще у пожилых пациентов старше 60 лет. Заболеваемость составляет 0,3—1,5 на 100 000 населения в год [14]. Клинико-диагностические критерии данного заболевания, предложенные Polycythemia vera study group (PVSG, США), следующие [14—16]:

- спленомегалия и/или гепатомегалия;
- миелофиброз, занимающий > 1/3 гистологического препарата, который выявляется при трепанобиопсии подвздошной кости. При морфологическом исследовании пунктата костного мозга часто наблюдаются снижение миелокариоцитов и омоложение нейтрофильного ростка вплоть до бластных элементов. Кроме того, отмечаются базофилия, повышенное содержание аномальных мегакариоцитов;

- лейкоэритробластическая картина периферической крови. В периферической крови наблюдается лейкоцитоз со сдвигом до промиелоцитов, иногда базофилия. Анемия различной степени выраженности с каплевидными эритроцитами. Часто имеет место тромбоцитоз;
- отсутствие увеличения массы циркулирующих эритроцитов;
- отсутствие Ph-хромосомы при цитогенетическом исследовании, патогномоничной для хронического миелолейкоза, и выявление гена *JAK2V617F* [17, 18].

В практической деятельности врач-гематолог может наблюдать у 10—30% больных ММ фиброз костной ткани [19, 20], сопровождающийся спленомегалией, характерной в большей мере для ХИМФ, а не для ММ [21]. Однако в таком случае миелофиброз является вторичным по отношению к ММ [21] и развивается в результате стимуляции цитокинов, которые продуцируются плазматическими клетками [22]. При склерозирующей форме ММ клиническая картина может напоминать не только ММ, но и идиопатический миелофиброз. Таким образом, при положительном ответе на лечение ММ наблюдается и улучшение течения фиброза [23—25]. В литературе крайне редко встречаются описания сочетания ММ и ХИМФ, которые диагностированы одновременно и не были результатом трансформации одного заболевания в другое вследствие проведения цитостатической терапии [3, 26]. Для иллюстрации вышеизложенного приводим описание клинического случая, наблюдаемого нами в 2005—2009 гг.

Больная ПНВ, 54 лет, в декабре 2005 г. обратилась с жалобами на быструю утомляемость, слабость, боли в позвоночнике.

Из анамнеза выяснено, что у пациентки с сентября 2005 г. появились боли в позвоночнике. На рентгенограммах позвоночника выявлялся остеопороз. Больной провели курс мануальной терапии, после которого отмечалось усиление болей. Лечение нестероидными противовоспалительными препаратами также не дало положительного эффекта. В декабре 2005 г. в клиническом анализе крови выявлен лейкоцитоз с увеличением числа бластных элементов до 5%, что привело к госпитализации в гематологический стационар Санкт-Петербурга.

При объективном обследовании обнаружена спленомегалия: селезенка умеренной плотности, край ее пальпировался на 2 см ниже реберной дуги. Печень и лимфатические узлы не были увеличены. При ультразвуковом обследовании также наблюдалась умеренная спленомегалия (128 × 61 мм). На рентгенограмме (рис. 1, а) и магнитно-резонансной томограмме (рис. 1, б) пояснично-крест-

цового отдела позвоночника в декабре 2005 г. выявлены компрессионные переломы тел XI грудного, I и V поясничных позвонков. В клиническом анализе крови (12.12.2005 г.): гемоглобин — 118 г/л, эритроциты $3,9 \times 10^{12}/л$; лейкоциты $18,9 \times 10^9/л$; лейкоцитарная формула: бластные клетки — 4%, промиелоциты — 0,5%, миелоциты — 6%, метамиелоциты — 2%, палочкоядерные нейтрофилы — 15%, сегментоядерные нейтрофилы — 37%, эозинофилы — 3%, базофилы — 13%, лимфоциты — 18,5%, моноциты — 1%; тромбоциты $666,4 \times 10^9/л$, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) — 17 мм/ч. При морфологическом исследовании стернального пункта (12.12.2005 г.) установлено, что костный мозг гипоклеточный (число миелокариоцитов $20,5 \times 10^9/л$). Отмечались усиление пролиферации нейтрофилов со сдвигом до миелобластов — 5,6%, базофилия — 7,4% (рис. 2, а). Мегакариоцитарный росток расширен, визуализировались большие скопления тромбоцитов, а также плазмоклеточная реакция (3,2%). Других исследований не проводилось. На основании полученных данных был установлен диагноз хронического миелолейкоза. Больная в течение 2 мес получала гидроксимочевину по 1000 мг в день.

Эффекта от терапии не наблюдалось, а состояние больной прогрессивно ухудшалось, в мае 2006 г. она обратилась в гематологическую клинику Российского НИИ гематологии и трансфузиологии с жалобами на интенсивные боли в ребрах, позвоночнике, плечевых и тазовых костях, головную боль, потливость, слабость, снижение массы тела, уменьшение роста. При осмотре было выявлено укорочение роста больной на 7 см, при пальпации свода черепа определялись дефекты костей от 0,5 до 1,5 см в диаметре, а также умеренная спленомегалия (+2 см) и гепатомегалия (+1 см). В гемограмме (22.05.2006 г.) отмечались анемия (уровень гемоглобина — 100 г/л, число эритроцитов $3,5 \times 10^{12}/л$), лейкоцитоз ($14 \times 10^9/л$); формула: миелобласты — 1%, промиелоциты — 1%, миелоциты — 16%, метамиелоциты — 13%, палочкоядерные нейтрофилы — 6%, сегментоядерные нейтрофилы — 38%, эозинофилы — 2%, базофилы — 6%, лимфоциты — 16%, моноциты — 1%; тромбоциты $303 \times 10^9/л$, СОЭ — 28 мм/ч.

При морфологическом исследовании стернального пунк-

тата (25.05.2006 г.) выявлено: содержание миелокариоцитов $68 \times 10^9/л$, мегакариоцитов 18–20 в препарате, интенсивно отделяющих пластинки. Содержание костного мозга было следующим: общее число клеток нейтрофильного ряда — 40,4% (миелобласты — 1,6%, промиелоциты — 0,8%, миелоциты нейтрофильные — 3,2%, метамиелоциты нейтрофильные — 8,8%, палочкоядерные нейтрофилы — 10%, сегментоядерные нейтрофилы — 15,2%), эозинофилы — 1,6%, базофилы — 2,8%, лимфоциты — 6,2%, моноциты — 0%, плазматические клетки — 44,6%, эритроидные клетки — 2,8%. На основании полученных данных было установлено, что костный мозг нормоклеточный, имела место умеренная базофилия. Мегакариоцитарный росток расширен, определялось огромное скопление тромбоцитов. Наблюдалась плазмоклеточная инфильтрация до 44,6% (рис 2, б).

Гистологическое исследование трепанобиоптата (11.05.2006) из крыла подвздошной кости позволило выявить, что клеточность костного мозга повышена за счет пролиферации клеток гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков. Гранулоцитопозз сохранен, созревание не нарушено, отмечалось увеличение числа промежуточных форм. Имело место выраженное увеличение числа эозинофильных лейкоцитов. Количество мегакариоцитов было значительно выше нормы, и они образовывали

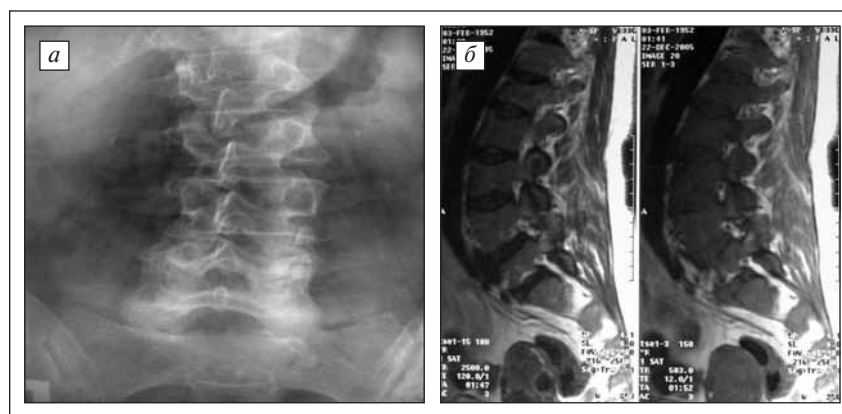


Рис. 1. Рентгенограмма (а) и магнитно-резонансная томограмма (б) поясничного отдела позвоночника — компрессионные переломы тел позвонков L1, L3, L5

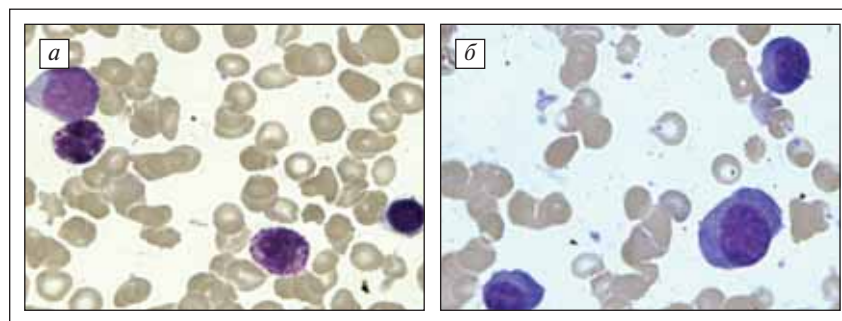


Рис. 2. Костный мозг (окрашивание по Паппенгейму, $\times 1000$): а — миелобласт, базофилы; б — плазмоциты разной степени зрелости

кластеры. Мегакариоциты имели в основном мелкие и средние размеры с 1 или 2 небольшими округлыми ядрами. Эритропоэз сужен, нормобластический. Около 1/3 площади среза занимали очаги, состоящие из плазматических клеток среднего размера. Среди них встречались 2-ядерные формы, а также немногочисленные плазмобласты. Небольшие группы плазматических клеток располагались также в интерстициях. Имелись участки с картиной остеомиелофиброза (рис. 3, а и б). Окраска солями серебра по Гордену позволила выявить диффузный ретикулиновый фиброз до 50% от площади. При иммуногистохимическом исследовании наблюдалось наличие изменений, соответствующих плазмноклеточной миеломе, что подтверждалось позитивной экспрессией CD138 и ЕМА.

Цитогенетическое исследование кариотипа костного мозга не выявило Ph-хромосому и другие аномалии (46XX, нормальный кариотип в 20 митозах). Также не были обнаружены при помощи полимеразной цепной реакции транскрипт t(9;22) BCR/ABL, патогномичный для хронического миелолейкоза, и ген JAK2V617F тирозинкиназы, встречающийся у 50% больных ХИМФ [17, 18]. Однако в сыворотке крови была выявлена гиперкальциемия (ионизированный Ca^{2+} составлял 1,55 ммоль/л при норме до 1,2 ммоль/л). Не наблюдалось существенных изменений фракций белка крови (общий белок — 80,5 г/л; фракции: альбумины — 51,4, глобулины: α_1 — 4, α_2 — 7,3, β — 16,5, γ — 20,5%; М-компонент отсутствовал) и иммуноглобулинов (IgG — 20,39, IgA — 5,74, IgM — 1,93 г/л). β_2 -Микроглобулин в сыворотке крови был повышен и составлял 4,54 мкг/мл (в норме 1–3). Активность щелочной фосфатазы нейтрофилов — 25%, $K=0,38$. При исследовании анализа мочи также значительных отклонений от нормы не зафиксировано: белок составлял 0,35 г/л, белок Бенс-Джонса не обнаружен.

На рентгенограмме черепа (рис. 4, а) выявлены множественные очаги деструкции костной ткани различных размеров (от 2 до 21 мм); на рентгенограмме левой плечевой кости опреде-

лялся участок деструкции костной ткани в области хирургической шейки (рис. 4, б); на рентгенограмме пояснично-крестцового отдела позвоночного столба в боковой проекции обнаружены компрессионные переломы тел I, III и V поясничных позвонков (рис. 4, в). На рентгеновских снимках тазобедренных суставов выявлялись выраженный остеопороз, очаги деструкции в большом вертеле правой бедренной кости (рис. 4, г), в подвздошных костях (рис. 4, г и д).

Таким образом, на основании опухолевой инфильтрации костного мозга из грудины (44,6% плазматических клеток) и в трепанобиоптате из подвздошной кости, позитивной экспрессии CD138 и ЕМА по результатам иммуногистохимии, множественных очагов деструкции костей и компрессионных переломов позвонков, выявленных при рентгенологическом обследовании костей скелета, гиперкальциемии, повышения β_2 -микроглобулина, у пациентки была диагностирована ММ, несекретирующий вариант. В то же время у больной было выявлено: спленомегалия (+2 см из-под реберной дуги), в гемограмме (декабрь 2005 г.) — лейкоцитоз ($18,9 \times 10^9/\text{л}$) со сдвигом до бластных элементов, базофилия (13%), анемия с каплевидными эритроцитами и тромбоцитоз, в миелограмме (12.12.2005 г.) — омоложение нейтрофильного роста (бласты 5,6%), базофилия (7,4%) и мегакариоцитоз, в трепанобиоптате (11.05.2006 г.) — ретикулиновый и коллагеновый фиброз, цитогенетически — отсутствие Ph-хромосомы, что позволило диагностировать у пациентки второе заболевание — ХИМФ.

При выборе химиотерапевтического лечения учитывалось, чтобы химиопрепараты могли действовать на миелоидный и лимфоидный клоны опухолевых клеток. В связи с этим было решено проводить терапию по программе VAD (винкристин 0,4 мг и доксорубин 15 мг/сут в виде круглосуточной инфузии на дозаторе в 1–4-е сутки, дексаметазон по 40 мг в 1–4-й дни). Данная программа широко используется для лечения ММ. В то же время благодаря наличию антрациклино-

вого антибиотика она может применяться и при миелопролиферативных заболеваниях [26, 27]. Кроме того, в связи с выраженностью болевого синдрома и наличие множественных очагов деструкции костей и гиперкальциемии (ионизированный Ca^{2+} 1,55 ммоль/л) пациентке ежемесячно вводилась золедроновая кислота по 2 мг. После 5 курсов программного лечения отмечалась положительная динамика: купирован болевой синдром в костях, уменьшилась се-

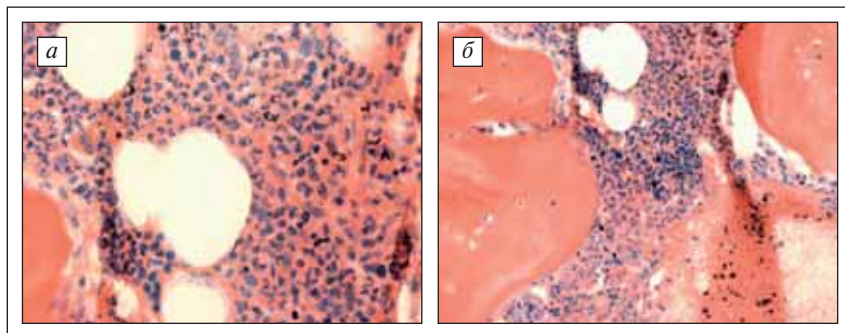


Рис. 3. Трепанобиопсия подвздошной кости (окрашивание гематоксилином и эозином):

а — фиброзная ткань с инфильтрацией плазмоцитов ($\times 100$); б — фиброзная ткань с примесью плазмоцитов, гранулоцитов и мегакариоцитов ($\times 400$)

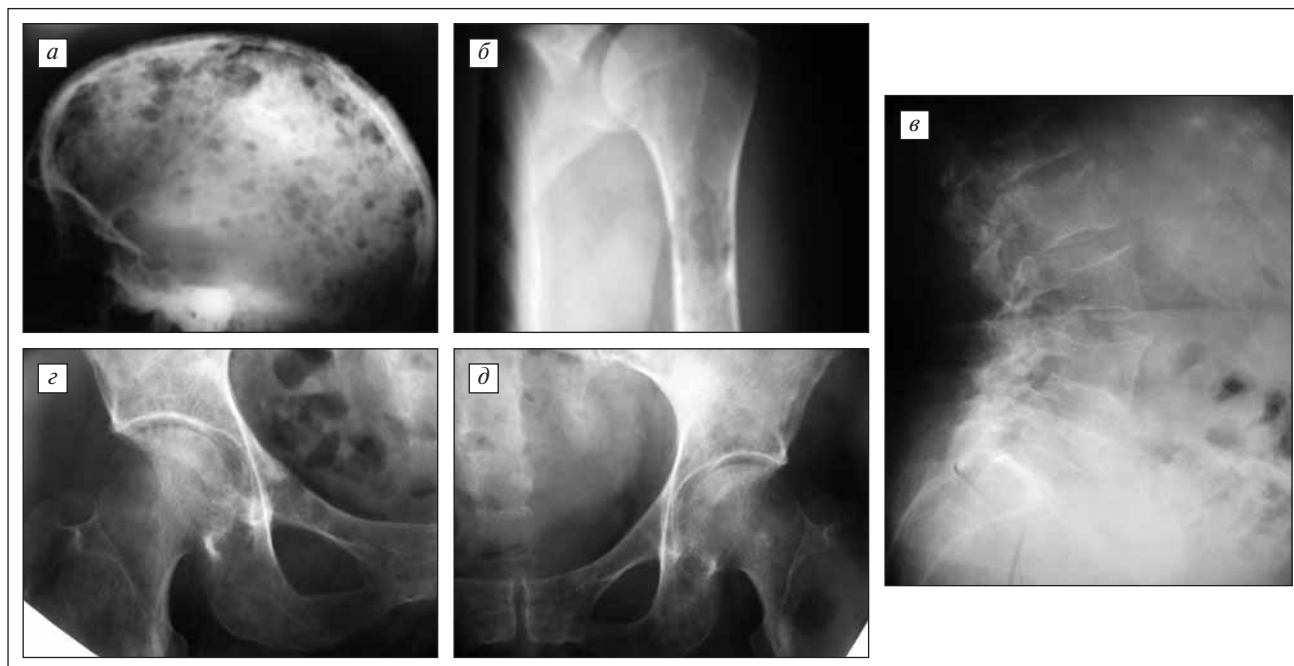


Рис. 4. Рентгенограммы костей скелета: а — множественные очаги деструкции костей черепа размерами от 2 до 22 мм; б — очаг деструкции в области хирургической шейки левой плечевой кости; в — компрессионные переломы тел I, III, V поясничных позвонков; г — правый тазобедренный сустав — очаг деструкции в области большого вертела, остеопороз; д — левый тазобедренный сустав — очаги деструкции, остеопороз

лезенка (при пальпации не определялась), снизился уровень ионизированного кальция в крови до 1,19 ммоль/л (норма 1—1,2), а в миелограмме существенно уменьшилось число плазматических клеток (с 44,6 до 3,6%). Однако у больной сохранялись жалобы на слабость, повышенную утомляемость, в гемограмме наблюдались признаки анемии с уровнем гемоглобина 89 г/л, при этом уровни сывороточного железа и ферритина были в пределах нормы и составляли 11,9 мкмоль/л (норма 9—31,3) и 127,2 мкг/л (норма 22—310) соответственно, в то время как содержание сывороточного эритропоэтина было существенно повышено — 536 нмоль/л (норма 2,6—34). Для коррекции анемии пациентке был проведен курс рекомбинантным эритропоэтином-β (рекормон) по 10 000 МЕ 3 раза в неделю подкожно в комплексе с курсом консолидирующей терапии (2 курса VAD). На фоне лечения эритропоэтином-β у больной через 11 нед полностью купировались симптомы анемии и повысились показатели красной крови (табл. 1).

При оценке результатов лечения мы использовали данные пунктата грудины (0,9% плазматических клеток), трепано-биопсии подвздошной кости

(плазмноклеточной инфильтрации не обнаружено), кальция сыворотки крови (1,19 ммоль/л), гемограммы (отсутствие анемии), рентгенологического исследования (новых очагов деструкции не выявлено, в плечевой кости — консолидация очага). Полученные данные позволили установить клинко-гематологическую ремиссию ММ и отметить положительную динамику ХИМФ (уменьшение размеров селезенки, нормализация числа лейкоцитов и тромбоцитов, формулы лейкоцитов). Поэтому в качестве поддерживающей терапии ММ использовали бортезомиб (по 1,3 мг/м² в 1, 4, 8 и 11-й дни

Таблица 1. Динамика гемограммы у больной на фоне лечения химиопрепаратами и эритропоэтином-β

Показатель	Дата выполнения гемограммы	
	24.11.2006 г. (до терапии)	09.02.2007 г. (через 11 нед)
Гемоглобин, г/л	89	123
Эритроциты, × 10 ¹² /л	2,85	3,79
Тромбоциты, × 10 ⁹ /л	141	177
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л	3	3,5
Формула:		
палочкоядерные нейтрофилы, %	7	7
сегментоядерные нейтрофилы, %	66	47
эозинофилы, %	1	1
базофилы, %	0	0
лимфоциты, %	18	38
моноциты, %	8	7
СОЭ, мм/ч	10	11

внутривенно — в/в) с интерфероном- α (реаферон по 2 000 000 МЕ 3 раза в неделю подкожно). Цель терапии интерфероном- α — антипролиферативное действие на опухолевые клетки ХИМФ [13]. Однако доза интерферона- α была редуцирована с 3 000 000 до 2 000 000 МЕ из-за плохой его переносимости пациенткой (озноб, боли в мышцах, костях, лихорадка до 39,4°C). Данный вид терапии проводился в течение 3 мес.

С февраля 2008 г. (через 5 мес после последнего курса VAD) у больной появились признаки прогрессирования ХИМФ: утомляемость, потливость, лихорадка до 38,2°C, увеличилась селезенка до +6 см из-под реберной дуги, возникла правосторонняя нижнедолевая пневмония (26.02.2008 г.); в гемограмме (27.03.2008 г.) наблюдались базофилия (24%), повышение тромбоцитов ($1009 \times 10^9/\text{л}$). Такое развитие событий потребовало проведения более интенсивного курса терапии по программе 5+2 (цитозар по 100 мг 2 раза в день с 1-го по 5-й дни, доксорубицин по 60 мг в 1—2-й дни), после которого у пациентки на протяжении 4 нед наблюдалась постцитостатическая цитопения. После проведения курса терапии у больной нормализовалась температура тела, сократилась селезенка (не пальпировалась), хотя показатели гемограммы существенно не изменились (табл. 2). С учетом улучшения общего состояния, длительного периода постцитостатической цитопении и риска развития

септических осложнений больной амбулаторно проводили лечение гидреа (по 500 мг/сут) и интерфероном- α (по 2 000 000 МЕ 3 раза в неделю). В результате проведения назначенной терапии удалось избежать прогрессирования болезни в течение 4 мес. Однако с сентября 2008 г. у больной вновь появились слабость, утомляемость, фебрильная температура (до 38,5°C), спленомегалия (+7 см из-под реберной дуги). При контрольном обследовании в гемограмме и миелограмме выявлен бластоз > 20% (табл. 2 и 3), что позволило установить трансформацию ХИМФ в острый миелоидный лейкоз, подтвержденный результатами цитохимического исследования. Пациентке было проведено в стационаре 2 курса терапии по программе 5+2 в редуцированных дозах (цитозар по 100 мг 2 раза в день с 1-го по 5-й дни, доксорубицин по 30 мг в 1—2-й дни) из-за гипоклеточности костного мозга, высокого риска длительного течения постцитостатической цитопении и опасности развития инфекционных осложнений. После проведенных курсов терапии у больной отмечалось клиническое улучшение: нормализовалась температура тела, селезенка пальпаторно не выявлялась, улучшились показатели гемограммы (см. табл. 2). В декабре (25.12.2008 г.) больная выписана под наблюдение гематолога поликлиники. В качестве поддерживающей терапии пациентке был рекомендован пуринол по 50 мг/сут.

Таблица 2. Показатели гемограммы пациентки в процессе прогрессирования и последующей трансформации ХИМФ в острый миелоидный лейкоз

Показатель	Дата выполнения гемограммы				
	27.03.2008 г.	12.05.2008 г.	30.09.2008 г.	16.10.2008 г.	25.12.2008 г.
Гемоглобин, г/л	130	119	125	126	115
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,6	4,3	4,2	5,1	4,12
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	5,4	5,5	5,1	5,1	5,2
Бласты, %	2	1	11	27	4
Промиелоциты, %	0	2	2	1	1
Миелоциты нейтрофильные, %	1	0	3	0	1
Метамиелоциты нейтрофильные, %	0	0	0	0	1
Палочкоядерные нейтрофилы, %	2	3	2	3	3
Сегментоядерные нейтрофилы, %	43	41	11	14	14
Эозинофилы, %	2	0	2	5	0
Базофилы, %	24	12	8	15	13
Лимфоциты, %	24	39	56	35	61
Моноциты, %	2	2	5	0	2
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1009	1118	275	326	884
СОЭ, мм/ч	17	30	17	31	20

Примечание. Анизоциты, макроциты, каплевидные эритроциты; полихромазия. Гигантские тромбоциты. Тромбобласты 4/100.

Заключение

Приведенное клиническое наблюдение представляет огромный интерес с научной и практической точки зрения по многим аспектам. У одной пациентки выявлено редкое сочетание двух онкогематологических заболеваний, характеризующееся поражением 2 ростков кроветворения — лимфоидного (ММ) и миелоидного (ХИМФ). Трудности, возникшие при диагностике ММ, были связаны с низкой клеточностью костного мозга и исходно низким содержанием плазматических клеток в пунктате грудины, а также с отсутствием изменений белковых фракций, М-компонента в крови и протеинурии. Тем не менее при рентгенологическом исследовании костей скелета у больной обнаружены характерные для ММ изменения, включавшие множественные деструкции в костях черепа, таза, плечевых костях, компрессионные переломы тел позвонков. При дальнейшем комплексном клинικο-гематологическом обследовании также выявлена анемия, в сыворотке крови — гиперкальциемия, повышение β_2 -микроглобулина, в миелограмме и трепанобиоптате из подвздошной кости — плазмоклеточная инфильтрация с позитивной экспрессией CD138 и ЕМА при иммуногистохимическом обследовании. На основании полученных данных был установлен диагноз ММ, несекретирующий вариант. В то же время увеличение размеров селезенки, наличие лейкоцитоза со сдвигом формулы до миелобластов, выраженной базофилии, тромбоцитоза, понижения клеточности костного мозга, омоложение нейтрофильного ростка, базофилия, коллагеновый фиброз в трепанобиоптате позволили диагностировать ХИМФ. Отсутствие филадельфийской хромосомы при цитогенетическом исследовании исключило хронический миелоцитарный лейкоз.

В связи с обнаружением двух заболеваний лимфоидной и миелоидной природы назначена программная химиотерапия (VAD), которая оказалась эффективной в отношении ММ и ХИМФ. С достижением полной клинικο-гематологической ремиссии ММ и прекращением программного лечения (VAD) у пациентки отмечено прогрессирование ХИМФ. В то же время известно, что при вторичном фиброзе, возникающем на фоне ММ и фиброза костной ткани при склерозирующей форме ММ, фиброз имеет тенденцию к регрессу в случае достижения положительного ответа на химиотерапию в отношении ММ [23—25]. Тем не менее у нашей больной после получения клинικο-гематологиче-

Таблица 3. Показатели миелограммы (30.09.2008 г.)

Показатель	Миелограмма
Миелокарициты, $\times 10^{12}/л$	8
Бласты, %	21,2
Промиелоциты, %	0,8
Миелоциты нейтрофильные, %	0,8
Метамиелоциты нейтрофильные, %	1,2
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1,2
Сегментоядерные нейтрофилы, %	6
Всего нейтрофилов, %	10,4
Эозинофилы, %	2,4
Базофилы, %	7,2
Лимфоциты, %	8,4
Моноциты, %	1,2
Плазмциты, %	0,4
Эритроидные клетки, %	34,4
Мегакарициты, %	13,2
Клетки ретикулоэндотелиальной системы, %	1,6

ской ремиссии ММ наблюдалось дальнейшее прогрессирование фиброза с последующей трансформацией в острый миелоидный лейкоз. В связи с этим ей проводилось программное лечение острого лейкоза (5+2).

Приведенное наблюдение одновременного течения двух заболеваний из миелоидной и лимфоидной ткани позволяет предположить возникновение опухолевого процесса исходно из стволовой клетки-предшественницы, общей для миелоидной и лимфоидной линий, которая в процессе биологической эволюции разделилась на 2 клонa. Возможно также и одновременное возникновение 2 опухолей. Однако вероятность этого крайне мала, так как сочетание ММ и ХИМФ у одной больной возникает менее чем в 1 случае на 1,5—2 млрд человек.

Таким образом, приведенные выше данные показали возможность параллельного течения двух онкогематологических заболеваний у одной пациентки, что имело существенные трудности на этапе диагностики и потребовало проведение программного лечения с использованием антрациклиновых противоопухолевых антибиотиков.

Л и т е р а т у р а

1. Андреева Н.Е. Миеломная болезнь. Руководство по гематологии в 2 т. Под ред. А.И. Воробьева. М.: Медицина, 1985. с. 292—308.
2. Созин С.Е., Салогуб Г.Н. Случай развития острого мегакариобластного лейкоза (M7) у больной с клинической ремиссией множественной миеломы. Клин онкогематол 2008;(2):141—4.
3. Takada M., Umeda M., Shikoshi K., Shirai T. IgG lambda-type multiple myeloma associated with myelofibrosis accompanied by thrombocytosis. Rinsho Ketsueki 1991;32(9):1001—5.
4. Dührsen U., Uppenkamp M., Meusers P. et al. Frequent association of idiopathic myelofibrosis with plasma cell dyscrasias. Blut 1988;56(3): 97—102.
5. Kawauchi K., Mori H., Sugiyama H. et al. Multiple myeloma with coexistent myelofibrosis: Improvement of myelofibrosis following recovery from multiple myeloma after treatment with melphalan and prednisolon. Jpn J Med 1991;30(5):483—6.
6. Krzyzaniak R.L., Buss D.H., Cooper M.R., Wells H.B. Marrow fibrosis and multiple myeloma. Am J Clin Pathol 1988;89(1):63—8.
7. Vandermolen L., Rice L., Lynch E.C. Plasma cell dyscrasia with marrow fibrosis. Clinicopathologic syndrome. Am J Med 1985;79(3):297—302.
8. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. Гематология: Новейший справочник. Под ред. К.М. Абдулкадырова. М.: Эксмо; СПб.: Сова; 2004. с. 593—665.
9. Вотякова О.М., Демина Е.А. Множественная миелома. Клиническая Онкогематология. Руководство для врачей. Под ред. М.А. Волковой. М.: Медицина, 2007. с. 847—73.
10. Андреева Н.Е., Балакирева Т.В. Множественная миелома. Руководство по гематологии в 3 т. Под ред. А.И. Воробьева. М.: Ньюдиамед, 2003. с. 151—73.
11. Grogan G.M., Van Camp B., Kyle R.A. et al. Plasma cell neoplasms. In: Pathology and Genetics: Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. E.S. Jaffe, N.L. Harris, Y. Stein et al. eds. Lyon: IARC Press, 2001. p. 142—56.
12. Huang Y.W., Hamilton A., Arnuk O.J. et al. Current drug therapy for multiple myeloma. Drugs 1999;57(4):485.
13. Бессмельцев С.С. Хронический идиопатический миелофиброз. Гематология. Новейший справочник. Под ред. К.М. Абдулкадырова. М.: Эксмо; СПб.: Сова, 2004. с. 556—71.
14. Демидова А.В. Хронический идиопатический миелофиброз. Клиническая Онкогематология. Руководство для врачей. Под ред. М.А. Волковой. М.: Медицина, 2007. с. 616—30.
15. Абдулкадыров К.М. Хронический идиопатический миелофиброз. Клиническая гематология. Справочник. СПб.: Питер, 2006. с. 181—6.
16. Laszlo J., Huang A.T. Semin Hematol 1975;2:403.
17. Colagrande M., Di Ianni M., Coletti G. et al. Toxic epidermal necrolysis in a patient with primary myelofibrosis receiving thalidomide therapy. Int J Hematol 2009;89(1):76—9.
18. Zhang Y., Li L., Nie L. et al. Clinical study on relationship between JAK2 V617F mutation and chronic myeloproliferative disorders. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi 2008;29(2):105—9.
19. Abildgaard N., Bendix-Hansen K., Kristensen J.E. et al. Bone marrow fibrosis and disease activity in multiple myeloma monitored by the aminoterminal propeptide of procollagen III in serum. Br J Haematol 1997;99(3):641—8.
20. Subramanian R., Basu D., Dutta T.K. Significance of bone marrow fibrosis in multiple myeloma. Pathology 2007;39(5):512—5.
21. Vedrine L., Boucher E., Samson T. et al. Mieloid pseudo-splénomégaly in patient with a myeloma. Press Med 2002;31:1846—8.
22. Stevenson J.P., Schwarting R., Schuster S.J. Analysis of clonality using X-linked polymorphisms in a patient with multiple myeloma and myelofibrosis. Am J Hematol 1998;59(1):79—82.
23. de la Serna J., Bornstein R., Lahuerta-Palacios J.J. The use of an expanded circulating hematopoietic progenitor cell pool associated with bone marrow fibrosis for the support of autologous transplantation in IgD multiple myeloma. Bone Marrow Transplant 1997;19(10):1033—6.
24. Kanoh T., Okuma M. IgD (lambda) multiple myeloma associated with myelofibrosis: an isolated case of nuclear physicist. Rinsho Ketsueki 1996;37(3):244—8.
25. McCluggage W.G., Jones F.G., Hull D. et al. Sclerosing IgA multiple myeloma. Acta Haematol 1995;94(2):98—101.
26. Murayama T., Matsui T., Hayashi Y. et al. Plasma cell leukemia with myelofibrosis. Ann Hematol 1994;69(3): 151—2.
27. Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. Клиническая гематология. Справочник. СПб.: Питер, 2006. с. 220—41.

ТЕХНОЛОГИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК *EX VIVO* ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Т.В. Шаманская^{1,2}, Е.Ю. Осипова^{1,2}, С.А. Румянцев^{1,2}

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Минздрава России, Москва; ²ГУЗ Банк стволовых клеток Департамента здравоохранения г. Москвы

Контакты: Татьяна Викторовна Шаманская totti111@list.ru

В настоящее время мезенхимальные стволовые клетки (МСК) находят все более широкое клиническое применение в различных областях медицины. Однако, несмотря на потребность в больших количествах человеческих МСК для клинической практики, имеется ограниченная информация относительно оптимизации условий культивирования, требуемых для их продукции. В настоящей статье обобщены данные литературы, касающиеся различных условий выделения и культивирования МСК. Рассмотрено влияние основной среды, плотности пассажа клеток, наличия или отсутствия эмбриональной телячьей сыворотки и других параметров на пролиферацию МСК. Представлены данные об использовании трехмерных структур и различных видов биореакторов для *ex vivo* экспансии МСК. Рассмотрены особенности мультилинейной дифференцировки МСК.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, культивирование *ex vivo*, дифференцировка, клеточные культуры

MESENCHYMAL STEM CELLS *EX VIVO* CULTIVATION TECHNOLOGIES FOR CLINICAL USE

T.V. Shamanskaya^{1,2}, E.Yu. Osipova^{1,2}, S.A. Roumiantsev^{1,2}

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow; ²Moscow Stem Cells Bank, Moscow

Now mesenchymal stem cells (MSC) are more widely applied in different areas of medicine. However, despite requirement for considerable quantities of human MSC for clinical practice, there is restricted information concerning culture conditions optimization required for their production. In present article the literature review, concerning various conditions of MSC extraction and culture, is presented. Influence of culture medium, cells passage density, fetal calf serum presence or absence and other conditions on MSC proliferation is surveyed. Data concerning use of three-dimensional structures and various bioreactors for *ex vivo* expansion are presented. MSC multilineage differentiation features are surveyed.

Key words: mesenchymal stem cells, *ex vivo* expansion, differentiation, cell cultures

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) являются частью микроокружения костного мозга и играют важную роль в поддержании и регулировании пролиферации и дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) [1, 2]. В настоящее время показано, что МСК имеют большой терапевтический потенциал из-за их способности к самообновлению и дифференцировке в различные ткани [3], включая остеобласты, адипоциты, хондроциты, миоциты, нейроны, глиальные клетки и гепатоциты при определенных условиях [4–8]. В ряде исследований было продемонстрировано, что МСК способны подавлять пролиферацию Т-лимфоцитов *in vitro* и угнетать дифференцировку дендритных клеток и, таким образом, оказывают иммуносупрессивное действие [9]. Это свойство МСК используется в трансплантологии для подавления реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Кроме того, W.A. Noort и соавт. [10] показали, что МСК влияют также на приживление ГСК. В настоящее время культивированные МСК пытаются использовать в ортопедии, хирургии, кардиологии, неврологии.

Первоначально МСК были изолированы из костного мозга, стромы селезенки и тимуса, в дальнейшем были описаны другие источники МСК, например трабекулярная кость [11, 12]. МСК также найдены в жировой и хрящевой ткани, стенке сосудов, синовиальной жидкости и надкостнице [13, 14]. В костном мозге человека МСК составляют 0,001–0,01% от всех ядродержащих клеток [15]. S.A. Wexler и соавт. [16] определили, что частота встречаемости МСК в костном мозге взрослого человека — 1 клетка на 34×10^6 ядродержащих клеток. Авторы показали в своем исследовании, что наилучшим источником МСК для проведения исследований и применения в разработке клеточных методов терапии является костный мозг взрослого человека по сравнению с пуповинной и периферической кровью.

Впервые клиническое применение МСК, полученное путем экспансии *ex vivo*, было продемонстрировано в пилотном исследовании 15 добровольцев и показало безопасность *ex vivo* экспансии и последующего внутривенного (в/в) введения аутологичных МСК [17]. В исследование были включены

пациенты со злокачественными гематологическими заболеваниями, которые на момент сбора и культивирования МСК находились в стадии ремиссии, и которым не проводилась полихимиотерапия. Не отмечено никакой токсичности при в/в введении аутологичных МСК в дозе от 1×10^6 до 50×10^6 .

В I—II фазе клинических испытаний были оценены безопасность, выполнимость и гематopoэтические эффекты после в/в введения культивированных аутологичных МСК у больных раком молочной железы, перенесших высокодозную химиотерапию (ХТ) с введением ГСК [18]. Относительно маленькие объемы костного мозга (25 мл) получали при пункции гребней подвздошных костей. МСК культивировались *ex vivo*. При в/в введении МСК больным в дозе от 1×10^6 до $2,2 \times 10^6$ /кг никаких побочных эффектов не зафиксировано. У 13 из 21 больного культивированные МСК были обнаружены в крови в течение 60 мин после введения, что указывало на выживаемость МСК и короткое персистирование в кровяном русле. Восстановление гемопоэза у этих пациентов было быстрым (нейтрофилы >500 на 8-й день, тромбоциты $>20\,000$ на 8,5 дня). Но из-за того что всем пациентам вводились $CD34^+$ -клетки периферической крови, роль МСК в восстановлении гемопоэза точно подтверждена не была. Впоследствии для оценки роли МСК в восстановлении гемопоэза были предприняты рандомизированные исследования. Выделили 2 группы больных: те, кому после проведения высокодозной ХТ вводились культивированные МСК в дозе 2×10^6 /кг, и те, кому МСК не вводились. Предварительные данные показали, что МСК ускоряют гематологическое приживание [18].

В дальнейшем с учетом иммунологической инертности МСК предприняты попытки к использованию для введения больным аллогенных донорских МСК.

В Онкологическом центре Ирландии (Ireland Cancer Center) были начаты исследования по введению пациентам с лимфомами аллогенных МСК, полученных от донора. В некоторых центрах Европы и США изучали введение аллогенных МСК больным с онкологическими и генетическими заболеваниями при проведении аллогенной трансплантации костного мозга или введении периферических стволовых клеток. Предварительные данные свидетельствуют о положительном эффекте от введения МСК по сравнению с исторической контрольной группой. Исследования в этой области продолжаются.

В настоящее время клиническое применение МСК развивается быстрыми темпами как в трансплантологии — для улучшения приживания гемопоэтических клеток, снижения степени РТПХ, так и при лечении болезней обмена и для поставки множества терапевтических генов. В связи с этим появляется потребность в большом количестве культивированных МСК.

Культивирование

Число клеток, полученных после экспансии, напрямую зависит от возраста и пола донора, наличия у него травм и системных заболеваний [19—21]. Так, например, МСК, выделенные от пациентов с гепатитом В, дают более низкую кривую роста, хотя фенотипические характеристики не изменены и МСК экспрессируют те же самые иммунологические маркеры [19]. В исследовании А. Muraglia и соавт. [22] не отмечено какой-либо зависимости между фенотипом МСК, эффективностью клонирования и возрастом доноров костного мозга. В других работах не установлено зависимости между потенциалом хондрогенной дифференцировки и возрастом и полом донора [23].

Технические проблемы культивирования связаны, как правило, с методикой, используемой для экспансии, средой, количеством пассажей и рядом других факторов. Экспансия МСК может происходить за короткое время. Так, тысячекратного увеличения можно добиться путем культивирования в течение 2—3 нед [24]. МСК в культуре могут пролиферировать до 19 удвоений, не теряя при этом способности к пролиферации и дифференцировке [22]. Тем не менее проведение экспансии показало, что дифференцировочный потенциал постепенно уменьшается [25]. При длительном культивировании ухудшаются функции клеток, развивается апоптоз [21, 26]. Однако ретровирусная трансдукция гена человеческой теломеразы позволяет увеличить продолжительность жизни МСК до 260 удвоений, не теряя при этом мультилинейной дифференцировки [27]. С другой стороны, есть данные о том, что длительное культивирование может закончиться спонтанной трансформацией МСК, в результате чего они приобретут онкогенный потенциал [28]. В связи с этим необходимо идти на компромисс между количеством и качеством экспансированных клеток.

Поскольку МСК не экспрессируют четко определенные маркеры, то их выделение основано на способности прилипать к пластику [15]. Впервые это свойство МСК было описано А.Я. Фриденштейном и соавт. [11]. В этом исследовании цельный костный мозг культивировался на пластике. Через 4 ч неприлипшие клетки отмывались. Отмечено, что прилипшие клетки находились в покое в течение 2—4 дней, а затем быстро пролиферировали. Модификация этого протокола используется в настоящее время для культивирования МСК. Полученный объем костного мозга центрифугируют по градиенту плотности. При этой технике используются растворы с высокой плотностью (1,077 г/мл), низкой вязкостью и низким осмотическим давлением (Ficoll, Percoll). Это позволяет выделить моноклеарную фракцию костного мозга, содержащую МСК [29]. Была проведена работа по применению Ficoll с плотностью 1,073 г/мл, которая продемонстрировала, что с данной средой можно получить существ-

венно большее число МСК, чем при использовании для выделения клеток раствора Ficoll с плотностью 1,077 г/мл. При применении раствора Ficoll с более низкой плотностью значительно уменьшалось содержание CD45⁺-клеток и увеличивалось в 1,4 раза содержание CD45⁺/CD105⁺/CD90⁺/GD2⁺-клеток [30].

Для культивирования МСК наиболее часто используется среда Eagle's, модифицированная Dulbecco (DMEM), однако возможно применение и других сред. Это DMEM-LG с низким содержанием глюкозы (1 мг/мл) (Romanov и соавт., 2003), DMEM с низким содержанием глюкозы и L-глутамином (DMEM/LG/L-G), MEM (Quirici и соавт., 2002), а также DMEM-LG с MCD201 — 60—40% (Lennon и соавт., 1995) и др. Первичные культуры обычно поддерживаются в течение 10—12 дней с отмыванием от неприлипшей фракции гемопоэтических клеток. Условия культивирования включают инкубацию клеток с постоянной температурой 37°C во влажной атмосфере с 95% содержанием кислорода и добавлением 5% углекислого газа. Обычно питательные среды меняют каждые 2—3 дня. Когда клетки достигают монослоя, они обрабатываются трипсином, отмываются и собираются в новые флаконы.

С учетом отсутствия единых подходов к изоляции и экспансии МСК P.A. Sotiropoulou и соавт. [31] сравнивали условия культивирования МСК и влияние на него различных факторов с целью выработки оптимального протокола для культивирования МСК в больших количествах для дальнейшего их использования в клинической практике с сохранением их иммуносупрессивных свойств и мультилинейности. Было изучено влияние различных питательных сред, качества пластиковых флаконов, применения сыворотки, плотности пассажа клеток. Оценивалось влияние основного фактора роста фибробластов (bFGF) на экспансию МСК.

Используя различные питательные среды, авторы показали их существенное влияние на культивирование МСК. Однако они были едины во мнении, что среды, основанные на aMEM, более всего подходят для изоляции и экспансии МСК. В дальнейшем культивирование производилось на питательной среде aMEM/GL с различной плотностью пассажа клеток (от 1000 до 200 000 клеток/см²). Оптимальные условия для культивирования были достигнуты при плотности пассажа 1000 клеток/см², при этом их фенотип, иммуносупрессивные свойства, колониеобразующая активность, мультилинейный дифференцировочный потенциал *in vitro* не изменялись.

В других исследованиях также установлено, что плотность пассажа влияет на экспансию МСК. Условия культивирования были лучше при низкой плотности пассажа (N. Beyer Nardi, L. da Silva Meirelles, Colter).

Среды, которые сегодня используются для экспансии МСК, содержат инактивированную эмбриональную бычью или телячью сыворотку (FBS или FCS соответственно). Если для доклинических исследований применение сыворотки животных при культивировании не имеет столь большого значения, то различные регулирующие органы требуют более высоких стандартов безопасности при проведении клинических исследований на людях.

Важной проблемой при использовании сред с содержанием сыворотки животных является возможность передачи бактериальных и вирусных инфекционных агентов, а также прионов (болезнь Крейтцфельда — Якоба), развитие иммунных и локальных воспалительных реакций из-за контаминации бычьими белками, которые не могут быть исключены даже при проведении нескольких отмывок после экспансии. Это, в свою очередь, может привести к формированию антител, неприживлению или отторжению перелитых МСК, особенно если они вводились неоднократно. Описано развитие жизнеугрожающих аритмий у пациентов с заболеваниями сердца, которым вводились МСК, культивированные с добавлением FCS. При этом замена бычьей сыворотки на аутологичную предотвращала развитие подобных осложнений. Кроме того, в ряде стран регулирующими органами запрещено использование животной сыворотки.

Различные исследователи продемонстрировали, что использование различных партий эмбриональной телячьей сыворотки может привести к фенотипическим изменениям МСК. Этот факт указывает на влияние на селекцию и экспансию МСК неизвестных факторов (N. Beyer Nardi, L. da Silva Meirelles). В связи с этим проводятся попытки применения для экспансии МСК бессывороточных сред, аутологичной или аллогенной человеческой сыворотки.

В литературе существуют противоречивые данные по применению для экспансии МСК аутологичной сыворотки. Ряд авторов выявили ее преимущество перед FCS [32], другие этого преимущества не отметили [33—37]. N. Stute в своей работе показал, что МСК, культивированные в среде с добавлением 10% аутологичной сыворотки, морфологически не отличаются от МСК, выращенных с добавлением FCS. При этом клетки обладали равным пролиферативным потенциалом и сохраняли способность к мультилинейной дифференцировке. Вместе с тем у МСК, выращенных с добавлением аутологичной сыворотки, обнаружена более высокая способность к остеогенной дифференцировке, и, таким образом, данные условия культивирования могут рассматриваться для использования МСК при регенерации костных дефектов в ортопедии. Применение аутологичной сыворотки в меньшей концентрации (1, 3%) не позволяет добиться таких хороших результатов при культивировании,

однако при использовании более высоких концентраций сыворотки следует принимать во внимание необходимость получения большого количества крови [38]. Другим ограничением является колебание уровня ростовых факторов у пациентов после предшествующих курсов ХТ.

Рядом авторов были предприняты попытки применения бессывороточных сред. При использовании бессывороточной среды (UC) с добавлением 2% заменителя сыворотки ULTROSER (который содержит все факторы, необходимые для роста клеток, — факторы роста, витамины, гормоны, связывающие белки) авторы получили лучшие результаты экспансии и пролиферации МСК по сравнению с питательной средой α MEM с 15% FCS. Применение этой питательной среды позволяло МСК сохранять свой мультилинейный потенциал и способность поддерживать гемопоэз, а наличие в ней антиоксидантов улучшало жизнеспособность клеток. Кроме того, эта среда позволяла быстрее удалить CD 45⁺-клетки [39].

Ряд исследователей использовали для экспансии человеческую свежесзамороженную плазму с лизатом тромбоцитов [40]. Авторы исходили из того, что такая среда является естественным источником фактора роста, полученного из тромбоцитов (PDGF), который играет важную роль в пролиферации МСК. При добавлении к питательной среде DMEM-LG 2,5% свежесзамороженной плазмы кинетика пролиферации МСК зависела от концентрации тромбоцитов и была максимальной при показателе 10⁸ тромбоцитов/мл, что является физиологическим значением. При увеличении концентрации плазмы до 5% пролиферация МСК возрастала и уже не зависела от концентрации тромбоцитов. Авторы продемонстрировали, что МСК, выращенные в среде с плазмой и добавлением тромбоцитов, обладали сходными морфологическими, иммунологическими характеристиками и потенциалом дифференцировки с МСК, выращенными с использованием FCS.

Добавление в среду для культивирования МСК других факторов роста, например фактора роста фибробластов-2 (FGF-2), поддерживает их дифференцировочный потенциал. Несмотря на то что этот эффект не наблюдался в исследованиях с мышиными МСК [41], добавление FGF-2 при культивировании приводит к селекции клеток с увеличенной длиной теломера [42]. При добавлении в среду для культивирования FGF-2 Р.А. Sotiropoulou установил, что МСК меняют свою морфологию и фенотип (теряют веретенообразную форму, отмечается дозозависимое увеличение экспрессии HLA-DR, уменьшение экспрессии CD44). При добавлении FGF-2 в среду в концентрации > 5 нг/мл иммуносупрессивные свойства МСК были выше, что имеет важное значение в трансплантологии при лечении РТПХ. Важно, что в этом исследовании не было показано влияния

сред с добавлением FGF-2 на развитие опухоли. Что касается влияния этого фактора на дифференцировку МСК, то остеогенный и (в значительно меньшей степени) адипогенный потенциалы были увеличены, а способность к нейрогенной трансформации МСК — снижена. Остеогенная дифференцировка МСК *in vivo* была более выражена при увеличении концентрации FGF-2 > 5 нг/мл.

На выделение и проведение культивирования оказывает влияние также качество пластиковой поверхности, используемой как для выделения, так и для культивирования МСК. В исследовании, оценивавшем эффективность культивирования МСК в зависимости от свойств адгезивной поверхности, использовались флаконы 4 различных компаний. Лучшие результаты культивирования были показаны при использовании мешков фирмы «Falcon», по сравнению с «Costar», «Nunc», «Greiner». Качество пластика влияло на пролиферативный потенциал, но не оказывало влияния на качественные характеристики клеток.

Однослойное культивирование — основная и наиболее экономичная техника, используемая для экспансии МСК. Для этого обычно применяют чашки Петри, культуральные флаконы, стаканы и др. Качество пластика, как уже упоминалось, особенно важно для того, чтобы гарантировать наилучшее прилипание клеток к стенкам сосуда. В то же время у этого метода обнаружены и отрицательные моменты, одним из которых является снижение дифференцировочного потенциала с увеличением количества пассажей. Выявлено, что когда клетки нуждаются в имплантации, данный метод культивирования может нарушить их остеогенный и хондрогенный потенциал [43]. В этом исследовании показано, что активность щелочной фосфатазы (ЩФ) и содержание остеокальцина были значительно снижены по сравнению с трехмерными культурами. Это же относится и к хондрогенной дифференцировке. Хондроциты в однослойных культурах становятся фибробластоподобными со сниженной способностью продуцировать протеогликаны, изменяется структура синтезируемого коллагена (вместо коллагена II типа синтезируется коллаген I типа) [44].

Трехмерные статические культуры для экспансии МСК полностью не исследованы. В течение предшествующих лет было разработано множество трехмерных систем для культивирования МСК. Материалами для них служили альгинат [45], гиалуроновая кислота [46], коллаген [47], фибрин [48] и цитозан [49], которые использовались как структуры для инкапсулирования и поддержки МСК. J.F. Markusen и соавт. [45], изучавшие использование для культивирования альгинатных структур, показали, что, несмотря на жизнеспособность клеток, они не пролиферировали в течение 2 нед. О незначительном снижении прироста клеток сообща-

ли и другие исследователи [46, 50]. С другой стороны, рост числа клеток отмечался при использовании цитозан-желатинового полимера [49].

Немаловажное значение имело культивирование МСК в фибриновом геле для дальнейшего их применения при исправлении костных дефектов. Определены оптимальная концентрация фибриногена (18 мг/мл) и тромбиновая активность (100 ЕД/мл) для наилучшего распространения и пролиферации МСК в данной среде. При большей концентрации фибриногена гель будет более плотным, что снизит пролиферацию клеток. В этом исследовании выявлено, что фибриновый гель с МСК посредством окружения кораллового имплантата у мышей защищает место имплантации от проникновения других клеток организма, что может играть важную роль при клиническом использовании [48].

S. Cristino и соавт. культивировали МСК в трехмерной системе с добавлением производной гиалуроновой кислоты (HYAFF 11). С помощью микроскопии продемонстрировано сохранение жизнеспособности МСК после 6 дней культивирования в данной среде при концентрации $7,5 \times 10^6$ клеток/0,4 см³. При большей концентрации клеток во внутренней части среды происходила их гибель. Это могло быть связано с апоптозом клеток и/или низкими уровнями метаболизма и газообмена во внутренней части системы. МСК меняли свою морфологическую форму с округлой на веретенообразную, вероятнее всего, для того, чтобы МСК быстрее приспособились к волокнам трехмерной среды, чтобы их лучше обернуть и колонизировать. МСК, выращенные на HYAFF 11, экспрессировали на своей поверхности коллаген I (обеспечивающего прочность связок) и III типа, фибронектин, ламинин и актин в различных концентрациях. Эта работа показала, что в дальнейшем культивирование МСК в данной среде может быть использовано в клинических условиях для репарации поврежденных связок.

Альтернативой статическим методам экспансии является культивирование МСК в биореакторах. В биореакторах создаются условия, имитирующие *in vivo* среду для роста клеток. В этих условиях происходит микрогравитация, эффективное поступление питательных веществ к клеткам и удаление продуктов метаболизма. Существует несколько типов биореакторов: перфузионные [51], концентрические цилиндрические [52] и ротационные [53]. В результате применения биореакторов предполагается увеличить число клеток без изменения их фенотипа и дифференцировочного потенциала.

Для биореакторов характерно наличие важных параметров, влияющих на выживание клеток: режим периодического обновления среды в культуре клеток, удаление продуктов метаболизма. В них создаются условия, имитирующие *in vivo* условия для роста и размножения клеток.

X. Chen и соавт. [53] установили, что применение ротационного биореактора с модифицированной питательной средой Myelocult, с добавлением фактора роста стволовых клеток (SCF), интерлейкина-3 (ИЛ-3) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) может быть использовано для быстрой экспансии МСК. В своей работе J. Tong и соавт. [54] выявили, что введение SCF больным раком молочной железы после проведения ХТ увеличивало абсолютное число CD34⁺-клеток и примитивных миелоидных клеток-предшественников. Относительно действия ИЛ-3 имеются противоречивые данные, указывающие на его способность как стимулировать, так и ингибировать экспансию стволовых клеток. Продemonстрировано, что ИЛ-3 уменьшал экспансию и самовозобновление примитивных стволовых клеток в зависимости от концентрации [55]. В исследовании X. Chen и соавт. [53] отмечено, что ИЛ-3 оказывал положительное влияние на пролиферацию МСК и ГСК. ИЛ-6 стимулирует экспансию МСК, положительно влияет на восстановление гемопоэза после трансплантации ГСК и, кроме того, оказывает противоопухолевое действие [56]. Последнее свойство ИЛ-6 может применяться при заборе костного мозга для очистки его от злокачественных клеток [57].

В ротационном биореакторе, который применяли в своей работе X. Chen и соавт., вначале использовали высокие дозы цитокинов, а затем переходили к более низкой концентрации при первой смене питательной среды. Это позволяло оптимизировать условия экспансии. Была выбрана оптимальная частота вращения биореактора (20 оборотов в минуту), которая позволяла предотвратить агрегацию клеток в течение периода экспансии в биореакторе.

Для идентификации МСК, полученных в результате осуществления экспансии, используют морфологические, фенотипические характеристики клеток, а также их способность дифференцироваться *in vitro* в кость, хрящ, жир.

В настоящее время нет ни одного маркера, который позволял бы четко определить МСК. Они экспрессируют различные поверхностные маркеры, включая CD9, CD10, CD13, CD44, CD54, CD55, CD90, CD105, CD166, D7-FIB, и негативны в отношении CD14, CD34, CD45 и CD133 (см. таблицу).

Дифференцировка

Для остеогенной дифференцировки в основную питательную среду с 20% сывороткой добавляют дексаметазон, В-глицерофосфат и фосфат витамина С. При культивировании МСК в монослойной среде с добавлением этих факторов в течение 2—3 нед клетки приобретают костную морфологию, повышается активность ЩФ с депонированием кальция в экстрацеллюлярном матриксе. Скопления клеток окрашиваются ализарином красным с использованием техники von Kossa.

Маркеры МСК

Поверхностный маркер	Антитело	Название столбца*
Т-лимфоциты	CD3	—
Миелоидные клетки	CD13	+
Моноциты	CD14	—
В-лимфоциты	CD19	—
Рецептор ИЛ-2	CD25	—
b ₁ -Интегрин	CD29	+
PECAM	CD31	—
Стволовые клетки	CD34	—
Активация лимфоцитов	CD38	—
HCAM-1	CD44	+
Общий лейкоцитарный АГ	CD45	—
SH3	CD73	+
Thy-1	CD90	+
Эндоглин, SH2	CD105	+
VCAM-1	CD106	+
Стволовые клетки	CD133	—
SB 10/ALKAM	CD166	+
HLA-DR	Анти-HLA-DR	— (при воздействии IFN γ)
Дифференцировка в адипоциты		+
Остеобласты		+
Хондробласты		+
Нейральные клетки		+
Миобласты		+
Эндотелиальные клетки		+

*(+) — позитивные маркеры, (—) — негативные маркеры.

Для инициации хондрогенной дифференцировки МСК центрифугируются с целью образования гранулированной микромаксы, и в среду добавляется трансформирующий фактор роста- β (TGF- β) [58]. При окрашивании красителем толуидиновым синим выявляется обилие гликозаминогликанов во внеклеточном матриксе [59]. Для хондрогенной дифференцировки используются бессывороточные среды с добавлением дексаметазона, фосфата витамина С, TGF- β , пролина.

А.М. Maskay [58], М.Ф. Pittenger и соавт. [5] выявили положительное влияние среды с высоким содержанием глюкозы (4,5 г/л) на хондрогенную дифференцировку МСК при культивировании в pellet-культуру (гранулярная). Высокий уровень глюкозы в среде изменял клеточный метаболизм в сторону уменьшения чувствительности клеток к апоптозу.

Следует отметить, что эти данные не распространяются на культивирование МСК в моно-слое. В pellet-культуре важны межклеточные отношения и взаимодействия между клетками и матриксом. Кроме того, такое культивирование может вызвать хондрогенез, так как клетки принимают компактную форму, а не распространяются по поверхности. При культивировании в данной среде клетки быстро теряют фибробластическую морфологию и начинают экспрессировать хрящ-специфичные компоненты в экстрацеллюлярном матриксе. Начинается биосинтез глюкозаминогликанов и клетки меняют свою морфологию. Кроме того, клетки продуцируют коллаген II типа, типичный для суставного хряща [1].

Адипогенная дифференцировка МСК достигается путем добавления в среду дексаметазона, инсулина, изобутилметилксантина и индометацина. При культивировании МСК клетки приобретают вакуоли, заполненные жиром, и экспрессируют рецептор пероксисом-2, активизирующий пролиферацию (peroxisome proliferation-activated receptor-2), липопротеиновую липазу и белок, связывающий жирные кислоты (fatty acid-binding protein aP2). Вакуоли сливаются и заполняют всю клетку. Заполненные жиром вакуоли можно выявить гистологически при окраске красным маслом О.

Установлено, что 5-азациитидин индуцирует миогенез в эмбриональных и взрослых клетках [60] и стромальных клетках у крыс [61]. D.G. Phinney и соавт. [41] выявили, что добавление к МСК, выделенным от мышей, амфотерицина, а не 5-азациитидина, приводило к появлению многоядерных волокон, напоминающих мышечные трубочки.

Индукция мышинных, крысиных и человеческих МСК по нейрогенному пути была описана многими авторами [62—64]. Добавление изобутилметилксантина вызывало экспрессию ранних маркеров нейрональной дифференцировки [62], так же как и эпидермальный фактор роста или нейротрофический фактор в питательной среде для экспансии нейронов [65]. Добавление к МСК крыс диметилсульфоксида в присутствии фактора роста фиб-

робластов и плацентарного фактора роста также успешно стимулировало нейрогенную дифференцировку клеток [64, 66].

В последнее время показания для применения МСК в клинической практике расширены. Мезенхимальные клетки применяют в трансплантологии, кардиологии, ортопедии, неврологии. В связи с этим особую актуальность принимают исследования, направленные на оценку безопасности ис-

пользования МСК, выявление близких и отдаленных последствий применения их у человека, стандартизацию протоколов экспансии, контроль качества конечного продукта (иммунофенотипическая панель, вирусологический, бактериологический контроль и др.), обнаружение генетических аномалий при длительном культивировании МСК и создание на основе всего этого единого паспорта клеточного продукта.

Л и т е р а т у р а

1. Fouillard L., Chapel A., Bories D. et al. Infusion of allogeneic-related HLA mismatched mesenchymal stem cells for the treatment of incomplete engraftment following autologous haematopoietic stem cell transplantation. *Leukemia* 2007;21:568—70.
2. Zhao Z.-G., Liang Y., Li K. et al. Phenotypic and functional comparison of mesenchymal stem cells derived from the bone marrow of normal adults and patients with hematologic malignant diseases. *Stem cell develop* 2007;16:637—48.
3. Zhao Z., Tang X., You Y. et al. Assessment of bone marrow mesenchymal stem cell biological characteristics and support hemopoiesis function in patients with chronic myeloid leukemia. *Leuk Res* 2006;30:993—1003.
4. Jiang Y., Jahagirdar B.N., Reinhardt R.L. et al. Pluripotency of mesenchymal stem cell derived from adult marrow. *Nature* 2002;9:418—41.
5. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143—7.
6. Makino S., Fukuda K., Miyoshi S. et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest* 1999;103:697—705.
7. Young R.G., Butler D.L., Weber W. et al. Use of mesenchymal stem cells in a collagen matrix for Achilles tendon repair. *J Orthop Res* 1998;16:406—13.
8. Filvaroff E.H., Derynck R. Induction of myogenesis in mesenchymal cells by myoD depends on their degree of differentiation. *Dev Biol* 1996;178:459—71.
9. Alma J., Fibbe N., Fibbe W.E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood* 2007;110:3499—506.
10. Noort W.A., Kruisselbrink A.B., Anker P.S. et al. Mesenchymal stem cells promote engraftment of human umbilical cord blood-derived CD34+ cells in NOD/SCID mice. *Exp Hematol* 2002;30:870—8.
11. Friedenstein A.J., Gorskaja J.F., Kulagina N.N. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol* 1976;4:267—74.
12. Tuli R., Seghatoleslami M.R., Tuli S. et al. A simple, highyield method for obtaining multipotential mesenchymal progenitor cells from trabecular bone. *Mol Biotechnol* 2003;23:37—49.
13. Minguell J.J., Erices A., Conget P. Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med* 2001;226:507—20.
14. Pountos I., Jones E., Tzioupis C. et al. Growing bone and cartilage. The role of mesenchymal stem cells. *J Bone Joint Surg Br* 2006;88:421—6.
15. Gnecci M., Melo L.G. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells: isolation, expansion, characterization, viral transduction, and production of conditioned medium. *Methods Mol Biol* 2009;482:281—94.
16. Wexler S.A., Donaldson C., Denning-Kendall P. et al. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *Br J Haematol* 2003;121:368—74.
17. Lazarus H., Haynesworth S., Gerson S. et al. Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells): implications for therapeutic use. *Bone Marrow Transplant* 1995;16:557—64.
18. Koc O., Gerson S., Cooper B. et al. Rapid hematopoietic recovery after co-infusion of autologous culture-expanded human mesenchymal stem cells (hMSCs) and PBPCs in breast cancer patients receiving high dose chemotherapy. *J Clin Oncol* 2000;18:307—16.
19. Peng L., Li H., Gu L. et al. Comparison of biological characteristics of marrow mesenchymal stem cells in hepatitis B patients and normal adults. *World J Gastroenterol* 2007;13:1743—6.
20. Seebach C., Henrich D., Tewksbury R. et al. Number and proliferative capacity of human mesenchymal stem cells are modulated positively in multiple trauma patients and negatively in atrophic nonunions. *Calcif Tissue Int* 2007;80:294—300.
21. Stenderup K., Justesen J., Clausen C., Kassem M. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone* 2003;33:919—26.
22. Muraglia A., Cancedda R., Quarto R. Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate in vitro according to a hierarchical model. *J Cell Sci* 2000;113:1161—6.
23. Mackay M.A., Beck S.C., Murphy J.M. et al. Chondrogenic differentiation of cultured human mesenchymal stem cells from marrow. *Tis Engineer* 1998;4(4):415—28.
24. Chen S.L., Fang W.W., Ye F. et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004;94:92—5.
25. Banfi A., Muraglia A., Dozin B. et al. Proliferation kinetics and differentiation potential of ex vivo expanded human bone marrow stromal cells: Implications for their use in cell therapy. *Exp Hematol* 2000;28:707—15.
26. Digirolamo C.M., Stokes D., Colter D. et al. Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate. *Br J Haematol* 1999;107:275—81.
27. Simonsen J.L., Rosada C., Serakinci N. et al. Telomerase expression extends the proliferative life-span and maintains the osteogenic potential of human bone marrow stromal cells. *Nat Biotechnol* 2002;20:592—6.
28. Rubio D., Garcia-Castro J., Martin M.C. et al. Spontaneous human adult stem cell transformation. *Cancer Res* 2005;65:3035—9.
29. Lennon D.P., Caplan A.I. Isolation of human marrowderived mesenchymal stem cells. *Exp Hematol* 2006;34:1604—5.
30. Grisendi G., Anneren C., Cafarelli L. et al. Refining GMP-manufactured density media for optimized mesenchymal stroma/stem cell isolation and expansion. *Bone Marr Transplant* 2009;43:205.
31. Sotiropoulou P.A., Perez S.A., Salagianni M. et al. Characterization of the optimal culture conditions for clinical scale production of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006;24:462—71.
32. Shigeno Y., Ashton B.A. Human bone-cell proliferation in vitro decreases with human donor age. *J Bone Joint Surg Br* 1995;77:139—42.
33. Anselme K., Broux O., Noel B. et al.

- In vitro control of human bone marrow stromal cells for bone tissue engineering. *Tis Engineer* 2002;8:941—53.
34. Yamamoto N., Isobe M., Negishi A. et al. Effects of autologous serum on osteoblastic differentiation in human bone marrow cells. *J Med Dent Sci* 2003;50:63—9.
 35. Koller M.R., Maher R.J., Mancel I. et al. Alternatives to animal sera for human bone marrow cell expansion: human serum and serum-free media. *J Hematother* 1998;7:413—23.
 36. Kuznetsov S.A., Mankani M.H., Robey P.G. Effect of serum on human bone marrow stromal cells: ex vivo expansion and in vivo bone formation. *Transplantation* 2000;70:1780—7.
 37. Yamaguchi M., Hirayama F., Wakamoto S. et al. Bone marrow stromal cells prepared using AB serum and bFGF for hematopoietic stem cells expansion. *Transfusion* 2002;42:921—7.
 38. Stutea N., Holtz K., Bubenheimb M. et al. Autologous serum for isolation and expansion of human mesenchymal stem cells for clinical use. *Experiment Hematol* 2004;32:1212—25.
 39. Meuleman N., Tondreau T., Delforge A. et al. Human marrow mesenchymal stem cell culture: serum-free medium allows better expansion than classical α -MEM medium. *Eur J Haematol* 2006;76:309—16.
 40. Müller I., Kordowich S., Holzwarth C. et al. Animal serum-free culture conditions for isolation and expansion of multipotent mesenchymal stromal cells from human BM. *Cytotherapy* 2006;8(5):437—44.
 41. Phinney D.G., Kopen G., Isaacson R.L., Prockop D.J. Plastic adherent stromal cells from the bone marrow of commonly used strains of inbred mice: variations in yield, growth, and differentiation. *J Cell Biochem* 1999;72:570—85.
 42. Bianchi G., Banfi A., Mastrogiacomio M. et al. Ex vivo enrichment of mesenchymal cell progenitors by fibroblast growth factor 2. *Experiment Cell Res* 2003;287:98—105.
 43. Na K., Kim S.W., Sun B.K. et al. Osteogenic differentiation of rabbit mesenchymal stem cells in thermo-reversible hydrogel constructs containing hydroxyapatite and bone morphogenic protein-2 (BMP-2). *Biomaterials* 2007;28:2631—7.
 44. Benya P.D., Shaffer J.D. Dedifferentiated chondrocytes reexpress the differentiated collagen phenotype when cultured in agarose gels. *Cell* 1982;30:215—24.
 45. Markusen J.F., Mason C., Hull D.A. et al. Behavior of adult human mesenchymal stem cells entrapped in alginate-GRGDY beads. *Tis Engineer* 2006;12:821—30.
 46. Cristino S., Grassi F., Toneguzzi S. et al. Analysis of mesenchymal stem cells grown on a three-dimensional HYAFF 11-based prototype ligament scaffold. *J Biomed Mater Res A* 2005;73:275—83.
 47. Yang X.B., Bhatnagar R.S., Li S. et al. Biomimetic collagen scaffolds for human bone cell growth and differentiation. *Tis Engineer* 2004;10:1148—59.
 48. Bensaid W., Triffitt J.T., Blanchat C. et al. A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation. *Biomaterials* 2003;24:2497—502.
 49. Zhao F., Grayson W.L., Ma T. et al. Effects of hydroxyapatite in 3-D chitosan-gelatin polymer network on human mesenchymal stem cell construct development. *Biomaterials* 2006;27:1859—67.
 50. Wan C., He Q., McCaigue M. et al. Nonadherent cell population of human marrow culture is a complementary source of mesenchymal stem cells (MSCs). *J Orthop Res* 2006;24:21—8.
 51. Zhao F., Ma T. Perfusion bioreactor system for human mesenchymal stem cell tissue engineering: dynamic cell seeding and construct development. *Biotechnol Bioeng* 2005;91:482—93.
 52. Saini S., Wick T.M. Concentric cylinder bioreactor for production of tissue engineered cartilage: effect of seeding density and hydrodynamic loading on construct development. *Biotechnol Prog* 2003;19:510—21.
 53. Chen X., Xu H., Wan C. et al. Bioreactor expansion of human adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006;24:2052—9.
 54. Tong J., Gordon M.S., Srour E.F. et al. In vivo administration of recombinant methionyl human stem cell factor expands the number of human marrow hematopoietic stem cells. *Blood* 1993;82:784—91.
 55. Zandstra P.W., Conneally E., Petzer A.L. et al. Cytokine manipulation of primitive human hematopoietic cell self-renewal. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:4698—703.
 56. Cao X., Wang Q., Ju D.W. et al. Efficient induction of local and systemic antitumor immune response by liposome-mediated intratumoral co-transfer of interleukin-2 gene and interleukin-6 gene. *J Exp Clin Cancer Res* 1999;18:191—200.
 57. Bachier C.R., Gokmen E., Teale J. et al. Ex-vivo expansion of bone marrow progenitor cells for hematopoietic reconstitution following high-dose chemotherapy for breast cancer. *Exp Hematol* 1999;27:615—23.
 58. Mackay A.M., Beck S.C., Murphy J.M. et al. Chondrogenic differentiation of cultured human mesenchymal stem cells from marrow. *Tis Engineer* 1998;4:415—28.
 59. Kopen G.C., Prockop D.J., Phinney D.G. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:10711—6.
 60. Taylor S.M., Jones P.A. Changes in phenotypic expression in embryonic and adult cells treated with 5-azacytidine. *J Cell Physiol* 1982;111:187—94.
 61. Wakitani S., Saito T., Caplan A.I. Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine. *Muscle Nerve* 1995;18:1417—26.
 62. Deng W., Obrocka M., Fischer I., Prockop D.J. In vitro differentiation of human marrow stromal cells into early progenitors of neural cells by conditions that increase intracellular cyclic AMP. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;282:148—52.
 63. Kohyama J., Abe H., Shimazaki T. et al. Brain from bone: efficient “meta-differentiation” of marrow stroma-derived mature osteoblasts to neurons with Noggin or a demethylating agent. *Differentiation* 2001;68:235—44.
 64. Woodbury D., Schwarz E.J., Prockop D.J., Black I.B. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neuroscience Res* 2000;61:364—70.
 65. Sanchez-Ramos J., Song S., Cardozo-Pelaez F. et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exper Neurol* 2000;164:247—56.
 66. Woodbury D., Reynolds K., Black I.B. Adult bone marrow stromal stem cells express germline, ectodermal, endodermal, and mesodermal genes prior to neurogenesis. *J Neuroscience Res* 2002;69:908—17.



С уверенностью

на многие дни, месяцы, годы



Мишень-молекула. Цель-возвращение к жизни.

Лекарственная форма: иматиниба мезилат. Таблетки, покрытые оболочкой, 100 мг или 400 мг. Капсулы 50 мг или 100 мг.
Показания при ХМЛ: Впервые выявленный хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) у детей и взрослых; ХМЛ в хронической фазе (ХФ), фазе акселерации (ФА), бластного криза (БК), терапия первой линии или при неудаче предшествующей терапии интерфероном у детей и взрослых. **Дозы и способ применения при ХМЛ. Взрослые.** В ХФ — 400 мг внутрь 1 раз в сутки, в ФА или БК — 600 мг 1 раз в сутки. При определенных условиях может рассматриваться вопрос об увеличении дозы до 800 мг/сут (по 400 мг 2 раза в сутки). У пациентов с нарушениями функции почек и печени лечение препаратом следует начинать с 400 мг 1 раз в сутки. Возможна коррекция режима дозирования в связи с нежелательными явлениями или недостаточным ответом на лечение. **Детям** препарат назначают в дозе из расчета 340 мг/м² в сутки, общая суточная доза не должна превышать 600 мг. **Противопоказания:** повышенная чувствительность к иматинибу или любому другому компоненту препарата. Беременность, период кормления грудью. **Предосторожности:** с целью минимизации риска нарушений со стороны желудочно-кишечного тракта препарат следует принимать во время еды, запивая полным стаканом воды. Рекомендуется регулярно измерять массу тела пациентов, проводить клинический анализ крови, контролировать функцию печени. Осторожность у больных с нарушениями функции печени или тяжелыми нарушениями функции почек, а также у больных с заболеваниями сердца. Наблюдение за пациентами с заболеваниями сердца или риском развития сердечной недостаточности. Опыт применения препарата у детей в возрасте до 2 лет отсутствует. **Взаимодействие:** осторожность при применении вместе с препаратами, являющимися ингибиторами или индукторами фермента CYP3A4, и с препаратами, являющимися субстратами для CYP3A4, CYP2C9, CYP2D6 или парацетамолом/ацетаминофеном. **Побочное действие:** головная боль, тошнота, рвота, диарея, диспепсия, боль в животе, миалгии, артралгии, мышечные спазмы и судороги, боль в костях, дерматит, экзема, сыпь, повышенная утомляемость, увеличение веса и др. Потенциально опасные нежелательные явления, отмечавшиеся на фоне применения препарата: задержка жидкости, анасарка, отеки, миелосупрессия, гипо/гиперкалиемия и др. **Форма выпуска:** капсулы 100 мг по 120 шт. в упаковке. Таблетки, покрытые оболочкой, 400 мг по 30 шт. в упаковке. **Произведено** Новартис Фарма Штейн АГ, Швейцария

Прежде, чем назначить Гливек, пожалуйста, ознакомьтесь с инструкцией по медицинскому применению препарата.

Беспрецедентная
эффективность
после 72 месяцев
терапии¹

Стойкие ответы,
частота которых
со временем
возрастает^{1,2}

Улучшение ответа
при оптимизации
доз^{3,4,5,6}

Хорошая
переносимость
при длительном
применении^{1,3,6}

Удобный
пероральный
приём⁷

Литература:

1. Stephen G. O'Brien et al. Blood 2008 112(11) abst 186 ASH 2008.
2. Timothy P. Hughes et al. Blood 2008 112(11) abst 334 ASH 2008.
3. Ruediger Helhmann et al. Blood 2008 112(11) abst 184 ASH 2008.
4. Brian J. Drucker NEJM 2006 355; 23 2408-2417.
5. Michele Baccarani et al. Blood 2006 106 (6) 1809-1820.
6. Elias Jabbour et al. Blood 2009 113 (10) 2154-2160.
7. Инструкция по медицинскому применению препарата Гливек®.

Полную информацию
о препарате можно получить
в ООО «Новартис Фарма»:
115035 Москва,
ул. Садовническая, д. 82, стр. 2
Тел.: (495) 967 1270
Факс: (495) 967 1268
www.novartis.ru

 **NOVARTIS**
ONCOLOGY



Альянс

НОВАЯ ПРОГРАММА ПОДДЕРЖКИ

Оптимизация лечения больных Рh-позитивным
хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ)

