

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

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

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ONCOHEMATOLOGY

**Острый миелоидный лейкоз
с реаранжировками *MLL*-гена у детей**

**Ниволумаб в лечении
рецидивирующей/рефрактерной
лимфомы Ходжкина**

**Механизмы резистентности
В-линейного острого лимфобластного
лейкоза при применении
Cd19-направленной иммунотерапии**

4

ТОМ 13
2018

Журнал «Онкогематология» входит в перечень ведущих рецензируемых научных периодических изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук.

Журнал включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет импакт-фактор, зарегистри-

рован в базе данных Scopus, CrossRef, статьи индексируются с помощью идентификатора цифрового объекта (DOI).

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

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

<http://oncohematology.abvpress.ru>

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Зейналова Первин Айдыновна, д.м.н., заведующая отделом гематологии и трансплантации костного мозга НИИ клинической онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)
Афанасьев Борис Владимирович, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, директор Научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, заведующий кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Птушкин Вадим Вадимович, д.м.н., профессор, заместитель главного врача по гематологии ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы», заведующий отделом кооперированных исследований в гематологии/онкологии подростков и взрослых ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

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

ПОМОЩНИК ОТВЕТСТВЕННОГО СЕКРЕТАРЯ

Петрова Галина Дмитриевна, к.м.н., и.о. заведующего отделения реанимации и интенсивной терапии № 3 (трансплантация костного мозга) отдела гематологии и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

О С Н О В А Н В 2005 Г.

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

Выпускающий редактор **Н.В. Жукова**
Корректор **М.А. Андросова**
Дизайн **Е.В. Степанова**
Верстка **О.В. Гончарук**

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

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

При полной или частичной
перепечатке материалов ссылка
на журнал «Онкогематология»
обязательна.

Редакция не несет ответственности
за содержание публикуемых
рекламных материалов.

В статьях представлена точка
зрения авторов, которая может
не совпадать с мнением редакции.

ISSN 2413-4023 (Online)
ISSN 1818-8346 (Print)
Онкогематология. 2018. Том 13.
№ 4. 1–108
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2018
Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» — 42167
Отпечатано в типографии
ООО ООО «Медиаколор»
Тираж 3000 экз.

<http://oncohematology.abvpress.ru>

4^{ТОМ 13}
'18

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Фечина Лариса Геннадиевна, заслуженный врач РФ, заместитель главного врача по онкологии и гематологии ГБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница № 1», руководитель Центра детской онкологии и гематологии (Екатеринбург, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

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

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

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

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

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

The journal "Oncohematology" is put on the Higher Attestation Commission (HAC) list of leading peer-reviewed scientific periodicals recommended to publish the basic research results of candidate's and doctor's theses. The journal is included in the Scientific Electronic Library and the Russian Science Citation Index (RSCI) and has an impact factor; it is registered

in the Scopus database, CrossRef, its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

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

ONCO HEMATOLOGY

QUARTERLY PEER-REVIEWED SCIENTIFIC-AND-PRACTICAL JOURNAL

<http://oncohematology.abvpress.ru>

EDITOR-IN-CHIEF

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

DEPUTIES OF EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

EXECUTIVE SECRETARY

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

ASSISTANT OF EXECUTIVE SECRETARY

Petrova Galina D., MD, PhD, Acting Head of the Intensive Care Unit № 3 (Bone Marrow Transplantation) of Hematology and Bone Marrow Transplantation Department of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

FOUNDED IN 2005

4^{Vol. 13}
'18

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

Managing Editor N.V. Zhukova
Proofreader M.A. Androsova
Designer E.V. Stepanova
Maker-up O.V. Goncharuk

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

The journal was registered at the Federal Service for Surveillance of Communications, Information Technologies, and Mass Media (PI No. FS77-36928 dated 21 July 2009).

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

The editorial board is not responsible for advertising content.

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

ISSN 2413-4023 (Online)
ISSN 1818-8346 (Print)
Onkogematologiya. 2018.
Volume 13. No. 4. 1–108
© PH "ABV-Press", 2018

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

<http://oncohematology.abvpress.ru>

EDITORIAL BOARD

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

EDITORIAL COUNCIL

Krijanovski Oleg I., MD, PhD, Director of Malignant Hematology Program "Alta Bates" Summit Medical Center (Berkeley, California, USA)

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

Poddubnaya Irina V., MD, PhD, Professor, Academician of Russian Academy of Sciences, Vice-Rector for Academic Affairs and International Cooperation, Head of Oncology and Palliative Medicine Department of Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of Ministry of Health of Russia, Chairman of the Russian Society of Oncohematology (Moscow, Russia)

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

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

Roumiantsev Sergey A., MD, PhD, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Vice-Rector for Strategic Development, Head of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in N.I. Pirogov Russian National Research Medical University; Head of Translational and Regenerative Medicine Department of Moscow Institute of Physics and Technology (State University) of Ministry of Education and Science of Russia (Moscow, Russia)

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

ГЕМОБЛАСТОЗЫ: ЛЕЧЕНИЕ, СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

<i>Ю.А. Баровская, М.В. Стёганцева, О.В. Алейникова</i> Клинико-биологические особенности острого миелоидного лейкоза с реаранжировками <i>MLL</i> -гена у детей и результаты лечения по протоколам ОМЛ-ММ-2000/2006 в Республике Беларусь	8
<i>К.В. Лепик, Н.Б. Михайлова, Е.В. Кондакова, Л.А. Цветкова, Ю.Р. Залялов, Е.С. Борзенкова, И.С. Моисеев, В.В. Байков, Б.В. Афанасьев</i> Эффективность и безопасность ниволумаба в лечении рецидивирующей и рефрактерной классической лимфомы Ходжкина: опыт ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова	17
<i>Е.В. Глуханюк, А.В. Степанов, А.М. Попов, М.А. Масчан</i> Механизмы резистентности В-линейного острого лимфобластного лейкоза при применении CD19-направленной иммунотерапии	27
<i>В.В. Дмитриев, А.С. Федорова, Н.В. Липай, И.В. Бегун, И.А. Дунаев, Е.В. Дмитриев</i> Свертывание крови и антикоагулянтная терапия при венозных тромбозах, осложнивших лечение детей, подростков и молодых взрослых с лимфомами	37
<i>М.В. Соловьев, Л.П. Менделеева, Г.А. Яцык, Н.С. Луцик, М.В. Фирсова, Э.Г. Гемджян, В.Г. Савченко</i> МРТ костного мозга после аутологичной трансплантации и влияние остаточной опухоли на выживаемость без прогрессии больных множественной миеломой.	46
<i>А.А. Семенова, П.А. Зейналова, М.С. Никитина, М.И. Ахмедов</i> Брентуксимаб ведотин (адцетрис®) в терапии системной анапластической крупноклеточной лимфомы. Клиническое наблюдение	54
<i>О.А. Тихонова, Н.Ю. Крутикова, А.Ф. Карелин, Е.В. Жуковская, А.Г. Румянцев</i> Влияние злокачественных новообразований на состояние костно-мышечной системы у детей (обзор литературы)	60

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

<i>В.В. Захарова</i> Целесообразность проведения KIR-типирования при подборе донора для аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: обзор литературы	67
--	----

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

<i>Ю.О. Давыдова, И.В. Гальцева, Е.Н. Паровичникова, А.В. Кохно, Н.М. Капранов, В.В. Троицкая, Е.А. Михайлова, З.Т. Фидарова, Т.Н. Моисеева, Л.А. Кузьмина, Е.А. Лукина, Т.Н. Обухова, Л.А. Гребенюк, А.М. Ковригина, В.Н. Двирнык, В.Г. Савченко</i> Изучение признаков дисмиелопоэза методом многоцветной проточной цитофлуориметрии у пациентов с миелодиспластическими синдромами.	75
<i>А.Г. Торубарова, М.Б. Насонова</i> Исследования, инициированные исследователями: современные тенденции	89
<i>Ж.В. Пермикин, А.М. Попов, Т.Ю. Вержбицкая, Т.О. Ригер, О.Р. Аракаев, А.А. Власова, Ю.В. Ольшанская, А.Н. Казакова, С.В. Цвиренко, Л.И. Савельев, Г.А. Цаур, Л.Г. Фечина</i> Особенности иммунофенотипа опухолевых клеток у детей с острым лимфобластным лейкозом и наличием транслокации t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1	95

ПРЕСС-РЕЛИЗ	104
--------------------------	-----

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ	107
-------------------------------------	-----

HEMATOLOGIC MALIGNANCIES: TREATMENT, SUPPORTIVE CARE

Yu.A. Barovskaya, M.V. Stegantseva, O.V. Aleinikova

Clinical and biological features of acute myeloid leukemia with *MLL* gene rearrangements in children and results of therapy according to protocols AML-MM-2000/2006 in the Republic of Belarus 8

K.V. Lepik, N.B. Mikhailova, E.V. Kondakova, L.A. Tsvetkova, Yu.R. Zalyalov, E.S. Borzenkova, I.S. Moiseev, V.V. Baykov, B.V. Afanasyev

Efficacy and safety of nivolumab in the treatment of relapsed/refractory classical Hodgkin's lymphoma: Pavlov First Saint Petersburg State Medical University experience 17

E.V. Glukhanyuk, A.V. Stepanov, A.M. Popov, M.A. Maschan

CD-19-directed immunotherapy resistance mechanisms of B-precursor acute lymphoblastic leukemia 27

V.V. Dmitriev, A.S. Fedorova, N.V. Lipay, I.V. Begun, I.A. Dunaev, E.V. Dmitriev

Blood coagulation in venous thrombosis, complicating treatment of children, adolescents and young adults with lymphomas 37

M.V. Solovev, L.P. Mendeleeva, G.A. Yatsyk, N.S. Lutsik, M.V. Firsova, E.G. Gemdzhian, V.G. Savchenko

Bone marrow MRI after autologous transplantation and the effect of residual tumor on progression-free survival of multiple myeloma patients 46

A.A. Semenova, P.A. Zeynalova, M.S. Nikitina, M.I. Akhmedov

Brentuximab vedotin (Adcetris®) in therapy of system anaplastic large cell lymphoma. Case report 54

O.A. Tikhonova, N.Yu. Krutikova, A.F. Karelin, E.V. Zhukovskaya, A.G. Rumyantsev

Impact of malignant neoplasms on musculoskeletal system in children (literature review) 60

HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

V.V. Zakharova

Role of KIR typing in donor selection prior to allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: literature review 67

CURRENT BASIC RESEARCH IN PRACTICAL MEDICINE

Yu.O. Davydova, I.V. Galtseva, E.N. Parovichnikova, A.V. Kokhno, N.M. Kapranov, V.V. Troitskaya, E.A. Mikhailova, Z.T. Fidarova, T.N. Moiseeva, L.A. Kuzmina, E.A. Lukina, T.N. Obukhova, L.A. Grebenyuk, A.M. Kovrigina, V.N. Dvirnyk, V.G. Savchenko

Study of myelodysplastic features in patients with myelodysplastic syndromes by multicolor flow cytometry 75

A.G. Torubarova, M.B. Nasonova

Investigator Initiated Trials: modern trends 89

Zh.V. Permikin, A.M. Popov, T.Yu. Verzhbitskaya, T.O. Riger, O.R. Arakaev, A.A. Vlasova, Yu.V. Olshanskaya, A.N. Kazakova, S.V. Tsvirenko, L.I. Saveliev, G.A. Tsaur, L.G. Fechina

Flow cytometric analysis of leukemic blast cells in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with translocation t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* 95

PRESS RELEASE 104**INFORMATION FOR AUTHORS 107**

Клинико-биологические особенности острого миелоидного лейкоза с реаранжировками *MLL*-гена у детей и результаты лечения по протоколам ОМЛ-ММ-2000/2006 в Республике Беларусь

Ю.А. Баровская, М.В. Стёганцева, О.В. Алейникова

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»; Республика Беларусь, 223053 Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43

Контакты: Юлия Александровна Баровская ju.lia@tut.by

Цель исследования — анализ результатов лечения пациентов с *MLL*-реаранжировками в Республике Беларусь в рамках протоколов ОМЛ-ММ-2000 и ОМЛ-ММ-2006.

Материалы и методы. В исследование включены данные 151 пациента с впервые выявленным острым миелоидным лейкозом, которые получали лечение по протоколам ОМЛ-ММ-2000 и ОМЛ-ММ-2006. Аномалии 11q23 выявлены у 40 (26,5 %) пациентов.

Результаты. Анализ результатов выживаемости пациентов с 11q23 в зависимости от протокола показал, что вероятность 5-летней бессобытийной выживаемости (EFS) достоверно выше ($p = 0,0110$) у детей, получавших лечение по протоколу ОМЛ-ММ-2006 (86 ± 13 %), по сравнению с аналогичным показателем у лиц, включенных в протокол ОМЛ-ММ-2000 (23 ± 12 %). Применение протокола ОМЛ-ММ-2006 позволило снизить кумулятивную частоту рецидивов у данной когорты с $46,2 \pm 15,1$ до $14,3 \pm 14,3$ % ($p = 0,1609$). Вероятность EFS у реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток составила 100 %, тогда как в группе без ее проведения — 31 ± 12 % ($p = 0,0359$). Результаты лечения пациентов с $t(1;11)$ сравнимы с таковыми при CBF-лейкозе. Риск развития рецидива у пациентов с $t(10;11)$ выше, чем у остальной когорты 11q23 ($62,5 \pm 19,2$ % против $21,9 \pm 7,5$ %; $p = 0,0136$). Показатели кумулятивной частоты развития рецидива у пациентов с $t(9;11)$ снизились с 42,8 % на протоколе ОМЛ-ММ-2000 до 15,4 % на протоколе ОМЛ-ММ-2006 ($p = 0,1411$).

Заключение. Наилучшим методом постремиссионной терапии в отношении долгосрочных результатов лечения для описываемой когорты пациентов явилось проведение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Наиболее худший прогноз определяется у пациентов с $t(10;11)$, тогда как наличие $t(1;11)$ — благоприятный прогностический фактор. Применение ветви с кладрибином показало свою эффективность в отношении пациентов с $t(9;11)$. Для получения достоверных результатов считаем целесообразным продолжить исследование с применением кладрибина для пациентов с $t(9;11)$.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, дети, *MLL*-реаранжировка, результат лечения

Для цитирования: Баровская Ю.А., Стёганцева М.В., Алейникова О.В. Клинико-биологические особенности острого миелоидного лейкоза с реаранжировками *MLL*-гена у детей и результаты лечения по протоколам ОМЛ-ММ-2000/2006 в Республике Беларусь. Онкогематология 2018;13(4):8–16.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-8-16

Clinical and biological features of acute myeloid leukemia with *MLL* gene rearrangements in children and results of therapy according to protocols AML-MM-2000/2006 in the Republic of Belarus

Yu.A. Barovskaya, M.V. Stegantseva, O.V. Aleinikova

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology; 43 Frunzenskaya St., Borovlyani, Minsk region 223053, Republic of Belarus

Objective of the study. Analysis of the treatment outcomes of patients with *MLL* rearrangements in the Republic of Belarus within protocols AML-MM-2000 and AML-MM-2006.

Materials and methods. The study included 151 patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia (AML) who were treated according to protocol AML-MM-2000 and AML-MM-2006. 11q23 abnormalities were detected in 40 (26.5 %) out of 151 patients.

Results. The performed analysis of the survival outcomes of patients with 11q23 depending on the protocol showed that the probability of 5-year event-free survival (EFS) was significantly better ($p = 0.0110$) in children receiving treatment under protocol AML-MM-2006 (86 ± 13 %) compared with that of the patients included in protocol AML-MM-2000 (23 ± 12 %). Using protocol AML-MM-2006 allowed reducing the cumulative incidence of relapse (CIR) in this cohort from 46.2 ± 15.1 to 14.3 ± 14.3 % ($p = 0.1609$). EFS probability in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT) was 100 %, whereas in the group without alloHSCT — 31 ± 12 %, $p = 0.0359$. The treatment outcomes of patients with $t(1;11)$ are comparable to those with CBF leukemia. The risk of relapse in patients with $t(10;11)$ is higher than in the rest of the 11q23 cohort (62.5 ± 19.2 % versus 21.9 ± 7.5 %; $p = 0.0136$). CIR in patients with $t(9;11)$ decreased from 42.8 % in protocol AML-MM-2000 to 15.4 % in protocol AML-MM-2006 ($p = 0.1411$).

Conclusion. For the described cohort of patients alloHSCt is the best option for post-remission therapy. The worst prognosis is determined in patients with $t(10;11)$, whereas the presence of $t(1;11)$ is a favorable prognostic factor. Using the arm with cladribine showed to be effective in patients with $t(9;11)$. To obtain reliable outcomes, we consider it reasonable to continue the study with the use of cladribine in patients with $t(9;11)$.

Key words: acute myeloid leukemia, children, MLL rearrangement, treatment outcome

For citation: Barovskaya Yu.A., Stegantseva M.V., Aleinikova O.V. Clinical and biological features of acute myeloid leukemia with MLL gene rearrangements in children and results of therapy according to protocols AML-MM-2000/2006 in the Republic of Belarus. *Onkologematologiya = Oncohematology* 2018;13(4):8–16.

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) — гетерогенная группа злокачественных заболеваний гемопоэтической ткани, при которых происходит клональная экспансия аномальных предшественников миелопоэза в костном мозге, крови, печени, селезенке и реже в некроветворных органах.

Прогноз детей с ОМЛ значительно улучшился в течение последних десятилетий, возможность излечения пациентов достигла 60–65 % [1–7].

Принципы лечения ОМЛ, за исключением остро-го промиелоцитарного лейкоза, не изменялись за последние 30 лет, хотя уровень выживаемости увеличился с 40 до 60–65 % за счет стратификации пациентов по группам риска, интенсификации режимов химиотерапии, применения эпигенетической/таргетной терапии, усовершенствования сопроводительного лечения и расширения показаний для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) в программе ведения детей с ОМЛ [8].

В настоящее время комбинация режимов полихимиотерапии (ПХТ) достигла терапевтического плато. Дальнейшая интенсификация ПХТ не представляется возможной ввиду высокой токсичности [8]. В связи с этим актуальным является дальнейшее изучение генетических aberrаций при ОМЛ для адекватной стратификации пациентов по прогностическим группам и дифференцированной терапии.

Наиболее часто у детей обнаруживаются следующие цитогенетические aberrации: $t(8;21)(q22; q22)$, $inv(16)(p13.1q22)$, $t(15;17)(q22; q21)$ и аномалии 11q23. Данные aberrации охватывают более 50 % случаев детского ОМЛ [9, 10].

Наиболее гетерогенной является группа аномалий 11q23. В целом MLL-реаранжировки оказывают неблагоприятное прогностическое влияние на результаты лечения (5-летняя бессобытийная выживаемость (EFS) 44 %; общая выживаемость 56 %) [11]. Исход заболевания зависит от партнера MLL-гена. Наиболее часто встречается $t(9;11)(p22; q23)/MLL-AF9$ — в 50 % случаев. Результаты лечения пациентов с $t(9;11)$ лучше, чем при других aberrациях 11q23, однако это подтверждается не всеми исследовательскими группами (5-летняя EFS 50 %) [9, 11, 12]. Всего лишь у 3 % детей обнаруживается $t(1;11)(q21; q23)/MLL-AF1q$. Наличие данной реаранжировки прогностически более благоприятно (5-летняя EFS 93 %). В противовес

этому обнаружение $t(6;11)$ и $t(10;11)$ ассоциировано с неблагоприятным исходом [11–15].

Цель исследования — анализ результатов лечения пациентов с MLL-реаранжировками в Республике Беларусь в рамках протоколов ОМЛ-ММ-2000 и ОМЛ-ММ-2006.

Материалы и методы

В исследование включены данные 151 пациента с впервые выявленным ОМЛ, которые получали лечение по протоколам ОМЛ-ММ-2000 и ОМЛ-ММ-2006. В период с мая 1999 г. по май 2005 г. 81 пациент получил лечение по протоколу ОМЛ-ММ-2000. С мая 2005 г. по апрель 2014 г. 70 пациентам проведена терапия по последующему протоколу ОМЛ-ММ-2006. Результаты лечения определены на 01.01.2018.

Диагностику перестроек гена MLL определяли методом мультиплексной полимеразной цепной реакции, которая включала следующие гены-партнеры: AF4, AF6, AF9, AF10, ENL, ELL. Вовлечение других генов в транслокацию было установлено цитогенетическим методом.

Аномалии 11q23 выявлены у 40 (26,5 %) из 151 пациента. При этом 50 % (20 из 40) случаев с перестройкой 11q23 приходилось на детей младше 4 лет, тогда как в группе без данной поломки дети этого возраста составили только 14,4 % ($p < 0,0001$) (табл. 1). В то же время аномалии 11q23 реже обнаруживались у детей старше 10 лет (13 из 40; 32,5 %; $p = 0,0017$), чем в остальной когорте пациентов. Вариант M5 у пациентов с 11q23 встречался статистически значимо чаще (21 из 40; 52,5 %; $p < 0,0001$), а M1 (5 из 40; 12,5 %; $p = 0,0619$) и M2 (4 из 40; 10 %) реже ($p = 0,0619$ и $p = 0,0002$), чем у остальной когорты пациентов.

Инициальное вовлечение центральной нервной системы было зарегистрировано у 8 из 40 пациентов с аномалиями региона 11q23, что статистически значимо чаще ($p = 0,0242$), чем в группе без данных генетических нарушений (8 из 111; 7,2 %).

Структура 11q23 аномалий представлена следующим образом: $t(1;11)$ обнаружена у 2 (5,0 %) пациентов, $t(2;11)$ — у 1 (2,5 %), $t(6;11)$ — у 3 (7,5 %), $t(10;11)$ и/или ее варианты $ins(10;11)$ — у 8 (20,0 %), $t(11;19)$ — у 2 (5,0 %), другие варианты 11q23 — у 4 (10,0 %). В большинстве случаев (20 из 40; 50 %) в структуре реаранжировок 11q23 преобладали $t(9;11)$ (см. табл. 1).

Таблица 1. Сравнительная характеристика пациентов с аномалиями региона 11q23 и лиц без данных нарушений**Table 1.** Comparative characteristics of patients with and without 11q23 region rearrangements

Показатель Parameter	Пациенты с 11q23, n (%) Patients with 11q23, n (%)	Пациенты без 11q23, n (%) Patients without 11q23, n (%)	p
Всего пациентов Total patients	40 (100)	111 (100)	
Пол: Gender:			
мужской male	20 (50)	60 (54,1)	0,6596
женский female	20 (50)	51 (45,9)	0,6596
Инициальный уровень лейкоцитов, 10 ⁹ /л: Initial WBC count, 10 ⁹ /L:			
<50	28 (70)	84 (75,7)	0,4819
>50	12 (30)	27 (24,3)	—
Возраст, лет: Age, years:			
<4	20 (50,0)	16 (14,4)	<0,0001
4–10	7 (17,5)	27 (24,3)	0,3756
>10	13 (32,5)	68 (61,3)	0,0017
FAB-вариант: FAB variant:			
M0	1 (2,5)	10 (9,0)	0,1744
M1	5 (12,5)	30 (27,0)	0,0619
M2	4 (10,0)	46 (41,4)	0,0002
M3	0	0	—
M4	7 (17,5)	18 (16,2)	0,8514
M5	21 (52,5)	5 (4,5)	<0,0001
M6	0	2 (1,8)	0,3927
M7	2 (5,0)	0	0,0177
Поражение центральной нервной системы Central nervous system involvement	8 (20)	8 (7,2)	0,0242
Экстрамедулляр- ное поражение Extramedullary lesions	6 (15)	8 (7,2)	0,1451
t(1;11)	2 (5,0)	0	—
t(2;11)	1 (2,5)	0	—
t(6;11)	3 (7,5)	0	—
t(9;11)	20 (50)	0	—
t(10;11)	8 (20)	0	—
t(11;17)	0	0	—
t(11;19)	2 (5)	0	—
Другие 11q23 Other 11q23	4 (10)	0	—

При сравнении пациентов с 11q23, которые получали лечение по 2 протоколам, статистически значимые различия были выявлены в частоте встречаемости t(10;11): у детей, получавших терапию по протоколу ОМЛ-ММ-2000, она встречалась в 35 % случаев, тогда как на протоколе ОМЛ-ММ-2006 — лишь в 5 % ($p = 0,0177$) (табл. 2).

Таблица 2. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с аномалиями региона 11q23, получавших лечение по 2 протоколам**Table 2.** Clinical and laboratory characteristics of patients with 11q23 who received treatment according to two protocols

Показатель Parameter	ОМЛ- ММ- 2000, n (%) AML- MM-2000, n (%)	ОМЛ- ММ- 2006, n (%) AML- MM-2006, n (%)	Всего, n (%) Total, n (%)	p
Всего пациентов Total patients	20 (100)	20 (100)	40 (100)	
Пол: Gender:				
мужской male	10 (50)	10 (50)	20 (50)	1,0000
женский female	10 (50)	10 (50)	20 (50)	—
Инициаль- ный уровень лейкоцитов, 10 ⁹ /л: Initial WBC count, 10 ⁹ /L:				
<50	15 (75)	13 (65)	28 (70)	0,4901
>50	5 (25)	7 (35)	12 (30)	—
Возраст, лет: Age, years:				
<4	8 (40)	12 (60)	20 (50,0)	0,2059
4–10	4 (20)	3 (15)	7 (17,5)	0,6773
>10	8 (40)	5 (25)	13 (32,5)	0,3111
FAB-вариант: FAB variant:				
M0	1 (5)	0	1 (2,5)	0,3112
M1	4 (20)	1 (5)	5 (12,5)	0,1514
M2	2 (10)	2 (10)	4 (10,0)	1,0000
M3	0	0	0	—
M4	5 (25)	2 (10)	7 (17,5)	0,2118
M5	8 (40)	13 (65)	21 (52,5)	0,1133
M6	0	0	0	—
M7	0	2 (10)	2 (5,0)	0,1467
Поражение центральной нервной системы Central nervous system involvement	2 (10)	6 (30)	8 (20)	0,1138

Окончание табл. 2

End of table 2

Показатель Parameter	ОМЛ- ММ- 2000, n (%) AML- ММ-2000, n (%)	ОМЛ- ММ- 2006, n (%) AML- ММ-2006, n (%)	Всего, n (%) Total, n (%)	p
Экстрамедуллярное поражение Extramedullary lesions	2 (10)	4 (20)	6 (15)	0,3758
t(1;11)	1 (5)	1 (5)	2 (5)	1,0000
t(2;11)	1 (5)	0	1 (2,5)	0,3112
t(6;11)	2 (10)	1 (5)	3 (7,5)	0,5483
t(9;11)	7 (35)	13 (65)	20 (50)	0,0577
t(10;11)	7 (35)	1 (5)	8 (20)	0,0177
t(11;17)	0	0	0	—
t(11;19)	0	2 (10)	2 (5)	0,1467
Другие 11q23 Other 11q23	2 (10)	2 (10)	4 (10)	1,0000

Протокол ОМЛ-ММ-2000

Согласно данному протоколу была предусмотрена стратификация пациентов на 2 прогностические группы: благоприятную и неблагоприятную. Критериями благоприятной прогностической группы являлось наличие *inv*(16) и *t*(8;21). Все остальные пациенты относились к неблагоприятной прогностической группе. Для пациентов благоприятного прогноза предполагалось проведение 5 курсов ПХТ, в то время как для детей с неблагоприятным прогнозом планировалось выполнение 4 блоков ПХТ и аллогенной ТГСК при наличии родственного донора либо аутологичной ТГСК при его отсутствии.

Всем пациентам, кроме тех, у кого обнаруживалась *inv*(16), планировалось проведение 2 курсов индукционной терапии: АДЕ (цитарабин 100 мг/м² внутривенной инфузией каждые 12 ч в 1–7-й дни; этопозид 100 мг/м² внутривенной инфузией в 1–3-й дни, даунорубин 45 мг/м² внутривенной инфузией в 4–6-й дни) и НАМ (цитарабин 1000 мг/м² каждые 12 ч, всего 4 дозы, и митоксантрон 10 мг/м² каждые 24 ч, всего 2 дозы). Курс НАМ начинался на 14-й день от начала АДЕ, независимо от показателей периферической крови (интенсивный тайминг).

Пилотная версия протокола ОМЛ-ММ-2000 подразумевала применение интенсивного тайминга во всех 3 блоках консолидирующей терапии; суммарная доза цитарабина в консолидации составляла 24 г/м², антрациклинов — 120 мг/м². Причиной отказа от интенсивного тайминга в 2 блоках консолидирующей терапии послужил высокий уровень летальности от инфекционных осложнений. Вторая версия отличалась от пилотной только дизайном — интенсивный

тайминг использовался только во 2-м блоке консолидирующей терапии, суммарные дозы цитарабина и антрациклинов оставались прежними.

Среди пациентов с *t*(8;21), которые получали терапию согласно версиям II и III, у 19 % развился рецидив. Это было расценено как недостаточная эффективность терапии, и принято решение об эскалации доз антрациклинов и цитарабина для данной группы пациентов: в окончательной версии в консолидирующей терапии суммарная доза цитарабина составила 38 г/м², антрациклинов — 240 мг/м². Пациенты с *inv*(16) получали профилактическое краниальное облучение в суммарной дозе 18 Гр.

Протокол ОМЛ-ММ-2006

Согласно данному протоколу проводилась уточненная стратификация пациентов на 3 прогностические группы: благоприятную, промежуточную и неблагоприятную. К благоприятной прогностической группе относили пациентов с *inv*(16); *t*(8;21) с дополнительной потерей половой хромосомы (–Y/X) и без мутации *c-kit*. Критериями неблагоприятной прогностической группы являлись: нормальный кариотип с внутренней tandemной дупликацией юкстамедуллярного домена гена *FLT3* (*FLT3*-ITD) и без мутации гена нуклеофосмина (*NPM1*); аномалии 11q23; *inv*3, *t*(3;3); *t*(8;21) с *c-kit*; моносомия 7-й, 5-й хромосом; сложные аномалии (более 3); M7, M6 по FAB-классификации. Все остальные пациенты относились к группе промежуточного прогноза.

Терапевтический план для пациентов благоприятной прогностической группы не претерпел изменений по сравнению с окончательной версией протокола ОМЛ-ММ-2000 (для пациентов с *inv*(16) — суммарно 5 курсов ПХТ в режиме стандартного тайминга и краниальное облучение; для пациентов с *t*(8;21) — 5 курсов ПХТ, индукция в режиме интенсивного тайминга). Пациентам промежуточной прогностической группы при наличии совместимого родственного донора проводилась аллогенная ТГСК, при отсутствии родственного донора — ПХТ. Пациентам группы неблагоприятного прогноза было показано проведение аллогенной ТГСК от родственного или неродственного донора.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы R-statistics 3.4.0. Для оценки выживаемости пациентов применяли метод Каплана–Майера. Различия в выживаемости в группах оценивали с использованием *log-rank* теста. Сравнение в группах по индивидуальным параметрам проводили с помощью χ^2 -теста. Различия между сравниваемыми показателями считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Основными отличиями в терапевтической тактике протокола ОМЛ-ММ-2006 по сравнению с ОМЛ-ММ-2000 в отношении данной когорты было выделение группы пациентов с *t*(9;11), которые получали

Таблица 3. Результаты лечения пациентов с абберациями 11q23 в зависимости от протокола

Table 3. Treatment results of patients with 11q23 rearrangements according to protocol

Показатель Parameter	ОМЛ- ММ-2000, n (%) AML-MM- 2000, n (%)	ОМЛ- ММ-2006, n (%) AML-MM- 2006, n (%)	p
Всего пациентов Total patients	20 (100)	20 (100)	
Смерть в индукции Induction death	3 (15)	2 (10)	0,6325
Без ответа Without response	0	2 (10)	0,1467
Рецидив Relapse	9 (45)	3 (15)	0,0384
Смерть в ремиссии Remission death	1 (15)	2 (10)	0,5483
Потеря из-под наблюдения Lost to follow-up	0	0	
Полная продолжительная ремиссия Continuous complete remission	7 (35)	11 (55)	0,2036

блоки ПХТ с кладрибином, отказ от аутотрансплантации для всей когорты пациентов с 11q23 и возможность трансплантации от неродственного донора.

В табл. 3 представлены результаты лечения детей с абберациями 11q23.

При сравнительном анализе результатов лечения пациентов с 11q23, получивших лечение по 2 протоколам, выявлен достоверно более низкий уровень развития рецидивов на протоколе ОМЛ-ММ-2006 (15 %; $p = 0,0384$).

С учетом того, что на протоколе ОМЛ-ММ-2006 пациенты с t(9;11) были стратифицированы в отдельную прогностическую группу, мы проанализировали в отдельности подгруппы с t(9;11) и остальными абберациями 11q23.

Результаты лечения пациентов с аномалиями 11q23 (кроме t(9;11)) на протоколе ОМЛ-ММ-2006 статистически значимо лучше результатов, полученных на протоколе ОМЛ-ММ-2000 (табл. 4).

Как видно из представленных в табл. 4 данных, хотя различия и не достигли статистической значимости, частота развития рецидивов уменьшилась с 46,1 до 14,3 % ($p = 0,1541$) при применении протокола ОМЛ-ММ-2006. Эти различия отразились на долгосрочной выживаемости пациентов рассматриваемой подгруппы (рис. 1).

Таблица 4. Результаты лечения пациентов с абберациями 11q23 (кроме t(9;11)), получавших лечение по 2 протоколам

Table 4. Treatment results of patients with 11q23 rearrangements (except t(9;11)) according to protocol

Показатель Parameter	ОМЛ- ММ-2000, n (%) AML-MM- 2000, n (%)	ОМЛ- ММ- 2006, n (%) AML-MM- 2006, n (%)	p
Всего пациентов Total patients	13 (100)	7 (100)	
Смерть в индукции Induction death	3 (23,1)	0	0,1680
Без ответа Without response	0	0	
Рецидив Relapse	6 (46,1)	1 (14,3)	0,1541
Смерть в ремиссии Remission death	1 (7,7)	0	0,4515
Потеря из-под на- блюдения Lost to follow-up	0	0	
Полная продолжи- тельная ремиссия Continuous complete remission	3 (23,1)	6 (85,7)	0,0072

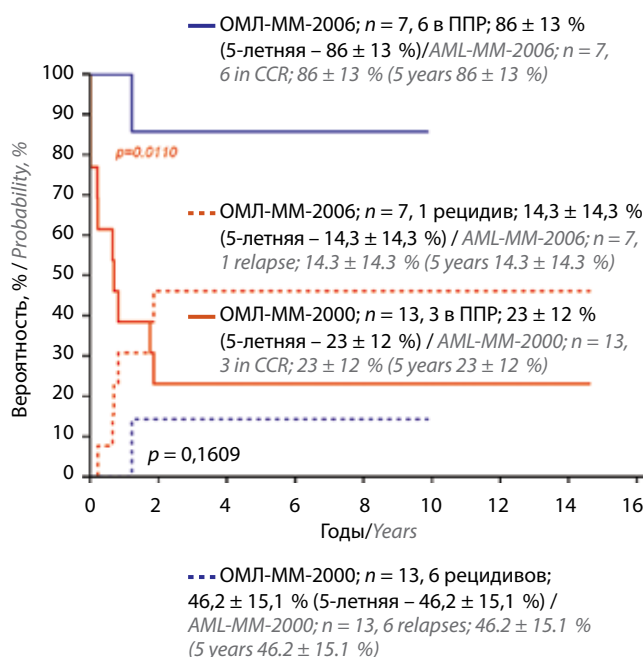
**Рис. 1.** Бессобытийная выживаемость и кумулятивная частота рецидива у пациентов с 11q23 (кроме t(9;11)) в зависимости от протокола. Здесь и на рис. 2: ППР – полная продолжительная ремиссия

Fig. 1. Event-free survival and cumulative incidence of relapse in patients with 11q23 (except for t(9;11)) according to protocol. Here and in fig. 2: CCR – continuous complete remission

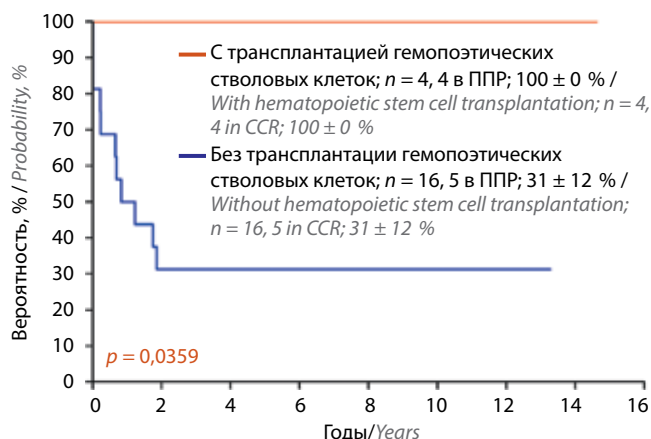


Рис. 2. Бессобытийная выживаемость пациентов с 11q23 (кроме t(9;11)) в зависимости от вида постремиссионной терапии

Fig. 2. Event-free survival in patients with 11q23 (except t(9;11)) according to type of post-remission therapy

Вероятность EFS достоверно выше ($p = 0,0110$) у детей, получавших лечение по протоколу ОМЛ-ММ-2006 (5-летняя EFS 86 ± 13 %), по сравнению с аналогичным показателем у лиц, включенных в протокол ОМЛ-ММ-2000 (5-летняя EFS 23 ± 12 %). Применение протокола ОМЛ-ММ-2006 позволило снизить кумулятивную частоту рецидивов (CIR) у данной

Таблица 5. Результаты лечения пациентов с t(9;11) в зависимости от протокола

Table 5. Treatment results of patients with t(9;11) according to protocol

Показатель Parameters	ОМЛ-ММ-2000, n (%) AML-MM-2000, n (%)	ОМЛ-ММ-2006, n (%) AML-MM-2006, n (%)	p
Всего пациентов Total patients	7 (100)	13 (100)	
Смерть в индукции Induction death	0	2 (15,4)	0,2740
Без ответа Without response	0	2 (15,4)	0,2740
Смерть в ремиссии Remission death	0	2 (15,4)	0,2740
Потеря из-под наблюдения Lost to follow-up	0	0	—
Рецидив Relapse	3 (42,8)	2 (15,4)	0,1759
Полная продолжительная ремиссия Continuous complete remission	4 (57,2)	5 (38,4)	0,4231

когорты с $46,2 \pm 15,1$ до $14,3 \pm 14,3$ % ($p = 0,1609$). Эти различия обусловлены большим охватом процедурой аллогенной ТГСК пациентов с 11q23 на протоколе ОМЛ-ММ-2006.

На рис. 2 представлены результаты постремиссионной терапии пациентов с абберациями 11q23.

Как видно на рис. 2, наилучшим методом постремиссионной терапии в отношении долгосрочных результатов лечения для описываемой когорты пациентов явилось проведение аллогенной ТГСК: вероятность EFS у реципиентов аллогенной ТГСК составила 100 %.

Анализ результатов лечения пациентов по протоколу ОМЛ-ММ-2000 продемонстрировал, что у лиц с t(9;11) показатели выживаемости на 20 % выше, чем у остальной когорты детей с 11q23 [16]. С учетом того, что при лечении по протоколу ОМЛ-ММ-2006 для пациентов с t(9;11) была введена ПХТ с использованием кладрибина, нами проанализированы результаты лечения данной подгруппы в зависимости от протокола.

Статистически значимых различий в результатах терапии пациентов с t(9;11) в зависимости от протокола не получено. Тем не менее при лечении по протоколу ОМЛ-ММ-2006 4 из 13 пациентов погибли в период индукции и консолидации ремиссии. В то же время при лечении по протоколу ОМЛ-ММ-2006 удалось снизить количество рецидивов у данной когорты пациентов с $42,8$ до $15,4$ % (табл. 5).

Следует отметить, что у 2 пациентов с t(9;11), не ответивших на индукционную терапию, был М7-вариант по FAB-классификации.

Вероятность 5-летней EFS, CIR и смерти, обусловленной лечением, представлена в табл. 6.

Частота встречаемости различных реаранжировок MLL-гена несколько отличалась на 2 протоколах. При проведении терапии по протоколу ОМЛ-ММ-2006 статистически значимо реже встречались пациенты с t(10;11) и одним из ее вариантов — инсерции, которые характеризуются неблагоприятным прогнозом.

С учетом гетерогенности группы пациентов с аномалиями 11q23 мы проанализировали результаты лечения данной когорты в зависимости от выявленной транслокации (табл. 7).

Как видно из представленных данных, наилучшие результаты лечения были достигнуты в группах с t(1;11) и t(11;19). Однако 1 пациенту с t(11;19) была проведена аллогенная неродственная ТГСК, другому пациенту — аутопересадка. В то же время оба пациента с t(1;11) находятся в полной продолженной ремиссии без проведения ТГСК. На 2-м месте по результатам лечения с показателем EFS 45 ± 11 % и CIR $25,0 \pm 10,1$ % оказались пациенты, у которых выявлена t(9;11)(p22; q23). При обнаружении t(10;11)(p12; q23) и одного из вариантов ее инсерции ins(10;11)(p12; q23q21) вероятность долгосрочной EFS составила лишь 38 ± 17 %, тогда как CIR — $62,5 \pm 19,2$ %. Крайне неудовлетворительными в нашем исследовании были результаты лечения пациентов с t(6;11)(q27; q23).

Таблица 6. Бессобытийная выживаемость, кумулятивная частота развития рецидива и смерти, обусловленной лечением, у пациентов с $t(9;11)$ в зависимости от протокола**Table 6.** Event-free survival, cumulative incidence of relapse and treatment related death in patients with $t(9;11)$ according to protocol

Показатель Parameter	ОМЛ-ММ-2000 AML-MM-2000	ОМЛ-ММ-2006 AML-MM-2006	ОМЛ-ММ-2000 + ОМЛ-ММ-2006 AML-MM-2000 + AML-MM-2006	<i>p</i>
Всего пациентов, <i>n</i> Total patients, <i>n</i>	7	13	20	
5-летняя EFS, % 5-years EFS, %	57 ± 19	39 ± 13	45 ± 11	0,4080
5-летняя CIR, % 5-years CIR, %	42,8 ± 20,6	15,4 ± 10,8	25,0 ± 10,1	0,1411
5-летняя CI TRD, % 5-years CI TRD, %	0	30,8 ± 13,2	20,0 ± 9,2	0,1116
5-летняя CI ранней смерти, % 5-years CI of early death, %	0	15,4 ± 10,4	10,0 ± 6,9	0,2863
5-летняя CI смерти в ремиссии, % 5-years CI of remission death, %	0	15,4 ± 10,6	10,0 ± 6,9	0,2090

Примечание. Здесь и в табл. 7: EFS — бессобытийная выживаемость; CIR — кумулятивная частота рецидива; CI — кумулятивная частота; TRD — смерть, обусловленная лечением.

Note. Here and in the table 7: EFS — event-free survival; CIR — cumulative incidence of relapse; CI — cumulative incidence; TRD — treatment related death.

Таблица 7. Показатели 5-летней бессобытийной выживаемости и кумулятивной частоты развития рецидива для всей когорты пациентов с $11q23$ в зависимости от транслокации**Table 7.** 5-year event-free survival and cumulative incidence of relapse for total patients with $11q23$ according to translocation detected

Транслокация Translocation	<i>n</i>	Рецидив Relapse	CIR, %	EFS, %
$t(9;11)$	20	5	25,0 ± 10,1	45 ± 11
$t(6;11)$	3	1	100*	0
$t(2;11)$	1	0	0	0
$t(11;19)$	2	0	0	100
$t(10;11)$ и $ins(10;11)$ $t(10;11)$ and $ins(10;11)$	8	5	62,5 ± 19,2	38 ± 17
$t(1;11)$	2	0	0	100
Другие $11q23$ Other $11q23$	4	1	25 ± 25	50 ± 25

*Длительность наблюдения 1,22 года (всего 3 пациента; 2 умерли в индукции, у 1 рецидив).

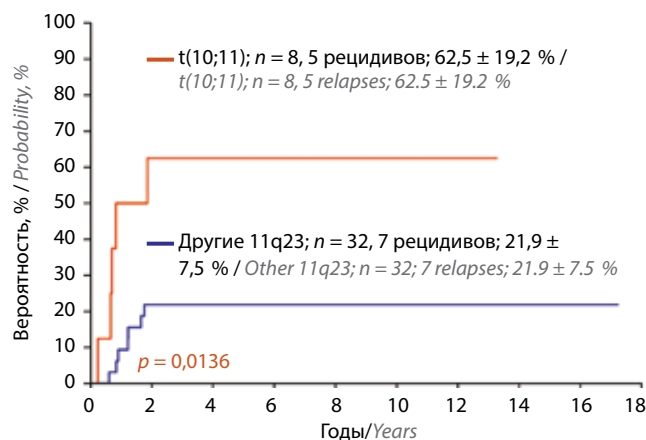
*Follow-up 1.22 years (only 3 patients; 2 died in induction, 1 relapse).

Вероятность CIR у пациентов с $t(10;11)$ выше по сравнению с пациентами, характеризующимися наличием других перестроек региона $11q23$: 62,5 ± 19,2 % против 21,9 ± 7,5 % ($p = 0,0136$) (рис. 3).

Заключение

Анализ результатов лечения пациентов с абберациями региона $11q23$ выявил следующие особенности.

- Проведенный анализ результатов выживаемости пациентов с $11q23$ в зависимости от протокола

**Рис. 3.** Кумулятивная частота рецидива пациентов в зависимости от наличия $t(10;11)$ **Fig. 3.** The cumulative incidence of relapse in patients with or without $t(10;11)$

показал, что вероятность 5-летней EFS достоверно выше ($p = 0,0110$) у детей, получавших лечение по протоколу ОМЛ-ММ-2006 (5-летняя EFS 86 ± 13 %) по сравнению с аналогичным показателем у лиц, включенных в протокол ОМЛ-ММ-2000 (5-летняя EFS 23 ± 12 %). Применение протокола ОМЛ-ММ-2006 позволило снизить вероятность CIR у данной когорты с 46,2 ± 15,1 до 14,3 ± 14,3 % ($p = 0,1609$).

- Наилучшим методом постремиссионной терапии в отношении долгосрочных результатов лечения для описываемой когорты пациентов явилось проведение аллогенной ТГСК: вероятность EFS у реципиентов аллогенной ТГСК составила 100 %, тогда как в группе без ее проведения — 31 ± 12 % ($p = 0,0359$).

- Результаты лечения пациентов с t(1;11) сравнимы с таковыми при СВФ-лейкозе, что согласуется с данными литературы. Собственные наблюдения и данные литературы позволили убрать данную аберрацию из критериев группы высокого риска, а пациентов — из кандидатов для ТГСК.
- Риск развития рецидива у пациентов с t(10;11) выше, чем у остальной когорты детей с 11q23 ($62,5 \pm 19,2$ % против $21,9 \pm 7,5$ %; $p = 0,0136$).
- Применение ветви с кладрибином показало свою эффективность в отношении пациентов с t(9;11): показатели CIR снизились с 42,8 % на протоколе ОМЛ-ММ-2000 до 15,4 % на протоколе ОМЛ-ММ-2006 ($p = 0,1411$). Для получения достоверных результатов считаем целесообразным продолжить исследование с применением кладрибина для данной когорты пациентов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gibson B.E., Webb D.K., Howman A.J. et al. Results of a randomized trial in children with acute myeloid leukaemia: medical research council AML12 trial. *Br J Haematol* 2011;155(3):366–76. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08851.x. PMID: 21902686.
- Rubnitz J.E., Inaba H., Dahl G. et al. Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukaemia: results of the AML02 multicentre trial. *Lancet Oncol* 2010;11(6):543–52. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70090-5. PMID: 20451454.
- Pession A., Masetti R., Rizzari C. et al. Results of the AIEOP AML 2002/01 multicenter prospective trial for the treatment of children with acute myeloid leukemia. *Blood* 2013;122(2):170–8. DOI: 10.1182/blood-2013-03-491621. PMID: 23673857.
- Creutzig U., Zimmermann M., Bourquin J.P. et al. Randomized trial comparing liposomal daunorubicin with idarubicin as induction for pediatric acute myeloid leukemia: results from Study AML-BFM 2004. *Blood* 2013;122(1):37–43. DOI: 10.1182/blood-2013-02-484097. PMID: 23704089.
- Tsukimoto I., Tawa A., Horibe K. et al. Risk-stratified therapy and the intensive use of cytarabine improves the outcome in childhood acute myeloid leukemia: the AML99 trial from the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *J Clin Oncol* 2009;27(24):4007–13. DOI: 10.1200/JCO.2008.18.7948. PMID: 19620491.
- Шнейдер М.М. Эффективность риск-адаптированной терапии острого миелоидного лейкоза у детей с использованием режимов интенсивного тайминга и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2008. [Shneider M.M. Effectiveness of risk-adapted therapy of acute myeloid leukemia in children using intensive timings and hematopoietic stem cell transplantation. Thesis ... of doctor of medical sciences. Moscow, 2008. (In Russ.).]
- Немировченко В.С. Роль вальпроевой и полностью транс-ретиноевой кислот в лечении детей с острыми миелоидными лейкозами. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2014. [Nemirovchenko V.C. The role of valproic and all-trans retinoic acids in the treatment of children with acute myeloid leukemia. Author's abstract of thesis ... of candidate medical sciences. Moscow, 2014. (In Russ.).]
- Румянцев А.Г. Острый миелобластный лейкоз у детей. Перспективы оптимизации лечения (обзор литературы). *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2017;4(1):30–5. DOI: 10.17650/2311-1267-2017-4-1-30-36. [Rumyantsev A.G. Acute myeloid leukemia in children. Prospects for the optimization of treatment (review). *Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii* = Russian Journal of Children Hematology and Oncology 2017;4(1): 23–35. (In Russ.).]
- Harrison C.J., Hills R.K., Moorman A.V. et al. Cytogenetics of childhood acute myeloid leukemia: United Kingdom Medical Research Council Treatment trials AML 10 and 12. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2674–81. DOI: 10.1200/JCO.2009.24.8997. PMID: 20439644.
- von Neuhoff C., Reinhardt D., Sander A. et al. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2682–9. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.6321. PMID: 20439630.
- Balgobind B.V., Raimondi S.C., Harbott J. et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study. *Blood* 2009;114(12):2489–96. DOI: 10.1182/blood-2009-04-215152. PMID: 19528532.
- Balgobind B.V., Zwaan C.M., Pieters R., Van den Heuvel-Eibrink M.M. The heterogeneity of pediatric MLL-rearranged acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2011;25(8):1239–48. DOI: 10.1038/leu.2011.90. PMID: 21566656.
- Balgobind B.V., Hollink I.H., Arentsen-Peters S.T. et al. Integrative analysis of type-I and type-II aberrations underscores the genetic heterogeneity of pediatric acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2011;96(10):1478–87. DOI: 10.3324/haematol.2010.038976. PMID: 21791472.
- Rubnitz J.E., Inaba H. Childhood acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2012;159(3):259–76. DOI: 10.1111/bjh.12040. PMID: 22966788.
- Pui C.H., Carroll W.L., Meshinchi S., Arcenci R.J. Biology, risk stratification and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *J Clin Oncol* 2011;29(5):551–65. DOI: 10.1200/JCO.2010.30.7405. PMID: 21220611.
- Кирсанова Н.П., Алейникова О.В., Кустанович А.М. и др. Результаты лечения острого миелоидного лейкоза у детей группы неблагоприятного прогноза по протоколу ОМЛ-ММ-2000. *Онкогематология* 2009;4(1):5–13. [Kirsanova N.P., Aleinikova O.V., Kustanovich A.M. et al. Protocol AML-MM-2000 treatment results of unfavorable prognostic group in children with acute myeloid leukemia. *Onkogematologiya* = Oncohematology 2009;4(1):5–13 (In Russ.).]

Вклад авторов

Ю.А. Баровская: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи;

М.В. Стёганцева: получение данных для анализа;

О.В. Алейникова: разработка дизайна исследования.

Authors' contributions

Yu.A. Barovskaya: study design development, analysis of the obtained data, article writing, reviewing of publications on the article's topic;

M.V. Stegantseva: obtaining data for analysis;

O.V. Aleinikova: study design development.

ORCID авторов/ORCID of authors

Ю.А. Баровская/Yu.A. Barovskaya: <https://orcid.org/0000-0002-7151-6333>

М.В. Стёганцева/M.V. Stegantseva: <https://orcid.org/0000-0002-8692-3767>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Родители пациентов подписали информированное согласие на участие детей в исследовании.

Informed consent. There is given the parental informed consent to the children's participation in the study.

Эффективность и безопасность ниволумаба в лечении рецидивирующей и рефрактерной классической лимфомы Ходжкина: опыт ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова

К. В. Лепик, Н. Б. Михайлова, Е. В. Кондакова, Л. А. Цветкова, Ю. Р. Залялов, Е. С. Борзенкова,
И. С. Моисеев, В. В. Байков, Б. В. Афанасьев

Клиника «НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой» ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России; Россия, 197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8

Контакты: Наталья Борисовна Михайлова bmt.lymphoma@gmail.com

Введение. С помощью современной химиотерапии 1-й линии удастся излечить более 80 % пациентов, страдающих классической лимфомой Ходжкина, однако в 15–20 % случаев заболевание принимает рецидивирующее или рефрактерное течение. Внедрение ниволумаба в международную клиническую практику значительно улучшило результаты лечения больных с рецидивирующей и рефрактерной классической лимфомой Ходжкина.

Цель исследования — оценка результатов применения ниволумаба в клинике Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ результатов лечения 101 пациента с резистентной/рецидивирующей классической лимфомой Ходжкина с помощью ниволумаба в НИИ ДОГиТ им. Р. М. Горбачевой в период с февраля 2016 г. по август 2018 г. Группа включала 90 пациентов, получавших ниволумаб в рамках программы раннего доступа. Ответ на терапию оценивали с помощью компьютерной томографии или КТ, совмещенной с позитронно-эмиссионной томографией, в соответствии с критериями LYRIC для оценки ответа злокачественных лимфом на иммунотерапию. Безопасность и переносимость оценивали путем регистрации нежелательных явлений в соответствии с критериями NCI CTCAE версии 4.03.

Результаты. Медиана наблюдения составила 25 мес. Объективный ответ был констатирован у 64 % пациентов: полный — у 32 (31,6 %), частичный — у 33 (32,7 %). Стабилизация и прогрессирование как лучший ответ были зарегистрированы у 5 (4,9 %) и 10 (9,8 %) пациентов соответственно. Неопределенный ответ отмечен у 21 (20,6 %) пациента. Общая 2-летняя выживаемость составила 96 %, медиана общей выживаемости не была достигнута. Выживаемость без прогрессирования (БПВ) у больных исследуемой группы составила 40,6 %, медиана БПВ — 17,9 мес. Не выявлено значимых различий в БПВ у пациентов с частичным и неопределенным ответами. Нежелательные явления отмечены у 87,1 % пациентов. Тяжелые нежелательные явления III–IV степеней возникли у 18,8 % пациентов.

Заключение. Результаты ретроспективного исследования применения ниволумаба в российской популяции пациентов с резистентной и рецидивирующей классической лимфомой Ходжкина согласуются с опубликованными международными данными. Продemonстрирована высокая эффективность ниволумаба в качестве монотерапии резистентной/рецидивирующей классической лимфомы Ходжкина вне зависимости от структуры и длительности предшествующей терапии при удовлетворительном спектре нежелательных явлений. Явления псевдопрогрессирования на фоне иммунотерапии требуют переосмысления традиционных критериев оценки ответа лимфомы Ходжкина на терапию.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, ниволумаб, иммунотерапия

Для цитирования: Лепик К. В., Михайлова Н. Б., Кондакова Е. В. и др. Эффективность и безопасность ниволумаба в лечении рецидивирующей и рефрактерной классической лимфомы Ходжкина: опыт ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. Онкогематология 2018;13(4):17–26.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-17-26

Efficacy and safety of nivolumab in the treatment of relapsed/refractory classical Hodgkin's lymphoma: Pavlov First Saint Petersburg State Medical University experience

K. V. Lepik, N. B. Mikhailova, E. V. Kondakova, L. A. Tsvetkova, Yu. R. Zalyalov, E. S. Borzenkova,
I. S. Moiseev, V. V. Baykov, B. V. Afanasyev

Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia; 6–8 L'va Tolstogo St., 197022 Saint Petersburg, Russia

Background. Using modern first-line chemotherapy more than 80 % of patients with classical Hodgkin's lymphoma can be cured, however, in 15–20 % of cases there is a relapsed/refractory disease. The use of nivolumab in international clinical practice has significantly improved treatment results of patients with relapsed/refractory classical Hodgkin's lymphoma.

Objective of this study is to evaluate the results of therapy with nivolumab in the clinic of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Materials and methods. The retrospective analysis included treatment results of 101 patients with relapsed/refractory classical Hodgkin's lymphoma who received nivolumab in Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation from February 2016 to August 2018. The group included 90 patients who received nivolumab as part of an named patient program. Therapy response was assessed using CT/PET-CT in accordance with LYRIC criteria for response assessment of malignant lymphomas to immunotherapy. Safety and tolerability were assessed by registering adverse events in accordance with NCI CTCAE version 4.03 criteria. **Results.** Median follow-up was 25 months. The response was registered in 64 % of patients: in 32 (31.6 %) — complete response and in 33 (32.7 %) — partial response. Stabilization and progression as the best response were registered in 5 (4.9 %) and 10 (9.8 %) patients, respectively. Indeterminate response was observed in 21 (20.6 %) patients. The 2-year overall survival was 96 %; the median of overall survival was not achieved. Progression-free survival (PFS) in studied patients was 40.6 %. The median of PFS was 17.9 months. There were no significant differences in PFS between patients with a partial and indeterminate response. Adverse events were reported in 87.1 % of patients. Severe adverse events (III–IV grade) occur in 18.8 % of patients.

Conclusion. The results of a retrospective study of nivolumab therapy in Russian patients with relapsed/refractory classical Hodgkin's lymphoma are consistent with published international data. Nivolumab demonstrates high efficacy as a monotherapy for relapsed/refractory classical Hodgkin's lymphoma, regardless of previous therapy type and duration with well tolerance. Pseudo-progression phenomena during immunotherapy require revision of the traditional Hodgkin's lymphoma therapy response criteria.

Key words: Hodgkin's lymphoma, nivolumab, immunotherapy

For citation: Lepik K.V., Mikhailova N.B., Kondakova E.V. et al. Efficacy and safety of nivolumab in the treatment of relapsed/refractory classical Hodgkin's lymphoma: Pavlov First Saint Petersburg State Medical University experience. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2018;13(4):17–26.

Введение

Накопление данных о биологии клеток Березовского—Рид—Штернберга в патогенезе классической лимфомы Ходжкина (КЛХ) и опыта терапии этого заболевания в течение последних десятилетий привело к оптимизации и значительному улучшению результатов лечения больных КЛХ. В настоящее время полихимиотерапия 1-й линии позволяет добиться 5-летней беспрогрессивной выживаемости (БПВ) у 75–80 % пациентов с вновь диагностированной КЛХ [1, 2]. В случае развития рецидива заболевания высокодозная полихимиотерапия с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) позволяет достичь долгосрочной безрецидивной выживаемости у 40–50 % пациентов данной неблагоприятной группы [3–5]. В случае рецидива заболевания после аутологичной ТГСК или при невозможности ее выполнения одной из немногих эффективных терапевтических опций было применение брентуксимаба ведотина. В настоящее время накоплен значительный международный опыт использования брентуксимаба ведотина [6–9]. Несмотря на то, что с помощью данного препарата удается достичь ответа в большинстве клинических ситуаций, вероятность излечения пациента мала [10]. В случае резистентности или рецидива после применения брентуксимаба ведотина медиана общей выживаемости (ОВ) является неудовлетворительной и составляет в данной группе больных 1,5–2,0 года.

Генетические изменения в локусе 9p24.1 встречаются в абсолютном большинстве случаев КЛХ [11]. Данные изменения приводят к избыточной экспрессии лигандов (PD-L1, PD-L2) рецептора программируемой клеточной гибели 1 (PD-1) на поверхности опухолевых клеток. При межклеточном взаимодействии PD-L1 и PD-L2 подавляют активацию Т-клетки посредством связывания с PD-1 на ее поверхности [12].

Ниволумаб, препарат человеческих антител к рецептору PD-1, блокирует сигнальный путь PD-1, предотвращая ингибирование Т-клеток, что приводит к реализации противоопухолевого иммунного ответа [13]. Эффективность ниволумаба была продемонстрирована в клиническом исследовании фазы I (NCT01592370), в котором с помощью монотерапии удалось достигнуть объективного ответа у 20 (87 %) из 23 пациентов с резистентной/рецидивирующей КЛХ [13], а также в исследовании II фазы CheckMate 205 (NCT02181738) [14]. В этом многоцентровом исследовании фазы II продемонстрированы результаты лечения 243 пациентов с резистентной/рецидивирующей КЛХ после аутологичной ТГСК, которые были разделены на 3 когорты в зависимости от наличия или отсутствия терапии брентуксимабом ведотином в анамнезе. При медиане наблюдения 18 мес 1-летняя ОВ составила 92 %, общий ответ в общей популяции — 69 % (от 65 до 73 % в каждой когорте), без значимых различий между когортами [14]. В настоящий момент информация об эффективности и безопасности ниволумаба за пределами клинических исследований ограничена. В одном сообщении о результатах применения ниволумаба в реальной клинической практике в крупной группе пациентов с резистентной/рецидивирующей КЛХ ($n = 82$) были продемонстрированы результаты, схожие с клиническим исследованием II фазы (общий ответ 64 %, ОВ 22 %) с крайне ограниченным наблюдением 7 мес [15]. Отсутствуют публикации с длительным опытом применения ниволумаба у взрослых с резистентной и рецидивирующей КЛХ.

Цель исследования — анализ опыта лечения больных с резистентной лимфомой Ходжкина ниволумабом в клинике Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова.

Материалы и методы

Данное ретроспективное исследование было проведено в целях определения эффективности и спектра токсичности у пациентов с резистентной и рецидивирующей кЛХ, которым проводилось лечение с использованием ниволумаба. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинкской декларацией. В исследование был включен 101 взрослый пациент (52 мужчины, 49 женщин) с рефрактерной или рецидивирующей кЛХ, которым проводилась монотерапия ниволумабом. Среди них 90 пациентов получали препарат в рамках российской программы раннего доступа к препарату ниволумаб. Все пациенты имели гистологически подтвержденный диагноз заболевания.

Анализ данных выполняли на основании медицинской документации. В рамках стандартной клинической практики НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой всем пациентам проводили базовую оценку, включающую физикальное обследование, клинический и биохимический анализы крови, а также компьютерную томографию (КТ) или КТ, совмещенную с позитронно-эмиссионной томографией (ПЭТ/КТ). Обследование повторялось после начала терапии ниволумабом с интервалом 3 мес.

Пациенты получали ниволумаб в виде внутривенной инфузии в дозе 3 мг/кг массы тела каждые 2 нед без премедикации, до отзыва согласия, прогрессирования заболевания или проявления непереносимости препарата.

Первичной конечной точкой исследования была частота объективного ответа; вторичными конечными точками — ОВ и выживаемость без прогрессирования, а также спектр побочных эффектов препарата. При отсутствии дополнительных показаний ответ оценивали посредством ПЭТ/КТ согласно критериям LYRIC для оценки ответа злокачественных лимфом на иммунотерапию [16].

Безопасность и переносимость анализировали путем регистрации побочных явлений, тяжесть и тип которых определяли в соответствии с критериями NCI CTCAE версии 4.03. В случае возникновения нежелательных явлений (НЯ) $\geq$ III степени тяжести, связанных с препаратом, применение ниволумаба прекращали, при необходимости назначали глюкокортикостероиды (ГКС) в соответствии с рекомендациями производителя.

ОВ определяли как время от начала терапии до смерти от любой причины и цензурировали датой последнего доступного наблюдения. Выживаемость без прогрессирования определяли как время от начала терапии до прогрессирования, развития рецидива или смерти от любой причины. Функцию выживания оценивали с помощью метода Каплана—Майера. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения SPSS 22 (IBM, США). Статистически значимыми считали значения $p < 0,05$.

Все пациенты, получившие не менее 1 введения ниволумаба, были включены в анализ безопасности

и эффективности терапии. Характеристики пациентов приведены в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика пациентов с рецидивирующей и рефрактерной классической лимфомой Ходжкина ($n = 101$)

Table 1. Characteristics of patients with relapsed/refractory classical Hodgkin's lymphoma ($n = 101$)

Параметр Parameter	Значение Value
Медиана возраста (диапазон), лет Median of age (range), years	31 (19–62)
Пол, n (%): Gender, n (%):	
мужской male	52 (51,5)
женский female	49 (48,5)
Распространенная (III–IV) стадия на момент диагноза, n (%) Advanced stage (III–IV) at diagnosis, n (%)	64 (63,4)
В-симптомы в дебюте заболевания, n (%) B-symptoms in the disease onset, n (%)	66 (65,3)
Первичное химиорезистентное течение, n (%) Primary chemotherapy resistance, n (%)	62 (61,4)
Ранний рецидив, n (%) Early relapse, n (%)	9 (8,4)
Медиана проведенных ранее линий терапии (диапазон) Median of previous treatment lines (range)	5 (2–10)
Лучевая терапия, n (%) Radiation therapy, n (%)	66 (65,3)
ВПХТ с аутологичной ТГСК в анамнезе, n (%) HDCT with autoHSCT in anamnesis, n (%)	40 (39,6)
Терапия брентуксимабом ведотином в анамнезе, n (%) Therapy with Brentuximab vedotin in anamnesis, n (%)	51 (50,5)
Стадия заболевания на момент назначения ниволумаба, n (%): Disease stage at the time of nivolumab, n (%):	
I	0
II	13 (12,9)
III	6 (5,9)
IV	82 (81,2)
Прогрессирование заболевания на момент назначения ниволумаба, n (%) Disease progression at the time of nivolumab, n (%)	81 (80,2)
В-симптомы на момент назначения ниволумаба, n (%) B-symptoms at the time of nivolumab, n (%)	56 (55,5)
Статус по шкале ECOG на момент назначения ниволумаба, n (%): ECOG status at the time of nivolumab, n (%):	
0–1	56 (55,4)
2	25 (24,8)
3	13 (12,9)
4	2 (2,0)
Нет данных No data	5 (5,0)

Примечание. ВПХТ — высокодозная полихимиотерапия; ТГСК — трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Note. HDCT — high-dose chemotherapy; HSCT — hematopoietic stem cell transplantation.

Результаты

Эффективность. Все пациенты были включены в анализ эффективности. Характеристика ответов на терапию, ОВ и БПВ представлена на рис. 1.

Медиана числа введений ниволумаба, после которого был констатирован лучший ответ на терапию, составила 6 (1–24). Лучший ответ на терапию ниволу-

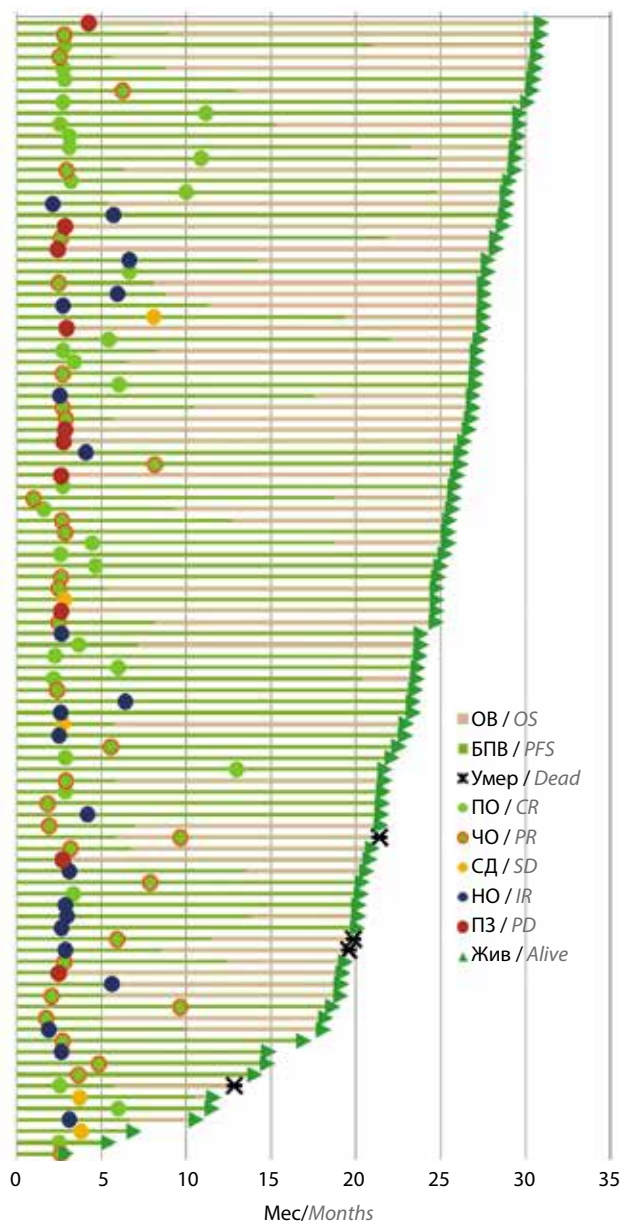


Рис. 1. Характеристика ответов и клинических исходов у больных с резистентной и рецидивирующей классической лимфомой Ходжкина на фоне терапии ниволумабом. Зеленые линии отображают выживаемость без прогрессирования, розовые линии — общую выживаемость. ОВ — общая выживаемость; БПВ — беспрогрессирующая выживаемость; ПО — полный ответ; ЧО — частичный ответ; СД — стабилизация; НО — неопределенный ответ; ПЗ — прогрессирование заболевания
Fig. 1. Characterization of responses and clinical outcomes in patients with resistant/recurrent classical Hodgkin's lymphoma during nivolumab therapy. Green lines represent progression-free survival, pink lines — overall survival. OS — overall survival; PFS — progression-free survival; CR — complete response; PR — partial response; SD — stabilization; IR — indeterminate response; PD — disease progression

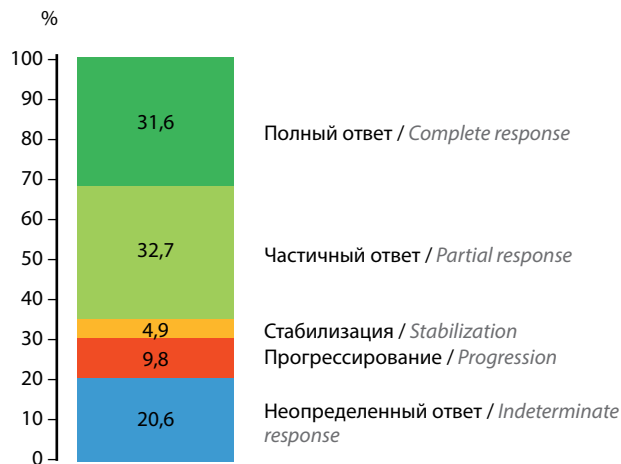


Рис. 2. Лучший ответ на терапию ниволумабом у больных с резистентной и рецидивирующей классической лимфомой Ходжкина
Fig. 2. The best response to nivolumab therapy in patients with resistant/recurrent classical Hodgkin's lymphoma

мабом отражен на рис. 2. Объективный ответ на терапию согласно критериям LYRIC был констатирован у 64 % пациентов: полный — у 32 (31,6 %), частичный — у 33 (32,7 %) больных. Стабилизация как лучший ответ зарегистрирована у 5 (4,9 %) пациентов. У 10 (9,8 %) пациентов, несмотря на проводимое лечение, отмечено прогрессирование заболевания по данным контрольной ПЭТ-КТ. Неопределенный ответ по критериям LYRIC наблюдался у 21 (20,6 %) пациента.

На момент анализа медиана наблюдения составила 25 мес (3–31 мес), 2-летняя ОВ — 96 %, медиана ОВ не достигнута. У больных исследуемой группы 2-летняя БПВ составила 40,6 %, медиана БПВ — 17,9 мес (рис. 3).

В связи с малым количеством событий адекватная статистическая оценка факторов, влияющих на ОВ, невозможна. На момент анализа в исследуемой популяции живы 96 % пациентов. Причинами летальных исходов стали: резистентный острый миелобластный лейкоз ($n = 1$), двусторонняя пневмония ($n = 1$), осложнения раннего периода гаплоидентичной ТГСК ($n = 1$), неизвестные причины ($n = 1$). Среди факторов, влияющих на БПВ больных, следует выделить лучший ответ на терапию ниволумабом (рис. 4) и стадию заболевания на момент начала терапии ($p = 0,025$). Статус по шкале ECOG ($p = 0,67$), наличие В-симптомов на момент начала терапии ($p = 0,09$), наличие в анамнезе первичной химиорезистентности ($p = 0,99$), высокодозной полихимиотерапии с аутологичной ТГСК и применения брентуксимаба ведотина (см. рис. 4) не влияли на показатели БПВ больных исследуемой группы.

У 63 (62,4 %) больных анализируемой группы проводилась дополнительная терапия после монотерапии ниволумабом. Из них у 50 пациентов дополнительная терапия включала ниволумаб в комбинации с химиотерапией, брентуксимабом ведотином, таргетными препаратами. Аллогенная трансплантация выполнена

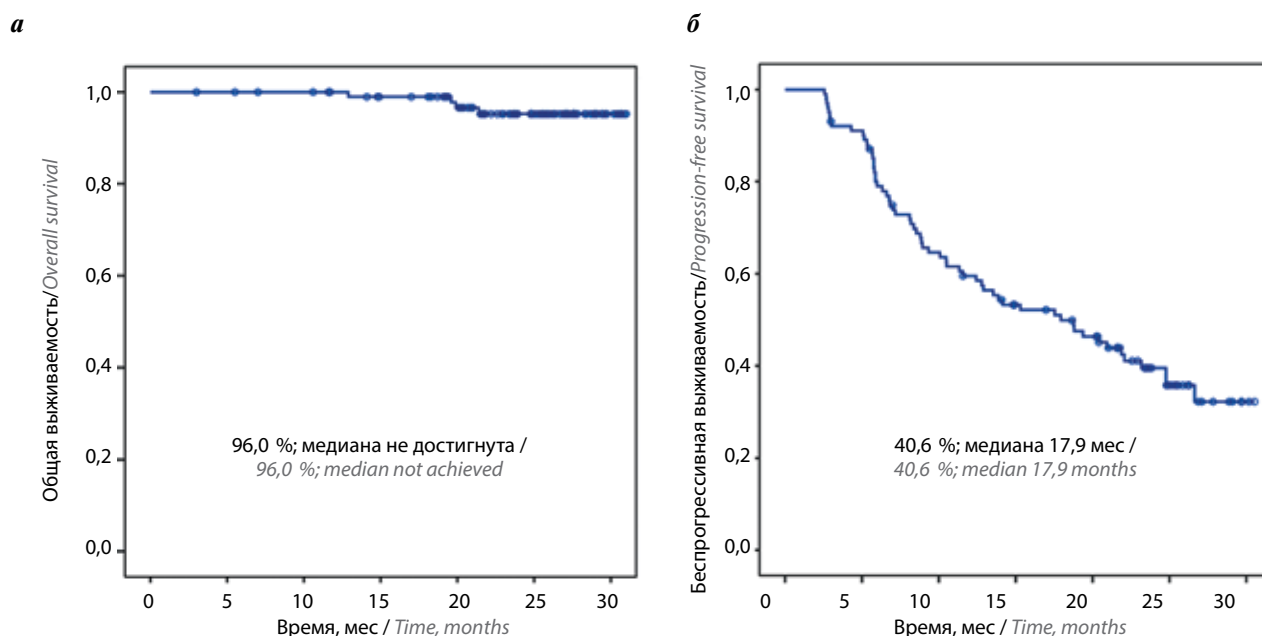


Рис. 3. Общая (а) и беспрогрессивная (б) выживаемость у больных с резистентной и рецидивирующей классической лимфомой Ходжкина на фоне терапии ниволумабом

Fig. 3. Overall (a) and progression-free (б) survival in patients with resistant/recurrent classical Hodgkin's lymphoma during nivolumab therapy

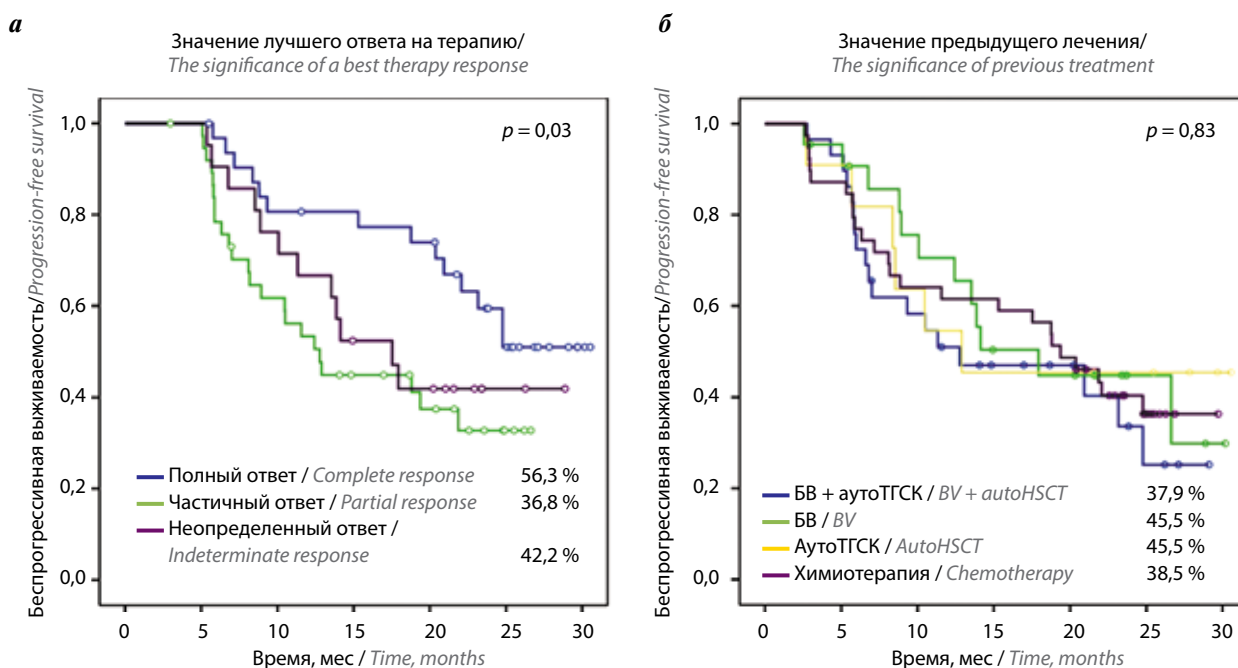


Рис. 4. Беспрогрессивная выживаемость у больных с резистентной и рецидивирующей классической лимфомой Ходжкина на фоне терапии ниволумабом в зависимости от лучшего ответа на терапию (а) (исключены пациенты с прогрессированием в качестве лучшего ответа) и структуры предшествующего лечения (б). БВ + аутоТГСК — пациенты, получавшие помимо стандартной химиотерапии терапию брентуксимабом ведотином и высокодозную полихимиотерапию с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток; БВ — пациенты, получавшие помимо стандартной химиотерапии монотерапию брентуксимабом ведотином; аутоТГСК — пациенты, получавшие помимо стандартной химиотерапии только высокодозную полихимиотерапию с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток; химиотерапия — пациенты, получавшие только стандартную полихимиотерапию, не получавшие брентуксимаб ведотин и высокодозную полихимиотерапию с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток

Fig. 4. Progression-free survival in patients with resistant/recurrent classical Hodgkin's lymphoma with nivolumab therapy depending on the best therapy response (a) (patients with progression as the best response are excluded) and previous treatment (б). BV + autoHSCT — patients who received, in addition to standard chemotherapy, Brentuximab vedotin and high-dose polychemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation; BV — patients who received, in addition to standard chemotherapy, only Brentuximab vedotin; autoHSCT — patients who received, in addition to standard chemotherapy, only high-dose polychemotherapy with autologous hematopoietic stem cells transplantation; chemotherapy — patients who received only standard polychemotherapy, who did not receive Brentuximab vedotin and high-dose polychemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation

17 (16,8 %) пациентам. На момент публикации 15 (14,9 %) пациентов находятся в ремиссии заболевания и не получали дополнительной или консолидирующей терапии. Медиана наблюдения в данной подгруппе больных составляет 25 мес (11,5–30,6 мес).

Анализ безопасности. Все пациенты получили по меньшей мере 1 введение ниволумаба и были включены в анализ безопасности. Медиана курсов ниволумаба составила 20 (диапазон 1–30). Профиль токсичности в целом был приемлем и схож с опубликованными ранее данными [14]. Наиболее частые НЯ на фоне терапии ниволумабом представлены в табл. 2.

Несмотря на то что НЯ отмечали у 88 (87,1 %) пациентов, степень тяжести большинства токсических эпизодов не была тяжелой (I–II степень по критериям NCI CTCAE) и корректировалась на фоне симптоматической терапии. Наиболее частыми НЯ явились

лейкопения (34,7 %), слабость (25,7 %), головная боль, головокружение (20,8 %), анемия (19,8 %), тошнота (18,8 %), нейропатия (16,8 %), повышение уровня трансаминаз (15,8 %), кожный зуд (15,8 %), гипотиреоз (14,9 %).

Необходимо отметить, что наличие цитопении было характерно для пациентов, которые на момент начала терапии ниволумабом получили множество линий химиотерапии и высокодозной химиотерапии с аутологичной трансплантацией. Таким образом, сделать однозначный вывод относительно роли ниволумаба в развитии или увеличении длительности цитопении не представляется возможным.

В случае развития НЯ легкой степени тяжести терапия ниволумабом была продолжена, проводилась симптоматическая терапия, заместительная гормональная терапия.

Таблица 2. Наиболее распространенные нежелательные явления у пациентов с рецидивирующей и рефрактерной классической лимфомой Ходжкина при терапии ниволумабом, n (%)

Table 2. The most common adverse events in patients with relapsed/refractory classical Hodgkin's lymphoma during nivolumab therapy, n (%)

Нежелательное явление Adverse event	Все нежелательные явления, возникшие на фоне ниволумаба Total adverse events during nivolumab	Легкая (I–II) степень Not severe (I–II grade)	Тяжелая (III–IV) степень Severe (III–IV grade)
Любое Any	88 (87,1)	83 (82,2)	19 (18,8)
Лейкопения Leukopenia	35 (34,7)	30 (29,7)	5 (5,0)
Общая слабость Weakness	26 (25,7)	26 (25,7)	0
Головная боль, головокружение Headache, dizziness	21 (20,8)	21 (20,8)	0
Анемия Anemia	20 (19,8)	19 (18,8)	1 (1,0)
Тошнота Nausea	19 (18,8)	19 (18,8)	0
Нейропатия Neuropathy	17 (16,8)	17 (16,8)	0
Повышение уровня трансаминаз Increased transaminases level	16 (15,8)	14 (13,9)	2 (2,0)
Кожный зуд Pruritus	16 (15,8)	16 (15,8)	0
Гипотиреоз Hypothyroidism	15 (14,9)	15 (14,9)	0
Сыпь Rash	14 (13,9)	14 (13,9)	0
Одышка Dyspnea	14 (13,9)	14 (13,9)	0
Пирексия после введения Pyrexia after administration	13 (12,9)	13 (12,9)	0
Боль и вздутие живота Abdominal pain and distention	13 (12,9)	13 (12,9)	0
Диарея Diarrhea	12 (11,9)	11 (10,9)	1 (1,0)

Окончание табл. 2

End of table 2

Нежелательное явление Adverse event	Все нежелательные явления, возникшие на фоне ниволумаба Total adverse events during nivolumab	Легкая (I–II) степень Not severe (I–II grade)	Тяжелая (III–IV) степень Severe (III–IV grade)
Нарушение зрения Visual impairment	9 (8,9)	9 (8,9)	0
Артралгия Arthralgia	9 (8,9)	9 (8,9)	0
Тромбоцитопения Thrombocytopenia	9 (8,9)	6 (5,9)	3 (3,0)
Снижение аппетита Decreased appetite	7 (6,9)	7 (6,9)	0
Пневмония Pneumonia	7 (6,9)	5 (5,0)	2 (2,0)
Задержка стула Constipation	6 (5,9)	6 (5,9)	0
Острое повреждение почек Acute kidney damage	6 (5,9)	4 (4,0)	2 (2,0)
Инфекция верхних дыхательных путей Upper respiratory tract infection	6 (5,9)	6 (5,9)	0
Рвота Vomiting	3 (3,0)	3 (3,0)	0
Повышение уровня амилазы Increase amylase level	3 (3,0)	1 (1,0)	2 (2,0)
Синусит Sinusitis	3 (3,0)	3 (3,0)	0
Менингит асептический Aseptic meningitis	2 (2,0)	0	2 (2,0)
Тромбоз Thrombosis	2 (2,0)	1 (1,0)	1 (1,0)
Инвазивный аспергиллез Invasive Aspergillosis	2 (2,0)	2 (2,0)	0
Неврит Neuritis	1 (1,0)	1 (1,0)	0
Хореоретинит Choreoretinitis	1 (1,0)	1 (1,0)	0
Увеит Uveitis	1 (1,0)	0	1 (1,0)
Острое нарушение мозгового кровообращения Acute cerebrovascular accident	1 (1,0)	0	1 (1,0)
Гипофизит Hypophysitis	1 (1,0)	0	1 (1,0)
Колит Colitis	1 (1,0)	0	1 (1,0)
Артрит псориатический Psoriatic arthritis	1 (1,0)	0	1 (1,0)
Артрит бактериальный Bacterial arthritis	1 (1,0)	0	1 (1,0)
Менингит бактериальный Bacterial meningitis	1 (1,0)	0	1 (1,0)

Нежелательные явления III–IV степеней тяжести возникли у 18,8 % пациентов. Структура НЯ IV степени тяжести: асептический менингит у пациентов после аллогенной ТГСК (2 %), тромбоцитопения (2 %), бактериальный менингит, вызванный *Listeria monocytogenes* (1 %), обострение псориатического артрита (1 %), острое нарушение мозгового кровообращения (1 %), гипопизит (1 %). При развитии тяжелых НЯ терапия ниволумабом останавливалась, при возникновении иммуноопосредованных осложнений (менингит, гипопизит, псориатический артрит) проводилась терапия ГКС в дозе 1 мг/кг в течение 2 нед с последующим снижением дозы в случае разрешения НЯ. Терапия ниволумабом могла быть возобновлена после полного разрешения НЯ и снижения суточной дозы ГКС менее 10 мг. НЯ V степени тяжести (двусторонняя пневмония, вызванная *Klebsiella pneumoniae*) возникло у 1 пациента.

Таким образом, можно заключить, что, несмотря на широкий спектр возможных НЯ, частота развития тяжелых НЯ невелика. При этом во всех случаях, кроме одного, иммуноопосредованные НЯ разрешились на фоне терапии ГКС. В единственном случае тяжелой тромбоцитопении, резистентной к терапии ГКС, восстановление уровня тромбоцитов наступило при назначении циклоспорина А. В последующем у данного пациента терапия ниволумабом была возобновлена без рецидива тромбоцитопении. Снижение дозы в целях коррекции НЯ, возникших на фоне лечения ниволумабом, не проводилось.

Обсуждение

В данном ретроспективном одноцентровом исследовании впервые в России на обширной ($n = 101$) группе взрослых больных резистентной и рецидивирующей кЛХ выполнен анализ эффективности и безопасности препарата моноклональных анти-PD-1 антител ниволумаба. В анализ были включены больные старше 18 лет, получившие ниволумаб в монорежиме после рецидива или отсутствия эффекта как минимум 2-й линии стандартной терапии. Анализ также включал пациентов, получивших ниволумаб после аллогенной ТГСК. Полученные результаты согласуются с данными клинического исследования II фазы ниволумаба [14].

Особенностью настоящего исследования является высокая предлеченность (медиана курсов предшествующей терапии 5 (2–10)) и значительная доля больных с тяжелым соматическим статусом. В исследуемой группе 24 больных получили >7 линий терапии, 15 пациентов имели соматический статус по шкале ECOG >3 и ожидаемую продолжительность жизни менее 3 мес. Большинство больных имели резистентность к предшествующему лечению и находились в состоянии прогрессирования заболевания.

Ретроспективный анализ демонстрирует, что ниволумаб высокоэффективен у пациентов с резистентной/рецидивирующей кЛХ. Объективный ответ

на фоне терапии наблюдался у 64,0 % больных, 31,6 % пациентов достигли полной ремиссии заболевания. Данные анализа демонстрируют, что лучший ответ на терапию достигается в ранние сроки после начала терапии (медиана курсов 6), однако диапазон числа введений, после которого был достигнут лучший ответ, широк, и у 7 пациентов лучший ответ отмечен только после 9 мес терапии (18 введений).

ОВ больных исследуемой группы в период наблюдения 25 мес составила 96 %, медиана ОВ не была достигнута. Подобные показатели выживаемости значительно превосходят результаты лечения резистентной/рецидивирующей кЛХ существующими ранее методами терапии [4, 5, 10]. Двухлетняя БПВ составила 40,6 %, ее медиана — 17,9 мес, и очевидно не достигла плато на момент анализа. Продолжается поиск биологических факторов, которые позволили бы прогнозировать степень ответа на терапию [17–19], однако ни один из описанных факторов не обладает достаточной ценностью для широкого внедрения в клиническую практику.

Среди клинических характеристик пациентов значимые факторы в отношении БПВ — стадия заболевания на момент назначения препарата и лучший ответ на терапию ниволумабом. Важным наблюдением исследования CheckMate 205 является описание эффективности терапии после прогрессирования. В данном исследовании терапия ниволумабом после прогрессирования была ассоциирована со стабилизацией или уменьшением опухолевой массы у 61 % пациентов и значимо увеличивала ОВ пациентов [14].

В связи с явлениями псевдопрогрессирования [20], связанными с временным увеличением метаболической активности и размера очагов при терапии ингибиторами иммунных контрольных точек, в клинике НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой для оценки эффекта терапии ниволумабом используются модифицированные критерии ответа злокачественных лимфом на иммунотерапию — LYRIC [16]. Отличительная особенность данных критериев — внедрение категории неопределенного ответа (indeterminate response, IR) нескольких типов. Благодаря использованию категории IR возможно снижение числа случаев, ошибочно трактуемых как прогрессирование заболевания, и предотвращение преждевременной остановки терапии, от которой пациент продолжает получать пользу.

При использовании классических критериев Lugano 2014 г. [21] все случаи неопределенного ответа должны трактоваться в качестве прогрессирования заболевания, что также означает необходимость пересмотра проводимой терапии. В исследуемой нами группе ОВ и БПВ у пациентов, достигших неопределенного ответа в качестве лучшего ответа, не отличались от таковых у пациентов с частичным ответом, что позволяет сделать вывод о прогнозе пациентов с неопределенным ответом и целесообразности продолжения терапии ниволумабом у этих пациентов.

В исследуемой нами группе не выявлено значимых различий в общем ответе, ОВ и БПВ в зависимости от наличия или отсутствия в анамнезе высокодозной полихимиотерапии с ТГСК, а также терапии брентуксимабом ведотином.

Анализ безопасности продемонстрировал спектр и структуру НЯ, схожие с опубликованными международными данными [14, 15]. В целом ниволумаб при лечении резистентной/рецидивирующей КЛХ обладает хорошей переносимостью. Несмотря на то, что при тщательном анализе у 87,1 % пациентов наблюдаются НЯ на фоне терапии, большинство из них не являются тяжелыми и не вызывают риска для жизни или выраженного снижения качества жизни. Важнейшей группой НЯ являются иммуноопосредованные НЯ, спектр вариаций которых чрезвычайно широк. Данные наблюдения подчеркивают важность мониторинга клинических и лабораторных показателей — опрос (особенно в отношении изменений зрения), тщательный физикальный осмотр, контроль показателей клинического и биохимического анализов крови (уровни билирубина, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, амилазы, креатинина, глюкозы) перед каждым введением препарата, периодический мониторинг уровня тиреотропного гормона (в клинике НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой обычно осуществляется 1 раз в 3 мес при отсутствии клинических проявлений гипотиреоза). В случае возникновения НЯ тяжелой степени базовая тактика

состоит в приостановке или полной остановке терапии ниволумабом, а также в введении ГКС в дозе, эквивалентной 1–2 мг/кг метилпреднизолона в день. Тактика при возникновении НЯ может быть основана на рекомендациях производителя или международных сообществ [22]. В некоторых случаях НЯ после разрешения проявлений и отмены/снижения дозы ГКС не более 10 мг/сут возможно повторное назначение терапии ниволумабом. При применении ниволумаба после аллогенной ТГСК риск возникновения НЯ возрастает.

Заключение

Результаты ретроспективного исследования применения ниволумаба в российской популяции больных с резистентной и рецидивирующей КЛХ, отличающихся тяжелой предлеченностью, согласуются с опубликованными международными данными и демонстрируют высокую эффективность препарата в качестве монотерапии при удовлетворительном спектре НЯ. Ниволумаб был эффективен вне зависимости от интенсивности и структуры предшествующей терапии. Явления псевдопрогрессирования подчеркивают важность внедрения новых критериев для оценки эффективности терапии ингибиторами иммунных контрольных точек. Период наблюдения недостаточен для вывода о стойкости достигнутых ремиссий и вероятности излечения пациентов с помощью терапии ниволумабом.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Canellos G.P., Anderson J.R., Propert K.J. et al. Chemotherapy of advanced Hodgkin's disease with MOPP, ABVD, or MOPP alternating with ABVD. *N Engl J Med* 1992;327(21):1478–84. DOI: 10.1056/NEJM199211193272102. PMID: 1383821.
2. Diehl V., Franklin J., Pfreundschuh M. et al. Standard and increased-dose BEACOPP chemotherapy compared with COPP-ABVD for advanced Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 2003;348(24):2386–95. DOI: 10.1056/NEJMoa022473. PMID: 12802024.
3. Linch D.C., Winfield D., Goldstone A.H. et al. Dose intensification with autologous bone-marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet* 1993;341(8852):1051–4. PMID: 8096958.
4. Schmitz N., Pfistner B., Sextro M. et al. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet* 2002;359(9323):2065–71. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)08938-9. PMID: 12086759.
5. André M., Henry-Amar M., Pico J.L. et al. Comparison of high-dose therapy and autologous stem-cell transplantation with conventional therapy for Hodgkin's disease induction failure: a case-control study. *Société Française de Greffe de Moelle. J Clin Oncol* 1999;17(1):222–9. DOI: 10.1200/JCO.1999.17.1.222. PMID: 10458237.
6. Rothe A., Sasse S., Goergen H. et al. Brentuximab vedotin for relapsed or refractory CD30-positive hematologic malignancies: the German Hodgkin Study Group experience. *Blood* 2012;120(7):1470–2. DOI: 10.1182/blood-2012-05-430918. PMID: 22786877.
7. Мякова Н.В., Евстратов Д.А., Абрамов Д.С. и др. Применение брентуксимаба ведотина у детей и подростков с классической лимфомой Ходжкина и анапластической крупноклеточной классической лимфомой — обзор литературы и собственные наблюдения. *Онкогематология* 2016;11(1):8–13. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-8-13. [Myakova N.V., Evstratov D.A., Abramov D.S. et al. Brentuximab vedotin in children and adolescents with Hodgkin's lymphoma and anaplastic large cell lymphoma — literature review and own experience. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2016;11(1):8–13. (In Russ.)].
8. Younes A., Gopal A.K., Smith S.E. et al. Results of a pivotal phase II study of brentuximab vedotin for patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2012;30(18):2183–9. DOI: 10.1200/JCO.2011.38.0410. PMID: 22454421.
9. Forero-Torres A., Holkova B., Goldschmidt J. et al. Phase 2 study of frontline brentuximab vedotin monotherapy in Hodgkin's lymphoma patients aged 60 years and older. *Blood* 2015;126(26):2798–804. DOI: 10.1182/blood-2015-06-644336. PMID: 26377597.
10. Chen R., Gopal A.K., Smith S.E. et al. Five-year survival and durability results of brentuximab vedotin in patients with

- relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2016;128(12):1562–6. DOI: 10.1182/blood-2016-02-699850. PMID: 27432875.
11. Roemer M.G.M., Advani R.H., Ligon A.H. et al. PD-L1 and PD-L2 genetic alterations define classical Hodgkin's lymphoma and predict outcome. *J Clin Oncol* 2016;34(23):2690–7. DOI: 10.1200/JCO.2016.66.4482. PMID: 27069084.
 12. Yokosuka T., Takamatsu M., Kobayashi-Imanishi W. et al. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J Exp Med* 2012;209(6):1201–17. DOI: 10.1084/jem.20112741. PMID: 22641383.
 13. Ansell S.M., Lesokhin A.M., Borrello I. et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015;372(4):311–9. DOI: 10.1056/NEJMoa1411087. PMID: 25482239.
 14. Armand P., Engert A., Younes A. et al. Nivolumab for relapsed/refractory classic Hodgkin's lymphoma after failure of autologous hematopoietic cell transplantation: extended follow-up of the multicohort single-arm phase II CheckMate 205 Trial. *J Clin Oncol* 2018;36(14):1428–39. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.0793. PMID: 29584546.
 15. Beköz H., Karadurmus N., Paydas S. et al. Nivolumab for relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma: real-life experience. *Ann Oncol* 2017;28(10):2496–502. DOI: 10.1093/annonc/mdx341. PMID: 28961828.
 16. Cheson B.D., Ansell S., Schwartz L. et al. Refinement of the Lugano Classification lymphoma response criteria in the era of immunomodulatory therapy. *Blood* 2016;128(21):2489–96. DOI: 10.1182/blood-2016-05-718528. PMID: 27574190.
 17. Buder-Bakhaya K., Hassel J.C. Biomarkers for clinical benefit of immune checkpoint inhibitor treatment. A review from the melanoma perspective and beyond. *Front Immunol* 2018;9:1474. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01474. PMID: 30002656.
 18. Jenkins R.W., Barbie D.A., Flaherty K.T. Mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors. *Br J Cancer* 2018;118(1):9–16. DOI: 10.1038/bjc.2017.434. PMID: 29319049.
 19. Gnjatic S., Bronte V., Brunet L.R. et al. Identifying baseline immune-related biomarkers to predict clinical outcome of immunotherapy. *J Immunother Cancer* 2017;5:44. DOI: 10.1186/s40425-017-0243-4. PMID: 28515944.
 20. Wang G.X., Guo L.Q., Gainor J.F., Fintelmann F.J. Immune checkpoint inhibitors in lung cancer: imaging considerations. *AJR Am J Roentgenol* 2017;209(3):567–75. DOI: 10.2214/AJR.16.17770. PMID: 28657846.
 21. Cheson B.D., Fisher R.I., Barrington S.F. et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin's and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol* 2014;32(27):3059–68. DOI: 10.1200/JCO.2013.54.8800. PMID: 25113753.
 22. Haanen J.B.A.G., Carbone F., Robert C. et al. Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2017;28(Suppl 4):iv119–42. DOI: 10.1093/annonc/mdx225. PMID: 28881921.

Вклад авторов

К.В. Лепик: разработка концепции и дизайна исследования, сбор и обработка данных, подготовка рукописи;
 Н.Б. Михайлова: анализ и интерпретация данных;
 Е.В. Кондакова: сбор и обработка данных, предоставление материалов исследования;
 Л.А. Цветкова: сбор и обработка данных, предоставление материалов исследования, подготовка рукописи;
 Ю.Р. Залялов: предоставление материалов исследования;
 Е.С. Борзенкова: подготовка рукописи;
 И.С. Моисеев: анализ и интерпретация данных;
 В.В. Байков: сбор и интерпретация данных;
 Б.В. Афанасьев: анализ и интерпретация данных, доработка финальной рукописи.

Authors' contributions

K.V. Lepik: study concept and design development, data collection and processing, manuscript preparation;
 N.B. Mikhailova: data analysis and interpretation;
 E.V. Kondakova: data collection and processing, provision of research materials;
 L.A. Tsvetkova: data collection and processing, provision of research materials, manuscript preparation;
 Yu.R. Zalyalov: provision of research materials;
 E.S. Borzenkova: manuscript preparation;
 I.S. Moiseev: data analysis and interpretation;
 V.V. Baykov: data collection and processing;
 B.V. Afanasyev: data analysis and interpretation, finalizing the final manuscript.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

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

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

Статья поступила: 05.09.2018. **Принята к публикации:** 15.10.2018.

Article received: 05.09.2018. **Accepted for publication:** 15.10.2018.

Механизмы резистентности В-линейного острого лимфобластного лейкоза при применении CD19-направленной иммунотерапии

Е.В. Глуханюк¹, А.В. Степанов², А.М. Попов¹, М.А. Масчан¹

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

²ФГБУН «Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН»; Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Контакты: Михаил Александрович Масчан mmaschan@yandex.ru

Иммунотерапия — наиболее бурно развивающаяся область клинической онкогематологии. Существенные успехи иммунотерапии связаны с таргетированием антигена CD19, экспрессированного на поверхности опухолевых клеток при В-линейном остром лимфобластном лейкозе и В-клеточных лимфомах. CD19-направленная терапия в мире одобрена к клиническому применению в 2 форматах: CD3 × CD19 биспецифичный препарат (блинатумомаб) и аутологичный клеточный продукт CD19 CAR-T-лимфоциты (chimeric antigen receptor T-lymphocyte). Первый опыт клинического применения данных препаратов показал беспрецедентную эффективность в терапии рецидивов и рефрактерных форм В-линейных лейкозов и лимфом у детей и взрослых. Результаты первых исследований также продемонстрировали, что опухоли способны ускользать из-под иммунологического контроля и терять чувствительность к CD19-направленной иммунотерапии. Механизмы ускользания активно изучаются и включают разнообразные биологические пути: от альтернативного сплайсинга изоформ CD19 до иммуносупрессивного микроокружения опухоли. В настоящем обзоре кратко суммированы данные о механизмах резистентности В-линейных опухолей к CD19-направленной иммунотерапии и потенциальных путях ее преодоления.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, иммунотерапия, химерный антигенный рецептор, резистентность, CAR-T-лимфоциты, биспецифические антитела

Для цитирования: Глуханюк Е.В., Степанов А.В., Попов А.М., Масчан М.А. Механизмы резистентности В-линейного острого лимфобластного лейкоза при применении CD19-направленной иммунотерапии. Онкогематология 2018;13(4):27–36.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-27-36

CD-19-directed immunotherapy resistance mechanisms of B-precursor acute lymphoblastic leukemia

E. V. Glukhanyuk¹, A. V. Stepanov², A. M. Popov¹, M. A. Maschan¹

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

²Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry; 16/10 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117997, Russia

Immunotherapy is the most rapidly evolving field in clinical malignant hematology. Targeting of the B-lineage surface antigen CD19 in B-lineage acute lymphoblastic leukemia and B-cell lymphoma is a story of great success. Recently two approaches of CD19 immunotargeting were approved for clinical application: CD3 × CD19 bi-specific T-cell engager blinatumomab and CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T-cells. Both approaches demonstrated an unprecedented activity in a cohort of patients with relapsed and refractory B-cell leukemia and lymphoma both in the adult and pediatric population. Early clinical research has showed that tumors are able to escape the immunological control and become resistant to the immune attack. Mechanisms of the tumor immune escape are being actively studied and include diverse pathways, such as alternative splicing of CD19 and immunosuppressive tumor microenvironment. Current review briefly summarizes data regarding the mechanisms of CD19-positive leukemia resistance to CD19 immune targeting and discusses potential approaches to overcome it.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, immunotherapy, chimeric antigen receptor, resistance, CAR-T-lymphocytes, bispecific antibodies

For citation: Glukhanyuk E. V., Stepanov A. V., Popov A. M., Maschan M. A. CD-19-directed immunotherapy resistance mechanisms of B-precursor acute lymphoblastic leukemia. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(4):27–36.

Введение

На сегодняшний день иммунотерапия относится к одной из самых бурно развивающихся областей борьбы с онкологическими заболеваниями. В области

лечения гемобластозов наиболее заметный прогресс достигнут в иммунотерапии В-линейных опухолей: первым клинически успешным подходом стало таргетирование поверхностного В-линейного антигена

CD19 с использованием эффекторных механизмов цитотоксических Т-лимфоцитов. Среди методов перенаправления Т-лимфоцитов на CD19-позитивные мишени наиболее эффективными оказались биспецифичные антитела, такие как блинатумомаб, и генетически модифицированные Т-лимфоциты, несущие химерный антигенный рецептор, специфичный к CD19 (CD19 CAR-T (chimeric antigen receptor T-lymphocyte)). По результатам успешных клинических испытаний эти подходы были одобрены для терапии пациентов с рецидивами и рефрактерными формами острого лимфобластного лейкоза.

Применение блинатумомаба и CD19 CAR-T позволило достичь весьма обнадеживающих результатов при лечении резистентных и рецидивирующих форм В-линейных заболеваний. Так, частота полных ремиссий при терапии В-линейного острого лимфобластного лейкоза (ВП-ОЛЛ) составила 56 % в когорте взрослых больных [1] и 45 % в когорте детей [2] при применении блинатумомаба и до 90 % у пациентов при использовании CD19 CAR-T [3]. Однако, несмотря на хороший инициальный ответ, доля неудач, обусловленных первичной резистентностью или рецидивами заболевания, остается довольно высокой.

Исследования последних лет позволили значительно продвинуться в понимании биологических и молекулярных основ развития рецидивов и рефрактерности, были получены данные по фармакодинамическим особенностям действия блинатумомаба и CD19 CAR-T, все больше работ посвящены вопросам выявления предикторных факторов, определяющих успех терапии. Все это дает надежду на разработку новых подходов к профилактике и терапии рецидивов ВП-ОЛЛ при применении таргетной иммунотерапии.

В настоящем обзоре суммированы современные представления о механизмах, обеспечивающих резистентность В-линейных опухолей к иммунотерапии, направленной на антиген CD19.

Механизм действия блинатумомаба и CD19 CAR-T-лимфоцитов

Блинатумомаб — биспецифичная молекула, обозначаемая в литературе как BiTE (bi-specific T-cell engager), состоящая из 2 одноцепочечных вариабельных фрагментов (scFv) моноклональных антител, специфичных к CD19 (линейно-специфичный маркер В-лимфоцитов) и эписон-цепи CD3 (линейно-специфичный маркер Т-лимфоцитов). Принцип работы антитела заключается в рекрутировании собственных Т-клеток и перенаправлении их эффекторных функций на клетки-мишени, несущие маркер CD19, к числу которых относятся бластные клетки из В-линейных предшественников. Рекрутирование способствует образованию промежуточной цитолитической связи с последующей активацией, пролиферацией Т-клеток и лизисом CD19-экспрессирующих клеток. Примечательно, что анти-CD19-scFv обладает большей аффин-

ностью, чем анти-CD3-часть, что может обуславливать высокую эффективность препарата даже при невысоком уровне CD3-клеток. Одной из особенностей BiTE является короткий период полувыведения, равный примерно 2 ч, что объясняет необходимость его продолжительного введения. Препарат применяется при лечении больных с рефрактерной формой неходжкинской лимфомы, минимальной остаточной болезнью ВП-ОЛЛ, рецидивирующим или рефрактерным ВП-ОЛЛ [4].

Принцип действия CD19 CAR-T — использование аутологических или аллогенных Т-клеток, экспрессирующих химерный рецептор, сочетающий в себе scFv-часть от моноклонального антитела с заданной специфичностью и внутриклеточную сигнальную часть от Т-клеточного рецептора, его CD3ζ-цепи. CAR-T-клетки 1-го поколения, снабженные только одной сигнальной последовательностью, не показали достаточной эффективности, так как их активация не приводила к достаточной пролиферации и полноценному созреванию эффекторных функций. В структуре внутриклеточного домена CAR-T-клеток 2-го поколения помимо домена CD3ζ-цепи используется дополнительный костимуляторный домен, заимствованный от физиологических костимуляторных молекул CD28 или 4-1BB, что приводит к полной активации CAR-T-клеток при взаимодействии с клеткой-мишенью. Это определило значительно большую эффективность CAR-T-клеток 2-го поколения и их внедрение в клиническую практику [5].

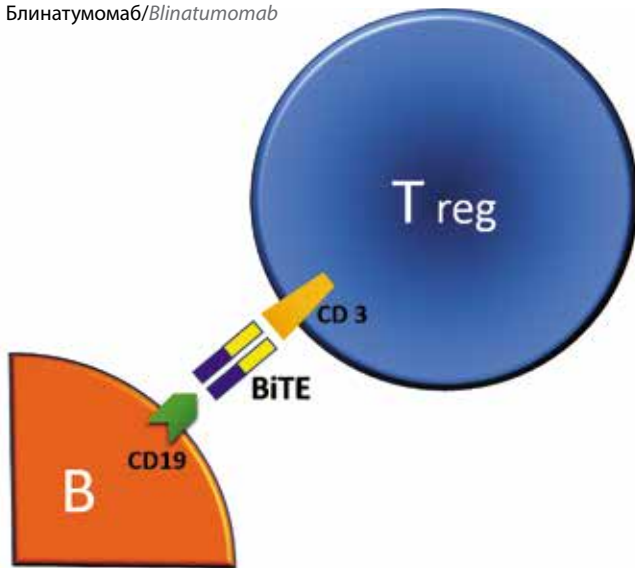
Принцип действия блинатумомаба и CD19 CAR-T проиллюстрирован на рис. 1.

CD19 как мишень для иммунотерапии В-клеточных заболеваний. Проблема CD19-селектирующего действия CD19-направленной иммунотерапии

Идеальная мишень для таргетной терапии с помощью антител — структура, которая стабильно, селективно и на достаточном уровне экспрессируется на поверхности всех опухолевых клеток. Рецептор CD19 частично удовлетворяет указанным требованиям. Его экспрессия на клетках ВП-ОЛЛ носит тотальный характер, что позволяет использовать таргетирование CD19 в режиме монотерапии. Необходимо учитывать, что антиген CD19 лишен опухолевой специфичности, являясь пан-В-клеточным антигеном. Таким образом, его таргетирование приводит к элиминированию всего В-клеточного пула, приводя к временному дефициту антителообразования.

Помимо широкой распространенности и устойчивой экспрессии, для идеальной мишени желательно, чтобы молекула выполняла незаменимые функции в опухолевой клетке. CD19 играет важную роль в функционировании пре-В-клеточного рецептора (pre-BCR) — участвует в pre-BCR-зависимой активации пути фосфоинозитол-3-киназы (PI3K) и активации pre-BCR-независимых путей (активация фактора MYC).

Блинатумомаб/Blinatumomab



CD19 CAR-T-клетка/CD19 CAR-T-cell

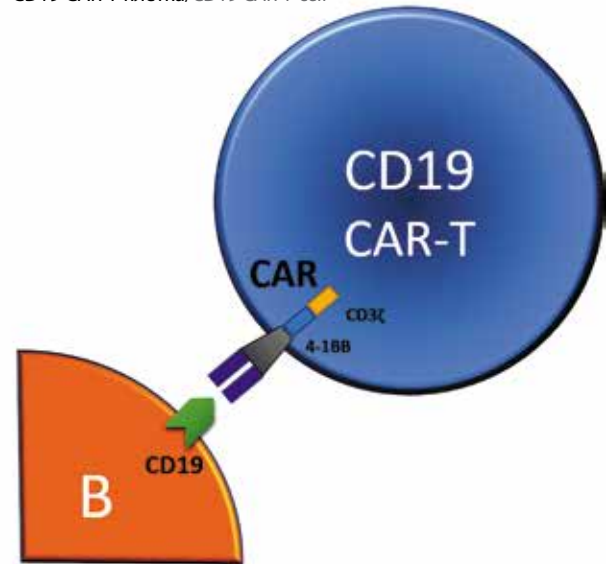


Рис. 1. Принцип CD19-направленной иммунотерапии (комментарии в тексте)
Fig. 1. The principle of CD19-directed immunotherapy (comments in the text)

Однако для опухолевых клеток в экспериментах *in vitro* и *in vivo* было показано [6], что выживаемость и распространение бластных клеток при ВП-ОЛЛ не зависят от экспрессии CD19, а значит роль этого рецептора, по-видимому, ограничена. Таким образом, CD19, вероятно, является не столько «функциональной», сколько «навигационной» мишенью.

CD19-направленная терапия — мощный селективный фактор, приводящий к снижению экспрессии CD19 опухолевыми клетками вплоть до полной потери данного антигена. Появление CD19-негативных опухолевых клонов является не только одной из причин неудач применения CD19-направленной терапии [7], но и существенно осложняет мониторинг минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии в образцах костного мозга [9, 10], что требует использования расширенной панели моноклональных антител [11].

Современные представления о биологических основах неудач CD19-направленной иммунотерапии В-клеточных опухолей

По уровню экспрессии CD19 на поверхности опухолевых клеток при развитии рецидива или рефрактерности все случаи неудач можно разделить на 2 группы: CD19-позитивные и CD19-негативные рецидивы. Принципиальная разница между этими группами заключается в ведущей причине развития неудачи. Механизмом развития CD19-негативных рецидивов является «уход» опухолевых клеток путем потери или снижения экспрессии CD19, причина CD19-позитивных рецидивов — функциональный дефект эффекторных механизмов, т. е. Т-лимфоцитов.

Развитие CD19-позитивных рецидивов. Развитие данных рецидивов/рефрактерности связывают, прежде

всего, с недостаточно эффективной активацией и пролиферацией Т-клеток, являющейся критически важной как для CD19 CAR-T-клеток, так и для блинатумомаба (рис. 2).

Классический пример неудачного применения CD19 CAR-T-клеток — использование CD19 CAR-T 1-го поколения с относительно простым устройством химерного рецептора без дополнительных костимуляторных доменов во внутриклеточной части [5]. Взаимодействие с CD19-экспрессирующими клетками не приводило к достаточной активации CD19 CAR-T, что и явилось основной неудачи.

В крупном исследовании по применению 19-28z CAR-T (CD19 CAR-T-клеток с коактивационным доменом CD28) у 53 взрослых больных с рецидивами/рефрактерными ВП-ОЛЛ было показано [12], что на общую выживаемость пациентов не оказывает существенного влияния ни продолжительность персистенции, ни величина пиковой экспансии (т. е. максимального количества) CD19 CAR-T-лимфоцитов. Прогностической значимостью обладает соотношение пиковой экспансии Т-клеток к исходной массе опухоли в костном мозге по отношению как к общей, так и к безрецидивной выживаемости. Прогностическая значимость данного соотношения сохраняется даже в случае включения в анализ последующей аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Известно, что при применении CD19 CAR-T-лимфоцитов при рецидивирующей или рефрактерной форме хронического лимфоцитарного лейкоза удается достичь устойчивой ремиссии лишь в 26 % случаев. Авторы проанализировали потенциальные прогностические факторы [13]. В исследование был включен 41 пациент с продвинутой стадией хронического лимфоцитарного лейкоза, получивший по крайней мере

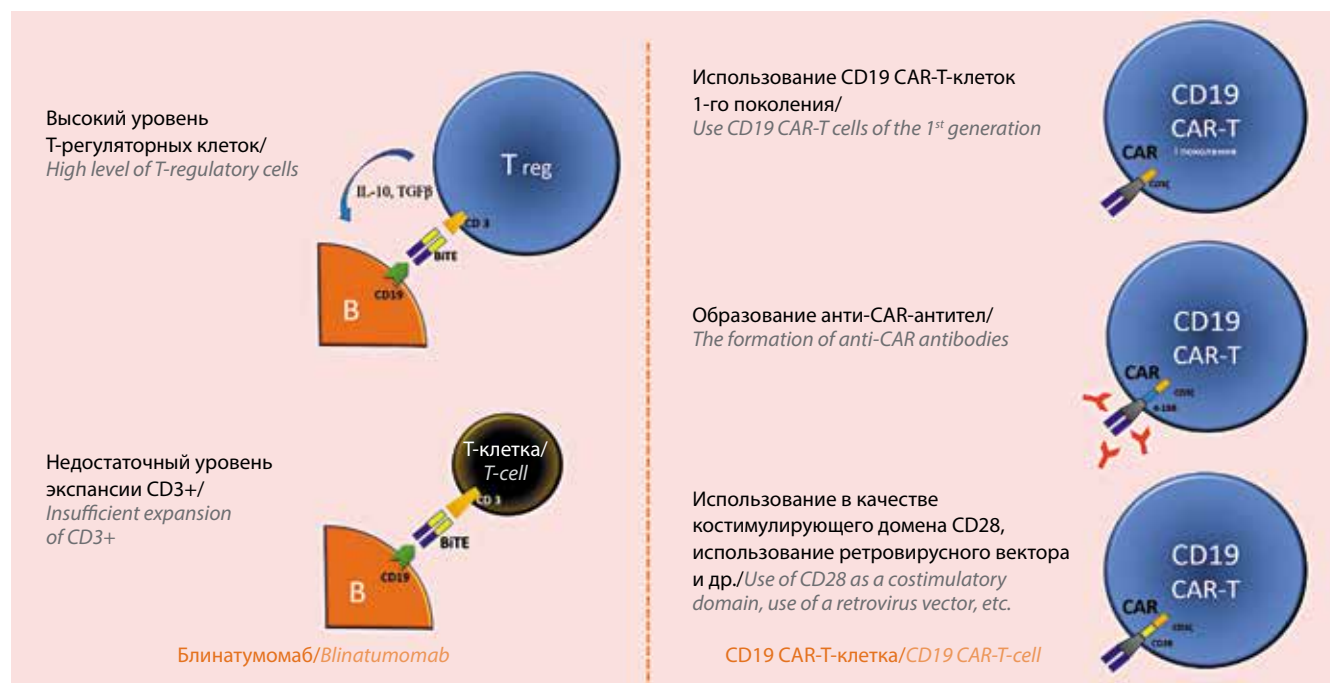


Рис. 2. Механизмы развития CD19-позитивных рецидивов и рефрактерности

Fig. 2. Mechanisms for CD19-positive relapse and refractory development

одно введение CD19 CAR-T-клеток. Хороший клинический эффект не зависел ни от характеристик пациентов, ни от особенностей болезни (возраст пациентов, предшествующая терапия, масса опухолевых клеток в периферической крови и прочие факторы). Ответ на терапию напрямую коррелировал с активностью экспансии Т-клеток после введения. Детальный транскрипционный анализ CAR-T-клеток перед введением показал, что большим потенциалом к экспансии обладают Т-клетки с повышенной экспрессией генов «памяти», что приводит к повышению активности, в частности IL-6/STAT3-сигнального пути, в отличие от клеток, в которых активны пути, связанные с «эффекторной» дифференцировкой, апоптозом и гликолизом. Продолжительная ремиссия была ассоциирована с повышенным уровнем CD27⁺CD45RO⁺CD8⁺-Т-клеток в клеточном материале до генерации CD19 CAR-T. Популяция полученных из этих клеток CAR-T-лимфоцитов обладает повышенной экспрессией рецептора к IL-6, и как следствие, более чувствительна к IL-6; эксперименты по блокаде IL-6/STAT3 приводили к ограничению пролиферации данных клеток, что может снижать уровень экспансии.

Важно отметить, что персистенция CD19 CAR-T-лимфоцитов зависит от типа используемого вектора и внутриклеточного сигнального домена. Так, ретровирусные векторы и CD28-сигнальный домен ассоциированы с меньшей длительностью персистенции CD19 CAR-T-лимфоцитов по сравнению с лентивирусными векторами и сигнальным доменом 4-1BB [14]. Кроме того, у части пациентов персистенция CD19 CAR-T-лимфоцитов может быть ограничена разви-

ем иммунного ответа с формированием антител, специфичных к антигенным детерминантам scFv мыши в составе химерного рецептора.

При применении блинатумомаба процесс экспансии Т-клеток выражается в пролиферации CD4⁺- и CD8⁺-популяций и повышении экспрессии на этих клетках маркеров активации — CD25, CD69, LFA-1. Примечательно, что степень экспансии (в виде увеличения числа CD3⁺-Т-клеток) коррелировала с клиническим ответом и была более выражена в группе пациентов, ответивших на терапию [15]. Более того, существуют данные о том, что уровень CD3⁺- и CD3/CD8-лимфоцитов до начала использования блинатумомаба не имеет самостоятельной прогностической значимости, важна именно их способность к экспансии [16].

В отношении блинатумомаба критичным является то, что помимо рекрутирования классических цитотоксических популяций CD3/CD8-лимфоцитов на CD19-экспрессирующие клетки, блинатумомаб способен привлекать Т-регуляторные лимфоциты (Treg), обладающие иммуносупрессивным действием. Прогностическую значимость показал уровень Treg (CD4/CD25/FOXP3⁺) до начала курса лечения блинатумомабом: в группе больных, ответивших на терапию (22 из 42 пациентов), средний уровень Treg составил 4,82 %; в группе больных, не ответивших на терапию (20 из 42 пациентов), — 10,25 % [16]. Уровень 8,525 % явился «пограничным» и позволял отграничить 100 % ответивших и 70 % не ответивших на терапию пациентов. В работе приведено объяснение эффекта *in vitro*: Treg, несущие CD3, также способны рекрутироваться блинатумомабом,

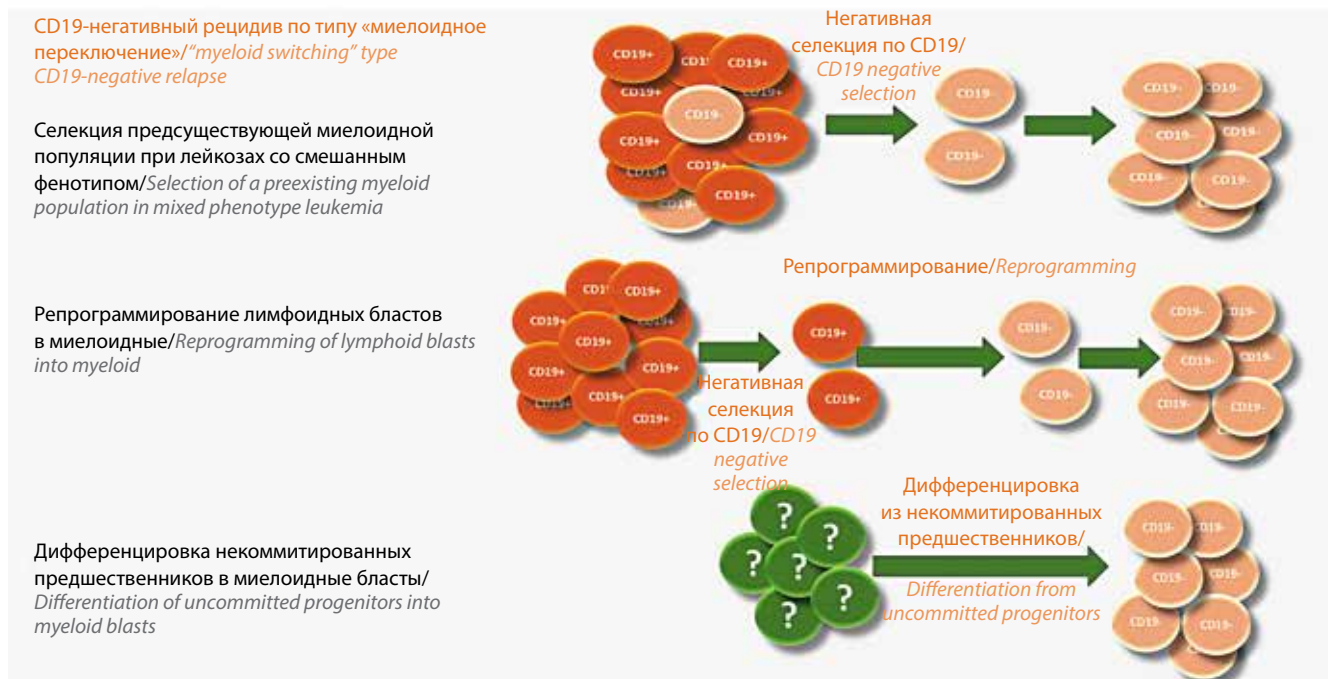
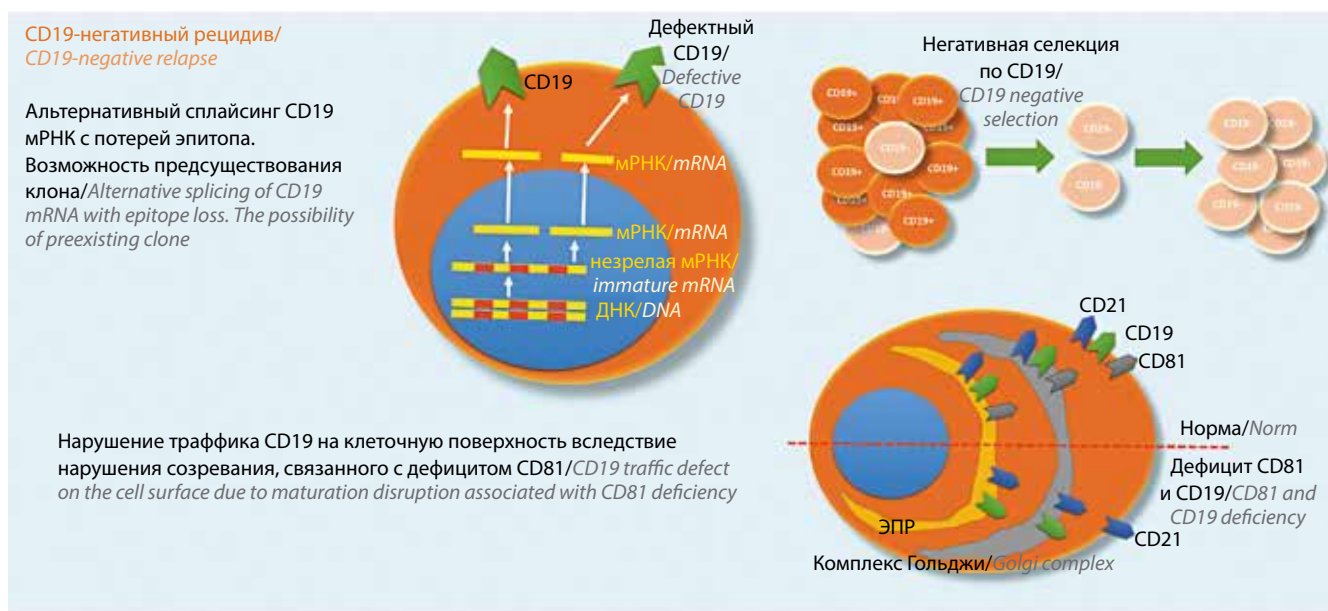


Рис. 3. Механизмы развития CD19-негативных рецидивов. ЭПР — эндоплазматическая сеть
Fig. 3. Mechanisms for CD19-negative relapse development. EPR — endoplasmatic reticulum

и, активируясь, индуцировать иммуносупрессивный ответ за счет локального повышения концентрации IL-10 и TGF- β . Авторы отмечают, что для пациентов с высоким уровнем Treg перед курсом блинатумаба может быть оправдана стратегия *in vivo* деpleции Т-клеток с помощью, например, курсов химиотерапии, включающих циклофосамид и флударабин. Несмотря на деpleцию всех популяций Т-лимфоцитов, гипотетическая польза от снижения уровня Treg превышает вред от уменьшения эффекторных популяций.

Развитие CD19-негативных рецидивов. CD19-негативные рецидивы представляют качественно иной тип

рецидивов — они сопровождаются потерей «навигационного» маркера под действием мощного селективирующего фактора таргетной иммунотерапии. Описано несколько механизмов потери экспрессии CD19: 1) альтернативный сплайсинг CD19 мРНК; 2) дисфункция комплекса CD81; 3) миелоидное переключение (рис. 3).

1. Альтернативный сплайсинг CD19 мРНК. В 2015 г. E. Sotillo и соавт. впервые описали механизм возникновения CD19-негативных опухолевых клеток вследствие образования особых сплайс-вариантов мРНК CD19 с удаленным экзоном 2 [17]. Делеция данного

экзона приводила к синтезу неполноценного CD19 без эпитопа, распознаваемого клоном FMC63, на основе которого создан как блинатумомаб, так и большинство использующихся CD19 CAR-T-лимфоцитов. Кроме механизма возникновения *de novo* существуют данные о возможности существования опухолевых клеток, экспрессирующих такие сплайс-варианты до начала терапии. Так, показана принципиальная возможность существования клеток с дефектным CD19-рецептором как у детей и взрослых с CD19-позитивным ВП-ОЛЛ, так и при исследовании В-клеточных предшественников в костном мозге здоровых лиц [18]. В условиях действия CD19-направленной терапии данные популяции могут явиться источником для развития CD19-негативного рецидива.

2. Нарушение траффика CD19 на клеточную поверхность вследствие нарушения созревания, связанного с дефицитом CD81. В работе F. Braig и соавт. описан случай развития CD19-негативного рецидива после 2-го курса терапии блинатумомабом у пациента с ВП-ОЛЛ и транслокацией t(11;19) [19]. Бластные клетки во время рецидива сохранили В-линейный фенотип, также сохранялась транслокация t(11;19). Опухолевые клетки экспрессировали полноразмерную форму мРНК CD19, что исключало развитие рецидива по механизму образования сплайс-изоформ. Примечательно, что в CD19-негативных бластах была снижена экспрессия CD81 и CD21. Обе эти молекулы участвуют в формировании корцепторного комплекса CD19/CD81/CD21/CD225 на поверхности В-клеток. CD81 участвует в процессе гликозилирования CD19 в эндоплазматическом ретикулуме, что далее способствует траффиду CD19 в составе рецепторного комплекса на поверхность клетки. Авторы провели анализ статуса гликозилирования CD19, который оказался неполноценным, и пришли к выводу о связи дефицита CD81 с дефицитом поверхностного CD19. Неясной осталась причина дефицита CD81. Мутации в гене *CD81* приводят у человека к развитию первичного иммунодефицитного состояния — общей вариабельной иммунной недостаточности. Однако ни мутаций в гене *CD81*, ни признаков данного иммунодефицитного состояния у пациента не выявлено.

3. Рецидивы по механизму миелоидного переключения. В группе CD19-негативных рецидивов отдельного внимания заслуживают рецидивы по типу миелоидного переключения. Основными механизмами этого переключения являются селекция предсуществующей миелоидной популяции, характерной для лейкозов со смешанным фенотипом (в том числе варианты с наличием крайне низкого, недетектируемого количества миелоидных клеток), и механизм возникновения клеток с миелоидным фенотипом *de novo*, как правило, связанный с лейкозами, ассоциированными с перестройками гена *KMT2A*. Примечательно, что при возникновении миелоидной популяции *de novo* для части пациентов миелоидные бласты сохраняют специфическую рекомбинацию в локусе гена тяжелой

цепи IgG (*IGH*), что может свидетельствовать в пользу механизма репрограммирования лимфоидных бластов в миелоидные [20, 21]; для других пациентов специфическая рекомбинация в *IGH* не сохраняется, что может свидетельствовать о миелоидной дифференцировке из некоммутированных предшественников. Возможность возникновения миелоидных популяций из стволовых клеток и некоммутированных предшественников после проведенного курса терапии блинатумомабом убедительно показана на когорте больных с BCR-ABL1-позитивным ВП-ОЛЛ [22].

Стратегии предотвращения и лечения рецидивов

Понимание биологических и молекулярных основ развития рецидивов и рефрактерности — необходимая основа для разработки стратегий по их предотвращению и лечению. Следуя классификации механизмов неудач, данные стратегии можно условно разделить на 2 группы: направленные на профилактику и лечение случаев «ухода» от таргетной терапии и направленные на «усиление» Т-клеточного звена.

Стратегии предотвращения потери эффективности Т-клеточного звена

Сокращение инициального blastоза в костном мозге.

По данным некоторых клинических исследований по оценке эффективности как блинатумомаба [23], так и CD19 CAR-T-клеток [12], показано снижение частоты достижения полной ремиссии в случае высокого blastоза в костном мозге — 50 % и более. Таким образом, снижение инициально высокого уровня бластных клеток может быть потенциальной стратегией, повышающей эффективность терапии. В случае использования блинатумомаба при редукции blastоза могут быть оправданы схемы химиотерапии, включающие Т-лимфоплетитирующие агенты, такие как циклофосфамид и флударабин, в том числе снижающие высокий уровень иммуносупрессивных Treg — важного отрицательного прогностического фактора [13].

Повторное применение. Распространенной схемой применения блинатумомаба является 6-недельный цикл (42 дня): 4-недельный курс (28 дней) продленного введения препарата, после которого следует контрольное обследование с исследованием аспирата костного мозга для оценки статуса ремиссии, 2-недельный перерыв (14 дней) и 4-недельный повторный курс (28 дней) продленного введения препарата с последующей повторной оценкой статуса ремиссии.

Существует ряд наблюдений по эффективности повторного применения блинатумомаба в случае возникновения CD19-позитивного рецидива после предшествующего успешного достижения ремиссии при первичном применении блинатумомаба. В исследовании [24] сообщается о достижении полной ремиссии у 4 (36 %) из 11 пациентов после 1-го курса введения, что соотносится с частотой достижения ремиссии в исследованиях при первичном применении блинатумомаба (44 %) [23].

Возможность применения CD19 CAR-T-лимфоцитов после неудачного курса лечения блинатумомабом. Ранее были опубликованы данные об успешном применении CD19 CAR-T-клеток после неудачного использования блинатумомаба. В исследовании [12] 9 (69 %) из 13 пациентов с рецидивом ВП-ОЛЛ, рефрактерных к лечению или имеющих прогрессирование во время курса терапии блинатумомабом, достигли полной ремиссии после применения CD19 CAR-T. В качестве мишени для блинатумомаба и CD19 CAR-T выступает один и тот же рецептор — CD19, оба подхода используют один и тот же фундаментальный принцип — цитотоксичность опухолевых клеток аутологичными Т-клетками. Очевидно, что применение клеточной терапии после неудачного использования блинатумомаба при сохранении экспрессии опухолевыми клетками CD19 может быть оправдано. Прямых исследований по сравнению эффективности блинатумомаба против CD19 CAR-T нет, однако существуют некоторые косвенные данные в пользу большей эффективности клеточной терапии. Авторы вышеупомянутой статьи [12], признавая неполную корректность сравнения (в виду различного дизайна исследований, разницы выборки, получаемого лечения), производят попытку сравнительного анализа собственных данных по долговременной эффективности клеточной терапии в когорте взрослых больных с рецидивирующей формой ВП-ОЛЛ ($n = 53$) с эффективностью блинатумомаба в аналогичной когорте больных ($n = 271$) в опубликованном ранее крупном исследовании [23]. Сравнивая обе когорты больных, авторы отмечают следующие различия: среди больных, получивших клеточную терапию, выше процент предлеченных больных — 68 % пациентов получали CAR-T-лимфоциты в качестве 3-й и последующей линии терапии против 24 % пациентов, получивших блинатумомаб. Более того, из когорты пациентов, получивших блинатумомаб, были исключены Ph-позитивные случаи и случаи рецидивов с бластом в костном мозге менее 5 %.

В когорте пациентов, получивших клеточную терапию, была выше доля больных, достигших полной ремиссии при изначально высоком бластозе в костном мозге (50 % и более), — 69 % против 34 % пациентов, получивших блинатумомаб; также для таких больных отмечена большая медиана выживаемости — 12,9 мес против 7,7 мес. Вероятной причиной этого является более устойчивая и продолжительная персистенция CD19 CAR-T-клеток.

Инфузии донорских или аутологичных лимфоцитов при применении блинатумомаба. Несмотря на отсутствие [16] убедительных данных о корреляции абсолютного уровня лимфоцитов (в частности CD3⁺-клеток) перед началом курса терапии блинатумомабом и успешности терапии, теоретически оправданной может быть инфузия аутологичных лимфоцитов, особенно при глубокой аплазии кроветворения.

У пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток потенциально эффек-

тивными могут также быть инфузии донорских лимфоцитов [26], преследующие цель не только возмещения пула CD3⁺-клеток (при условии лимфопении), но и формирования более общего феномена «трансплантат против лейкоза».

Так или иначе оба подхода требуют дальнейших исследований для изучения эффективности.

Стратегии предотвращения и лечения рецидивов путем «ухода» от таргетной терапии

1. Одновременное и последовательное таргетирование дополнительных мишеней. Альтернативно, потенциальными мишенями при лечении В-линейных злокачественных заболеваний могут выступать CD22, CD20 и прочие маркеры, в разной степени экспрессирующиеся на поверхности бластных клеток.

Подходы, сфокусированные на одновременное таргетирование нескольких мишеней (мультитаргетирование), направлены главным образом на предотвращение рецидивов. Последовательное же таргетирование чаще используется при лечении рецидивов с потерей или снижением экспрессии CD19 на поверхности клеток.

Мультитаргетирование теоретически возможно при применении блинатумомаба или CD19 CAR-T вместе с моноклональными антителами (например, ритуксимабом (анти-CD20-антитело) или инотузумабом озогамидином (анти-CD22-антитело, конъюгированное с озогамидином)).

Одновременное таргетирование с помощью CAR-T-клеток может осуществляться с помощью либо пулирования CAR-T-клеток, направленных на разные мишени, либо использования технологии биспецифичных (несущих 2 вида химерных рецепторов к 2 видам мишеней) или тандемных (несущих 1 химерный рецептор, направленный одновременно на 2 вида мишеней) CAR-T.

Показано, что таргетирование одновременно CD19 и CD123 может эффективно предотвращать рецидивы вследствие потери антигена на клинически-релевантной преคลินิกеской модели CD19-негативного рецидива ВП-ОЛЛ [25]. Авторы использовали бластные клетки от пациента с CD19-негативным рецидивом ВП-ОЛЛ с фенотипом CD19⁺/CD123⁺, полученные до начала лечения CD19 CAR-T, и с фенотипом CD19⁻/CD123⁺, полученные во время развития рецидива. Популяции вводили иммунодефицитным мышам в соотношении 1:1. В исследовании продемонстрировано, что одновременное таргетирование CD19 и CD123 пулированными популяциями CD123 CAR-T- и CD19 CAR-T-лимфоцитами эффективно уничтожает все бластные клетки, вне зависимости от экспрессии CD19. Следует отметить, что таргетирование CD123 потенциально применимо для предотвращения развития рецидивов по механизму миелоидного переключения.

Другими комбинациями антигенов для профилактики CD19-негативных рецидивов являются CD19/

CD22 [27] и CD19/CD20 [28]. Существуют подходы с использованием триспецифичных антител, распознающих 2 опухолевых эпитопа и 1 «иммунологический»; в настоящее время такие антитела активно исследуются для лечения солидных опухолей. Что касается исследований в онкогематологии, показано, что триспецифические антитела (CD123/CD33/CD16) способны рекрутировать и перенаправлять NK-клетки (с помощью CD16) на бластные клетки при остром миелоидном лейкозе [29]. Биспецифическое антитело CD22/CD19, конъюгированное с токсическим препаратом, проходит клинические испытания для лечения рефрактерных В-клеточных заболеваний [30].

В качестве мишени для борьбы с CD19-негативными рецидивами (стратегия последовательного таргетирования) чаще всего используются анти-CD22-препараты при условии достаточной экспрессии данного маркера на опухолевых клетках — конъюгат моноклонального антитела с цитотоксическим препаратом инотузумабом озогамидином [31] и CD22 CAR-T-лимфоциты [32] — для обоих методов лечения показана возможность достижения полной ремиссии при лечении CD19-негативных рецидивов.

В ходе преклинических исследований на ксенографтной модели была показана эффективность анти-CD123 CAR-T, способных уничтожать CD19-негативные бластные клетки [25].

2. Комбинированная иммунная терапия. Активность как блинатумаба, так и CAR-T-клеток, может быть ограничена иммуносупрессивным микроокружением, которое представлено не только клеточными популяциями (Treg, MDSC и др.), но и экспрессией опухолевыми клетками лигандов для особых рецепторов на поверхности Т-клеток — белков «иммунных контрольных точек». На поверхности Т-клеток в разной степени представлены рецепторы PD-1, CTLA-4, TIM-3. Взаимодействие PD-1 с лигандами PD-L1 и PD-L2 приводит к ингибированию Т-клеточных функций и состоянию анергии. Повышение экспрессии PD-L1 и PD-L2 опухолевыми клетками является одним из важных механизмов «ухода» из-под иммунного надзора.

Показано, что опухолевые клетки при развитии CD19-негативного рецидива после применения блинатумаба способны повышать экспрессию PD-L1 [33]. В преклинических моделях при адаптивной Т-клеточной терапии отмечается повышенная экспрессия на CAR-T-клетках рецепторов PD-1 и TIM-3; комбинированная терапия с блокадой PD-1 доказано повышает эффективность CAR-T-клеток против Her2⁺-опухолей [36].

Описан случай успешного применения такого подхода [38]. У пациента с PD-L1⁺ диффузной В-крупноклеточной лимфомой после введения CAR-T-клеток отмечалось прогрессирование заболевания, и на 26-й день был введен пембролизумаб (ингибитор PD-1). Введение препарата повысило число циркулирующих

CAR-T-клеток и привело к уменьшению размеров опухоли [38].

Использование комбинации анти-CD19-направленной иммунотерапии и анти-PD-1/CTLA-4-терапии, безусловно, является заманчивым и биологически оправданным направлением. Однако помимо ожидаемого эффекта потенцирования терапевтического действия необходимо помнить о возможности обострения побочных эффектов.

3. Комбинация с другими таргетными препаратами.

Существуют ограниченные данные об успешном и безопасном применении комбинации ингибиторов тирозинкиназ и блинатумаба при лечении Ph-позитивных лейкозов, Ph-подобных лейкозов (при делеции в гене *IKZF1*) и лейкозов с мутацией FLT3-ITD [34, 35].

4. Создание усовершенствованных CAR-T-клеток (armored CAR-T-лимфоцитов).

Многочисленные разработки ведутся в направлении создания так называемых armored CAR-T-клеток — усовершенствованных клеток, способных секретировать или экспрессировать на своей поверхности различные молекулы, стимулирующие функции CAR-T-клеток и/или модулирующие опухолевое микроокружение. Усовершенствованные CAR-T-клетки обладают большей активностью и, зачастую, специфичностью и могут снижать вероятность возникновения рецидивов путем потери антигена [37]. Приведем несколько примеров.

IL-12 является провоспалительным цитокином, который вырабатывается дендритными клетками, макрофагами и нейтрофилами; он повышает цитотоксическую активность CD8⁺-Т- и NK-клеток и стимулирует Th1-клеточный ответ. Ввиду мощного потенцирующего противоопухолевого действия производились попытки системного применения рекомбинантного IL-12, например, при множественной миеломе; введение сопровождалось развитием серьезных побочных эффектов [36]. В целях индукции локальной секреции IL-12 авторы создали CAR-T-лимфоцит с использованием бицистронного вектора, кодирующего химерный рецептор анти-CD19 и химерный ген, кодирующий α - и β -субъединицы мышиного IL-12 [37]. Полученные клетки были успешно протестированы на мышиной модели EL4 тимомы, экспрессирующей человеческий CD19. В работе показано, что локальная повышенная продукция IL-12 аутокринно стимулирует цитотоксические свойства и секреторную активность (в частности, продукцию IFN γ) CAR-T-клеток. Более того, IL-12 способен элиминировать иммуносупрессивную активность Treg, что позволит, по мнению авторов, обходиться без предшествующего введению CAR-T-клеток кондиционирования [37].

Другим интересным примером может служить создание CAR-T-клеток, экспрессирующих химерные цитокиновые рецепторы. Примечательно, что путем комбинирования внутри- и внеклеточного домена можно добиться трансформации сигнала, например, от «противовоспалительного» цитокина в «провоспалительный»

сигнал. Конструирование химерного рецептора с внеклеточной частью в виде α -субъединицы рецептора «противовоспалительного» цитокина IL-4 (IL4Ra) с внутриклеточной β -субъединицей рецептора «провоспалительного» цитокина IL-2 позволило успешно активировать Т-клетки при последующем системном введении IL-4 [8].

Отдельного внимания заслуживают стратегии по разработке CAR-T-клеток с функцией блокады белков «контрольных точек». В исследовании авторы разработали CD19 CAR-T-лимфоциты, в которых с помощью системы CRISPR/Cas9 нарушена экспрессия PD-1 [37]. Помимо этого, у данных CAR-T-клеток нарушен синтез TCR и β 2-микроглобулина (необходимого для экспрессии HLA I класса), что теоретически делает данные клетки «универсальными» — пригодными для аллогенного использования.

Любопытны эксперименты по конструированию химерных рецепторов с переключением иммуносу-

прессивных эффектов на провоспалительные. Например, был сконструирован CAR-T-лимфоцит, экспрессирующий рецептор с внеклеточным доменом PD-1 и внутриклеточным — от CD28, и успешно протестирован на животных моделях [37].

Заключение

Таким образом, клиническое применение эффективного иммунологического таргетирования линейного тканеспецифического маркера В-лимфоцитов при В-линейных опухолях привело к новому пониманию многообразия механизмов ускользания опухоли из-под иммунного надзора. Дальнейшая расшифровка этих механизмов безусловно приведет к созданию усовершенствованных лекарств, клеточных препаратов и комбинированных режимов терапии, которые сделают полное излечение при рефрактерных В-линейных опухолях реальностью.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Kantarjian H.M., Stein A.S., Bargaou R.C. et al. Blinatumomab treatment of older adults with relapsed/refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia: results from 2 phase 2 studies. *Cancer* 2016;122(14):2178–85. DOI: 10.1002/cncr.30031. PMID: 27143254.
- Von Stackelberg A., Locatelli F., Zugmaier G. et al. Phase I/phase II study of blinatumomab in pediatric patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2016;34(36):4381–9. DOI: 10.1200/JCO.2016.67.3301. PMID: 27998223.
- Wang M. CAR T-cell therapy effective in B acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol* 2017;18(6):e314. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30364-9. PMID: 28528746.
- Zugmaier G., Klinger M., Schmidt M., Subklewe M. Clinical overview of anti-CD19 BiTE® and *ex vivo* data from anti-CD33 BiTE® as examples for retargeting T-cells in hematologic malignancies. *Mol Immunol* 2015;67(2 Pt A):58–66. DOI: 10.1016/j.molimm.2015.02.033. PMID: 25883042.
- Ruella M., Maus M.V. Catch me if you can: leukemia escape after CD19-directed T-cell immunotherapies. *Comput Struct Biotechnol J* 2016;14:357–62. DOI: 10.1016/j.csbj.2016.09.003. PMID: 27761200.
- Weiland J., Pal D., Case M. et al. BCP-ALL blasts are not dependent on CD19 expression for leukaemic maintenance. *Leukemia* 2016;30(9):1920–3. DOI: 10.1038/leu.2016.64. PMID: 27055873.
- Mejstriková E., Hrusak O., Borowitz M.J. et al. CD19-negative relapse of pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia following blinatumomab treatment. *Blood Cancer J* 2017;7(12):659. DOI: 10.1038/s41408-017-0023-x. PMID: 29259173.
- Wilkie S., Burbridge S.E., Chiapero-Stanke L. et al. Selective expansion of chimeric antigen receptor-targeted T-cells with potent effector function using interleukin-4. *J Biol Chem* 2010;285(33):25538–44. DOI: 10.1074/jbc.M110.127951. PMID: 20562098.
- Глуханюк Е.В., Илларионова О.И., Кашпор С.А. и др. Изменение экспрессии CD19 опухолевыми клетками при применении блинатумомаба у детей с рецидивами и рефрактерным течением В-линейного острого лимфобластного лейкоза. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2017;16(4):21–6. [Glukhanyuk E.V., Illarionova O.I., Kashpor S.A. et al. Changes in CD19 expression after blinatumomab treatment in pediatric patients with relapsed/refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii* = Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2017;16(4):21–6. (In Russ.)]. DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-21-26.
- Illarionova O., Glukhanyuk E., Kashpor S., et al. Changes in leukemic blasts CD19 expression in children with relapsed/refractory B-cell precursor ALL treated with blinatumomab. *Blood* 2017;130(Suppl. 1):3991.
- Cherian S., Miller V., McCullough V. et al. A novel flow cytometric assay for detection of residual disease in patients with B-lymphoblastic leukemia/lymphoma post anti-CD19 therapy. *Cytometry B Clin Cytom* 2016;94(1):112–20. DOI: 10.1002/cyto.b.21482. PMID: 27598971.
- Wang X., Sénéchal B., Curran K.J. et al. Long-term follow-up of CD19 CAR therapy in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2018;378(5):449–59. DOI: 10.1056/NEJMoa1709919. PMID: 29385376.
- Fraietta J.A., Lacey S.F., Orlando E.J. et al. Determinants of response and resistance to CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Nat Med* 2018;24(5):563–71. DOI: 10.1038/s41591-018-0010-1. PMID: 29713085.
- Zhang L., Song Y., Liu D. CD19 CAR-T-cell therapy for relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia: factors affecting toxicities and long-term efficacies. *J Hematol Oncol* 2018;11(1):41–5. DOI: 10.1186/s13045-018-0593-5. PMID: 29544528.
- Nägele V., Kratzer A., Zugmaier G. et al. Changes in clinical laboratory parameters and pharmacodynamic markers in response to blinatumomab treatment of patients with relapsed/refractory ALL. *Exp Hematol Oncol* 2017;6(1):14. DOI: 10.1186/s40164-017-0074-5. PMID: 28533941.
- Duell J., Dittrich M., Bedke T. et al. Frequency of regulatory T-cells determines the outcome of the T-cell-engaging antibody blinatumomab in patients with B-precursor ALL. *Leukemia* 2017;31(10):2181–90. DOI: 10.1038/leu.2017.41. PMID: 28119525.

17. Sotillo E., Barrett D.M., Black K.L. et al. Convergence of acquired mutations and alternative splicing of CD19 enables resistance to CART-19 immunotherapy. *Cancer Discov* 2015;5(12):1282–95. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-1020. PMID: 26516065.
18. Fischer J., Paret C., Malki E. et al. CD19 isoforms enabling resistance to CART-19 immunotherapy are expressed in B-ALL patients at initial diagnosis. *J Immunother* 2017;40(5):187–95. DOI: 10.1097/CJI.000000000000169. PMID: 28441264.
19. Braig F., Brandt A., Goebeler M. et al. Resistance to anti-CD19/CD3 BiTE in acute lymphoblastic leukemia may be mediated by disrupted CD19 membrane trafficking. *Blood* 2017;129(1):100–4. DOI: 10.1182/blood-2016-05-718395. PMID: 27784674.
20. Rayes A., McMasters R.L., O'Brien M.M. Lineage switch in MLL-rearranged infant leukemia following CD19-directed therapy. *Pediatr Blood Cancer* 2016;63(6):1113–5. DOI: 10.1002/pbc.25953. PMID: 26914337.
21. Gardner R., Wu D., Cherian S. et al. Acquisition of a CD19-negative myeloid phenotype allows immune escape of MLL-rearranged B-ALL from CD19 CAR-T-cell therapy. *Blood* 2016;127(20):2406–10. DOI: 10.1182/blood-2015-08-665547. PMID: 26907630.
22. Nagel I., Bartels M., Duell J. et al. Hematopoietic stem cell involvement in BCR-ABL1 – positive ALL as a potential mechanism of resistance to blinatumomab therapy. *Blood* 2017;130(18):2027–32. DOI: 10.1182/blood-2017-05-782888. PMID: 28827408.
23. Fielding A.K., Ph D., Schuh A.C., Dombret H. et al. Blinatumomab versus chemotherapy for advanced acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2017;376(9):836–47. DOI: 10.1056/NEJMoa1609783. PMID: 28249141.
24. Topp M.S., Stelljes M., Zugmaier G. et al. Blinatumomab retreatment after relapse in patients with relapsed/refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2018;32(2):562–5. DOI: 10.1038/leu.2017.306. PMID: 28990581.
25. Ruella M., Barrett D.M., Kenderian S.S. et al. Dual CD19 and CD123 targeting prevents antigen-loss relapses after CD19-directed immunotherapies. *J Clin Invest* 2016;126(10):3814–26. DOI: 10.1172/JCI87366. MID: 27571406.
26. Ueda M., de Lima M., Caimi P. et al. Concurrent blinatumomab and donor lymphocyte infusions for treatment of relapsed pre-B-cell ALL after allogeneic hematopoietic cell transplant. *Bone Marrow Transplant* 2016;51(9):1253–5. DOI: 10.1038/bmt.2016.104. PMID: 27088374.
27. Qin H., Haso W., Nguyen S.M., Fry T.J. Preclinical development of bispecific chimeric antigen receptor targeting both CD19 and CD22. *Blood* 2015;126(23):4427.
28. Zah E., Lin M.Y., Silva-Benedict A. et al. T-cells expressing CD19/CD20 bispecific chimeric antigen receptors prevent antigen escape by malignant B-cells. *Cancer Immunol Res* 2016;4(6):498–508. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0231. PMID: 27059623.
29. Spiess C., Zhai Q., Carter P.J. Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies. *Mol Immunol* 2015;67(2 Pt A):95–106. DOI: 10.1016/j.molimm.2015.01.003. PMID: 25637431.
30. Bachanova V., Frankel A.E., Cao Q. et al. Phase I study of a bispecific ligand-directed toxin targeting CD22 and CD19 (DT2219) for refractory B-cell malignancies. *Clin Cancer Res* 2015;21(6):1267–72. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2877. PMID: 25770294.
31. Kantarjian H.M., DeAngelo D.J., Stelljes M. et al. Inotuzumab ozogamicin versus standard therapy for acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2016;375(8):740–53. DOI: 10.1056/NEJMoa1509277. PMID: 27292104.
32. Fry T.J., Stetler-Stevenson M., Shah N.N. et al. Clinical activity and persistence of anti-CD22 chimeric antigen receptor in children and young adults with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2015;126(23):1324.
33. Köhnke T., Krupka C., Tischer J. et al. Increase of PD-L1 expressing B-precursor ALL cells in a patient resistant to the CD19/CD3-bispecific T-cell engager antibody blinatumomab. *J Hematol Oncol* 2015;8:111. DOI: 10.1186/s13045-015-0213-6. PMID: 26449653.
34. Assi R., Kantarjian H., Short N.J. et al. Safety and efficacy of blinatumomab in combination with a tyrosine kinase inhibitor for the treatment of relapsed philadelphia chromosome-positive leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017;17(12):897–901. DOI: 10.1016/j.clml.2017.08.101. PMID: 28927784.
35. Sokolov A.N., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V. et al. Blinatumomab + tyrosine kinase inhibitors with no chemotherapy in BCR-ABL-positive or IKZF1-deleted or FLT3-ITD-positive relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia patients high molecular remission rate and toxicity profile. *Blood* 2017;130(Suppl 1):3884.
36. Lacy M.Q., Jacobus S., Blood E.A. et al. Phase II study of interleukin-12 for treatment of plateau phase multiple myeloma (E1A96): a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Leuk Res* 2009;33(11):1485–9. DOI: 10.1016/j.leukres.2009.01.020. PMID: 19243818.
37. Jaspers J.E., Brentjens R.J. Development of CAR T-cells designed to improve antitumor efficacy and safety. *Pharmacol Ther* 2017;178:83–91. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.03.012. PMID: 28342824.
38. Chong E.A., Melenhorst J.J., Lacey S.F. et al. PD-1 blockade modulates chimeric antigen receptor (CAR) – modified T-cells: refueling the CAR. *Blood* 2017;129(8):1039–42. DOI: 10.1182/blood-2016-09-738245. PMID: 28031179.

Вклад авторов

Е.В. Глуханюк: драфт манускрипта;

А.В. Степанов, А.М. Попов, М.А. Масчан: написание финальной версии статьи.

Authors' contributions

E.V. Glukhanyuk: manuscript draft;

A.V. Stepanov, A.M. Popov, M.A. Maschan: writing the final version of the article.

ORCID авторов/ORCID of authors

Е.В. Глуханюк/E.V. Glukhanyuk: <https://orcid.org/0000-0003-2921-9770>

А.В. Степанов/A.V. Stepanov: <https://orcid.org/0000-0003-1616-4408>

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

М.А. Масчан/M.A. Maschan: <https://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 17-74-30019).

Financing. The work was performed with the support of Russian Science Foundation (Grant No. 17-74-30019).

Статья поступила: 25.10.2018. **Принята к публикации:** 28.11.2018.

Article received: 25.10.2018. **Accepted for publication:** 28.11.2018.

Свертывание крови и антикоагулянтная терапия при венозных тромбозах, осложнивших лечение детей, подростков и молодых взрослых с лимфомами

В.В. Дмитриев, А.С. Федорова, Н.В. Липай, И.В. Бегун, И.А. Дунаев, Е.В. Дмитриев

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»;

Республика Беларусь, 223053 Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43

Контакты: Вячеслав Васильевич Дмитриев dmitrievhaematol@mail.ru

Цель исследования — провести сравнительный анализ параметров свертывания крови у пациентов с венозным тромбозом (ВТ) и без него, оценить продолжительность и исход антикоагулянтной терапии при ВТ, осложнивших программное лечение детей, подростков и молодых взрослых с лимфомами.

Материалы и методы. В анализ включены данные 28 пациентов (с лимфомой Ходжкина — 5, с неходжкинской лимфомой — 23) в возрасте от 2 до 25 лет (медиана 16 лет), программное лечение которых с 2005 по 2017 г. было осложнено ВТ. Сравнение параметров свертывания крови проводили исследованием случай—контроль. Контрольную группу составили 22 пациента в возрасте от 2 до 20 лет (медиана 15,5 года) с аналогичным диагнозом, полом, протоколом и этапом лечения, не имевших тромботических осложнений. Группу сравнения составили 35 здоровых детей в возрасте от 3 до 18 лет (медиана 14 лет).

Результаты. Значения большинства показателей свертывания крови на момент выявления ВТ не отличались от таковых у пациентов контрольной группы. Повышенное содержание D-димеров отличало пациентов с лимфомой, независимо от наличия или отсутствия тромбоза, от здоровых детей такого же возраста ($p < 0,05$). Антикоагулянтную терапию с преимущественным использованием дальтепарина натрия продолжительностью до 3 мес получали 10 пациентов, в течение 4–6 мес — 4, 7–12 мес — 12, до 18 мес — 2. Без учета времени 1 взрослый с гомозиготной мутацией 20210G>A гена фактора II после рецидива ВТ продолжает прием варфарина. Полная реканализация тромбированного сосуда наступила в течение первых 3 мес у 9 пациентов, за 4–6 мес — у 1, за 7–12 мес — у 4, частичная реканализация в течение 3–12 мес — у 8 пациентов. Облитерация вены, преимущественно внутренней яремной, как исход тромбоза наступила у 6 пациентов в течение 4–12 мес.

Заключение. Определение рутинных показателей свертывания крови не позволяет выявить пациентов с тромбозом среди детей, подростков и молодых взрослых с лимфомой. У пациентов с лимфомой содержание D-димеров было значимо выше, чем у здоровых детей. Антикоагулянтная терапия привела к полной или частичной реканализации ВТ в течение 3–12 мес у 79 % пациентов. Регистрация показателей свертывания крови при развитии тромбоза, а также выявление и учет в динамике транзиторных и постоянно действующих факторов риска необходимы для уточнения причины ВТ и определения тактики антикоагулянтной терапии.

Ключевые слова: венозный тромбоз, свертывание крови, лимфома Ходжкина, неходжкинская лимфома, антикоагулянтная терапия

Для цитирования: Дмитриев В.В., Федорова А.С., Липай Н.В. и др. Свертывание крови и антикоагулянтная терапия при венозных тромбозах, осложнивших лечение детей, подростков и молодых взрослых с лимфомами. Онкогематология 2018;13(4):37–45.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-37-45

Blood coagulation in venous thrombosis, complicating treatment of children, adolescents and young adults with lymphomas

V.V. Dmitriev, A.S. Fedorova, N.V. Lipay, I.V. Begun, I.A. Dunaev, E.V. Dmitriev

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology; 43 Frunzenskaya St., Borovlyani, Minsk region 223053, Republic of Belarus

Objective of the study was to compare blood clotting parameters in lymphoma patients with or without venous thrombosis (VT), as well as to analyze the duration and outcome of anticoagulant therapy in children, adolescents and young adults with lymphoma, whose program treatment was complicated by VT.

Materials and methods. The analysis included 28 patients with lymphoma (Hodgkin lymphoma — 5, non-Hodgkin lymphoma — 23), aged from 2 to 25 years (median — 16.0 years), whose program treatment in 2005–2017 was complicated by VT. The case-control study was carried out to compare the parameters of blood coagulation. The control group consisted of 22 patients, aged from 2 to 20 years (median — 15.5 years) with the same diagnosis, age, therapy protocol and phase of treatment who had no thrombotic complications. The comparison group consisted of 35 healthy children aged from 3 to 18 years (median — 14.0 years).

Results. There was no difference in majority of blood clotting parameters in lymphoma patients with or without VT. Hyperfibrinogenemia and an increased D-dimers level distinguished patients with lymphoma, regardless of the presence or absence of thrombosis, from healthy children

of the same age ($p < 0.05$). Anticoagulant therapy up to 3 months received 10 patients, for 4–6 months – 4, for 7–12 months – 12, up to 18 months – 2. One adult patient with a homozygous mutation 20210G>A gene of the factor II takes warfarin continuously for a long time after relapse of VT. Complete recanalization of the thrombosed vessel occurred within the first 3 months in 9 patients, within 4–6 months – in 1, within 7–12 months – in 4. Partial recanalization within 3–12 months was confirmed in 8 patients. Vein obliteration, mainly the internal jugular vein, as the outcome of VT occurred in 6 patients within 4–12 months.

Conclusion. Detection of routine blood clotting parameters does not allow identifying patients with thrombosis among children, adolescents and young adults with lymphoma. Fibrinogen and D-dimers levels were significantly higher in lymphoma patients, than in healthy children. Anticoagulant therapy for 3–12 months led to the complete or partial recanalization of VT in 79 % of patients. To detect blood clotting parameters by thrombosis development, as well as to reveal and monitor transient and permanent risk factors are necessary to specify the cause of VT and to determine the appropriate anticoagulant therapy.

Key words: venous thrombosis, blood clotting, Hodgkin lymphoma, non-Hodgkin lymphoma, anticoagulant therapy

For citation: Dmitriev V.V., Fedorova A.S., Lipay N.V. et al. Blood coagulation in venous thrombosis, complicating treatment of children, adolescents and young adults with lymphomas. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2018;13(4):37–45.

Введение

Тромбоз — одно из наиболее частых осложнений рака и 2-я ведущая причина смерти среди пациентов со злокачественными новообразованиями, в том числе и у детей [1–3]. По данным популяционного когортного исследования, использовавшего национальные базы данных Великобритании, частота венозной тромбоэмболии на 1000 человеко-лет у здоровых детей составила 0,06 (95 % доверительный интервал (ДИ) 0,02–0,15), что в 25 раз ниже, чем у детей с онкологическими заболеваниями в целом (1,5; 95 % ДИ 0,6–4,1), и в 15 раз ниже, чем у детей с лейкозами и лимфомами (0,9; 95 % ДИ 0,6–6,1) [4]. В многочисленных публикациях детально освещены вопросы патогенеза тромбозов, роли злокачественного новообразования и сопутствующих факторов риска в возникновении венозной тромбоэмболии, а также рекомендации по профилактике и противотромботической терапии у взрослых [5–7].

Рекомендации по использованию антикоагулянтов у детей в значительной степени экстраполированы из результатов рандомизированных контролируемых исследований, проведенных для взрослых пациентов, или базируются на мнении авторитетных экспертов [8–10]. Длительность антикоагулянтной терапии, выбор дозы низкомолекулярного гепарина с учетом химиоиндуцированной тромбоцитопении у детей отражены в единичных сообщениях. Данные по анализу параметров свертывания и антикоагулянтной терапии у детей и подростков, у которых развился тромбоз на этапе диагностики или лечения лимфомы, в публикациях не представлены.

Цель исследования — провести сравнительный анализ параметров свертывания крови на момент выявления тромбоза, оценить продолжительность и исход антикоагулянтной терапии при тромбозах, осложнивших программное лечение детей, подростков и молодых взрослых с лимфомами.

Материалы и методы

За 13-летний период (2005–2017 гг.) 513 пациентов с лимфомой (с лимфомой Ходжкина (ЛХ) — 284

(55,4 %), с неходжкинской лимфомой (НХЛ) — 229 (44,6 %)) получали специальное лечение в Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии. Из них венозный тромбоз (ВТ) был диагностирован у 28 ($5,5 \pm 1,0$ %) пациентов, в том числе у 5 ($1,8 \pm 0,8$ %) с ЛХ и у 23 ($10,0 \pm 2,0$ %) с НХЛ. На момент выявления ВТ у 16 из 28 пациентов была медиастинальная опухоль, в том числе у 12 пациентов — большая опухолевая масса в средостении, так называемая bulky disease, обозначаемая в случае превышения размеров объемного образования более 1/3 кардиоторакального коэффициента или более 10 см на сканах, полученных при компьютерной томографии [11].

Наличие ВТ верифицировали при первом появлении клинических признаков (отек, ограничение движений из-за боли в заинтересованной зоне, изменение окраски кожи, болезненность и повышение температуры кожи при пальпации по ходу вены) путем проведения диагностического ультразвукового исследования [12]. Для визуализации магистральных вен применяли широкополосные линейные датчики высокого разрешения в комплекте со сканерами Logiq 500, Logiq 9 (GEMS). Объем ультразвукового исследования включал дуплексное сканирование нижней полой вены и ее ветвей, магистрального поверхностного и глубокого венозного русла конечностей, югулярных вен. Основными диагностическими критериями тромботического поражения участка глубокого магистрального венозного русла для большинства пациентов было наличие обтурирующих просвет сосуда гипоехогенных тканевых масс, отсутствие либо неполная реакция на компрессию, отсутствие кровотока в режимах цветового доплеровского картирования. Неокклюзивный тромбоз проявлялся наличием относительно однородных тромбомасс, которые частично не соприкасались со стенками пораженной вены. Тромботическая окклюзия вен характеризовалась обтурацией вены гипоехогенными или среднеэхогенными массами, акустическая плотность и эхоструктура которых зависела от давности процесса.

Ассоциированный с венозным катетером (ВК+) ВТ имели 15 пациентов (с НХЛ — 13, с ЛХ — 2), из них 7 детей были в возрасте 2–12 лет, 7 — в возрасте 13–17 лет и 1 молодой взрослый 22 лет. ВТ, не связанный с пункцией и катетеризацией вен (ВК–), имели 13 пациентов (с НХЛ — 10, с ЛХ — 3), из них 12 пациентов были в возрасте 13–17 лет и 1 пациент 24 лет.

ВК+ тромбоз выявлен в первые 5 нед лечения у 7 пациентов (у 1 из них тромбоз возник в 1-й день лечения преднизолоном, после постановки центрального венозного катетера), на 6–12-й неделях лечения — у 3, через 13 нед и более — у 5. ВК– тромбоз зарегистрирован в первые 5 нед лечения у 9 пациентов, на 6–12-й неделях — у 2, через 13 нед и более — у 2. У 4 из 13 пациентов с тромбозом, не связанным с катетеризацией вены, тромбоз ВК– был диагностирован при поступлении в стационар.

Длительность стояния внутрисосудистого катетера в случаях тромбоза ВК+ менее 1 нед была у 1 пациента, 1–2 нед — у 4, 3–5 нед — у 2, 6 нед и более — у 8. Подключичная вена при ВТ ВК+ была поражена у 7 пациентов (левая — у 5, правая — у 2), внутренняя яремная вена — у 4 (левая — у 2, правая — у 2), глубокие вены правой руки — у 3. Тромбоз правой бедренной вены с распространением тромба до общей подвздошной вены справа имел 1 подросток.

Вне связи с попыткой катетеризации вен тромбоз подвздошно-бедренной вены случился у 4 пациентов, внутренней яремной вены — у 7 (левой — у 4, правой — у 3), глубоких вен плеча — у 2.

Заместительную гемостатическую терапию препаратами и компонентами крови в течение недели, предшествовавшей выявлению тромбоза, получили 8 из 15 пациентов с тромбозом ВК+: однократная трансфузия донорской криоплазмы от 5 до 15 мл/кг (в среднем 12,5 мл/кг в сутки) выполнена 5 пациентам, однократно концентрат донорских тромбоцитов от 5 до 12 мл/кг (в среднем 8,5 мл/кг в сутки) введен 3 пациентам. Из 13 пациентов с тромбозом ВК– заместительную терапию в течение предшествующей ВТ недели получали только 2 пациента: однократно 1 больному была введена донорская криоплазма 8,5 мл/кг, второму — эритроцитарная масса 12,5 мл/кг.

Венозную кровь для исследования свертывания в объеме 3 мл набирали путем пункции периферической вены без наложения жгута, стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 соответственно. Стабилизированную кровь центрифугировали при ускорении 200g в течение 10 мин для получения богатой тромбоцитами плазмы, после чего тромбоцитарную плазму в отдельной пробирке дополнительно центрифугировали при 2000g в течение 10 мин для приготовления бедной (бестромбоцитарной) плазмы, использовавшейся для исследования. Исследование свертывания включало: регистрацию турбидиметрическим методом хронометрических показателей (активированного парциального тром-

бопластинового времени, протромбинового времени, тромбинового времени), содержание плазменного фибриногена методом Claus, волчаночного антикоагулянта автоматическими коагулометрами ACL-7000 и ACL-9000 (Instrumentation Laboratory (IL), США) с использованием диагностических наборов фирмы IL.

Количественным методом по тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными на них моноклональными антителами определяли содержание D-димеров набором D-Dimerkit (IL, США). Спектрофотометрически с использованием хромогенных субстратов, входящих в диагностические наборы IL, на анализаторах ACL-7000 и ACL-9000 регистрировали активность антитромбина III, протеина С, анти-Ха-активность. Клоттинговым методом на анализаторах ACL-7000 и ACL-9000 регистрировали активность свободного протеина S наборами реагентов ProteinS (IL, США). Выполняли качественную реакцию на присутствие растворимых комплексов мономеров фибрина с использованием стандартного набора F.S. TEST (Stago, Франция). По тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными моноклональными антителами проводили количественное определение в плазме крови ранних продуктов деградации фибриногена и фибрина набором PDF Plasma (Stago, Франция). Подсчет тромбоцитов периферической крови выполняли на автоматическом анализаторе MICROS-60. Для коагуляционных показателей в качестве контроля использовали нормальную контрольную плазму, входящую в состав диагностических наборов IL.

Представление результатов хронометрических тестов в виде относительной величины (R), равной отношению исследуемого хронометрического показателя к величине соответствующего показателя контрольной плазмы, позволило сравнивать результаты, независимо от времени проведения исследования и активности используемых реагентов. За величину показателей гемостаза, отражающих возрастную норму, использовали результаты наблюдений, представленные в публикациях М. Andrew и соавт. и Р. Toulon и соавт. [13, 14].

Полиморфизм гена фактора II (20210G>A) и гена фактора V (FVLeiden 1691G>A) у всех пациентов выявляли реагентами производства Life Technologies (США, Германия) на амплификаторе Thermocycler T3 (Biometra, Германия) согласно ранее описанным методам [15, 16]. У всех пациентов, включенных в исследование, наличие антикардиолипидных антител (АКЛа) (IgG, IgM) и антител к β_2 -гликопротеину I (IgG, IgM) выявляли иммуноферментным анализатором ChorusTrio оригинальными наборами фирмы Chorus (Италия). Присутствие волчаночного антикоагулянта регистрировали путем расчета нормализованного отношения dRVVT Screen/dRVVT confirm с использованием наборов HemosIL на коагулометре ACL-7000 и ACL-9000 (IL, США).

После разрешения тромбоза успешно закончили протокольное лечение лимфомы 19 из 28 пациентов. От опухолевой прогрессии (уже после реканализации и полного восстановления кровотока) умерли 7 пациентов. ВТ магистрального сосуда усугубил течение сепсиса и септического шока у 2 пациентов, что привело к летальному исходу.

С учетом того, что независимо от возраста более половины случаев ВТ связаны с ВК, среди обследованных пациентов были выделены 2 группы. Первую группу составили 15 пациентов, у которых тромбоз был выявлен в зоне стояния ВК, 2-ю группу – 13 пациентов, у которых тромбоз осложнил основное заболевание вне связи с попыткой пункции или катетеризации вены. В контрольную группу (по типу исследования случай–контроль) вошли 22 пациента в возрасте от 2 до 20 лет (медиана 15,5 года) без тромбоза с аналогичным диагнозом, полом, протоколом и этапом лечения. Пациенты контрольной группы не имели осложнений, связанных с отклонением показателей свертывания от нормы, в процессе протокольного лечения и не получали с заместительной целью на этапах исследования препаратов и компонентов крови, из них с НХЛ – 18 больных, с ЛХ – 4. Среди 18 пациентов с НХЛ L-аспарагиназу получали 9 больных. В контрольной группе на момент включения в исследование периферический ВК имели 10 пациентов, центральный ВК – 12. При медиастинальной локализации опухоли центральный ВК в бассейне верхней полой вены имели 4 пациента, периферический ВК – 8. В группу сравнения были включены 35 здоровых детей в возрасте от 3 до 18 лет (медиана 14 лет), обследование которых проведено после оформления информированного согласия в процессе планового медицинского осмотра перед началом посещения детского коллектива. У пациентов контрольной группы и группы сравнения результаты всех тестов на маркеры антифосфолипидного синдрома (АФС) и тромбофилию были отрицательны.

Статистический анализ данных выполняли с помощью программы Statistica 10.0. Для оценки степени достоверности различий между сопоставляемыми группами использовали двусторонний непараметрический тест Манна–Уитни. Взаимосвязь изменения значений анализируемых показателей оценивали по критерию ранговой корреляции G, χ^2 -критерию с поправкой Йетса. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Результат представлен как медиана, 10–90-й перцентили.

Результаты и обсуждение

Свертывание крови. Значения большинства хронометрических показателей у пациентов с лимфомой в случае тромбоза не отличались от аналогичных показателей, зарегистрированных у пациентов без тромбоза (табл. 1). При тромбозе ВК+ содержание фибриногена (4,3 г/л (0,96–6,1 г/л)) и D-димеров (0,5 мкг/мл

(0,13–3,0 мкг/мл)) было таким же, как и у пациентов с тромбозом ВК– (4,3 г/л (1,5–7,3 г/л); U-test; $p = 0,16$ и 0,7 мкг/мл (0,07–4,0 мкг/мл); $p = 0,6$ соответственно), а также у пациентов контрольной группы без тромбоза (5,1 г/л (0,74–5,8 г/л); $p = 0,42$ и 0,9 мкг/мл (0,5–2,0 мкг/мл); $p = 0,53$ соответственно), превышая ($p < 0,05$) значения аналогичных показателей здоровых детей и подростков, не имевших злокачественного новообразования из группы сравнения (3,1 г/л (2,5–3,6 г/л) и 0,085 мкг/мл (0,04–0,2 мкг/мл) соответственно). Активность факторов протромбинового комплекса при тромбозе ВК+ не отличалась от таковой у пациентов с тромбозом ВК– (75 % (48–101 %) и 87,5 % (71–93 %) соответственно; $p = 0,42$), а также у пациентов контрольной группы и группы сравнения.

Активность антитромбина III (62 % (36–123 %)) в случае тромбоза ВК+ была ожидаемо ниже, чем у пациентов с тромбозом ВК– (86 % (71–133 %); $p = 0,06$) и у пациентов контрольной группы с лимфомой без тромбоза (89 % (78–115 %); $p = 0,014$), и значительно ниже, чем у здоровых детей из группы сравнения (110 % (91–120 %); $p = 0,009$).

Активность протеина С (78 % (44–127 %)) в группе пациентов с ВТ+ тромбозом не отличалась от соответствующих значений в группе с ВТ– тромбозом (98 % (60–120 %); $p = 0,18$), у пациентов с лимфомой без тромбоза (96 % (85–105 %); $p = 0,44$) и контрольной группы (90 % (73–108 %); $p = 0,65$).

В случае тромбоза ВК+ активность свободного протеина S (81,5 % (56–108 %)) была ниже, чем у пациентов с тромбозом ВК– (107 % (62–114 %); $p = 0,02$).

Снижение активности антитромбина III, протеина С и протеина S в различном сочетании в момент выявления тромбоза зарегистрировано у 9 пациентов с тромбозом ВК+ и у 3 пациентов с тромбозом ВК– (табл. 2). Динамическое наблюдение за закончившими протокольное лечение пациентами с ВТ выявило последующую нормализацию активности естественных антикоагулянтов во всех случаях, что исключало у них врожденный характер патологии. Значимой корреляционной связи между изменением величин проанализированных показателей свертывания и наличием (или отсутствием) тромбоза у пациентов с лимфомой не обнаружено. Также не выявлено корреляционной связи ($G = 0,25$; $p = 0,16$) между тромбозом и фактом проведения накануне заместительной гемостатической терапии.

Изменения свертывания, связанные с проведением программной химиотерапии в группе контроля у пациентов без тромбоза и у пациентов с ВТ (как ВК+, так и ВК–), возникали не синхронно, поэтому коагуляционный статус ВТ и парного контроля на фиксированный день от начала лечения, характеризую состояние групп в целом, не всегда отражал индивидуальную активность прокоагулянтов и естественных антикоагулянтов. Согласно протоколу лечения лимфобластных лимфом L-аспарагиназу получали

Таблица 1. Показатели свертывания крови при лимфомах у пациентов с тромбозом и без тромбоза по сравнению со здоровыми детьми и подростками. Результат представлен медианой, 10–90-м перцентилем

Table 1. Blood coagulation parameters in lymphoma patients with and without thrombosis compared with healthy children and adolescents. Result is represented by median, 10–90th percentile

Сравниваемый показатель Compare parameter	Пациенты с лимфомой и тромбозом ВК+ (группа 1) (n = 15) Patients with lymphoma and thrombosis VC+ (group 1) (n = 15)	Пациенты с лимфомой и тромбозом ВК– (группа 2) (n = 13) Patients with lymphoma and thrombosis VC– (group 2) (n = 13)	Пациенты с лимфомой без тромбоза (группа 3) (n = 22) Patients with lymphoma and without thrombosis (group 3) (n = 22)	Пациенты без лим- фомы (группа 4) (n = 35) Patients without lymphoma (group 4) (n = 35)
АПТВ APTT	29,0 (23,0–31,0) $p_{1-3} = 0,36$ $p_{1-2} = 0,98$	29,8 (27,2–36,7) $p_{2-3} = 0,95$	30,0 (26,0–34,0) $p_{3-4} = 0,65$	31,2 (28,0–32,0)
Отношение АПТВ, пациент/контроль APTT ratio, patient/control	0,96 (0,76–1,16) $p_{1-3} = 0,97$ $p_{1-2} = 0,63$	0,98 (0,82–1,29) $p_{2-3} = 0,82$	1,07 (0,87–1,19) $p_{3-4} = 0,09$	1,02 (0,91–1,15)
МНО, ЕД INR	1,19 (0,99–1,66) $p_{1-3} = 0,97$ $p_{1-2} = 0,66$	1,1 (1,04–1,27) $p_{2-3} = 0,35$	1,4 (1,05–2,1) $p_{3-4} = 0,36$	1,05 (0,99–1,1)
Активность ФПК, % PC activity, %	75 (48–101) $p_{1-3} = 0,59$ $p_{1-2} = 0,87$	87,5 (71–93) $p_{2-3} = 0,22$	64 (40–95) $p_{3-4} = 0,41$	79 (71–84)
Тромбиновое время, с Thrombin time, s	16,9 (13,0–19,0) $p_{1-3} = 0,22$	14,5 (12,7–18,7) $p_{2-3} = 0,54$	13,6 (11,0–23,0) $p_{3-4} = 0,30$	14,5 (13,5–16,6)
Отношение тромбиново- го времени, паци- ент/контроль Thrombin time ratio, patient/control	1,27 (1,03–1,55) $p_{1-3} = 0,11$ $p_{1-2} = 0,62$	1,2 (1,02–1,38) $p_{2-3} = 0,23$	1,23 (0,82–1,8) $p_{3-4} = 0,31$	1,15 (1,1–1,24)
Фибриноген, г/л Fibrinogen, g/L	4,3 (0,96–6,1)* $p_{1-3} = 0,42$ $p_{1-2} = 0,16$	4,3 (1,5–7,3)* $p_{2-3} = 0,63$	5,1 (0,74–5,8)* $p_{3-4} = 0,04$	3,1 (2,5–3,6)
D-димер, мкг/мл D-dimer, µg/ml	0,5 (0,13–3,0)* $p_{1-3} = 0,53$ $p_{1-2} = 0,6$	0,7 (0,07–4,0)* $p_{2-3} = 0,65$	0,9 (0,5–2,0)* $p_{3-4} = 0,001$	0,085 (0,04–0,2)
ПДФ, мкг/мл FDP, µg/ml	5,0 (5,0–25,0)* $p_{1-3} = 0,85$ $p_{1-2} = 0,78$	10,0 (4,9–30,0)* $p_{2-3} = 0,85$	15,0 (5,0–40,0)* $p_{3-4} = 0,045$	4,9 (4,9–5,0)
Положительные РКМФ, n SFMC positive, n	0	0	0	0
Активность антитром- бина III, % Antithrombin III activity, %	62 (36–123)* $p_{1-3} = 0,014$ $p_{1-2} = 0,06$	86 (71,0–135)* $p_{2-3} = 0,12$	89 (78–115) $p_{3-4} = 0,98$	110 (91–120)
Активность протеина С, % Protein C activity, %	78 (44–127) $p_{1-3} = 0,44$ $p_{1-2} = 0,18$	98 (60–120) $p_{2-3} = 0,80$	96 (85–105) $p_{3-4} = 0,49$	90 (73–108)
Активность свободной формы протеина S, % Free form of protein S activity, %	81,5 (56–108) $p_{1-3} = 0,31$ $p_{1-2} = 0,02$	107 (62–114) $p_{2-3} = 0,91$	110 (91–115) $p_{3-4} = 0,21$	93 (71–119)
Тромбоциты венозной крови, 10 ⁹ /л Venous blood platelets, 10 ⁹ /L	167 (84–132)* $p_{1-3} = 0,83$ $p_{1-2} = 0,003$	200 (119–671)* $p_{2-3} = 0,09$	202 (92–240)* $p_{3-4} = 0,009$	289 (260–331)

Примечание. ВК – венозный катетер; АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время; МНО – международное нормализованное отношение; ФПК – факторы протромбинового комплекса; ПДФ – продукты деградации фибриногена/фибрина; РКМФ – растворимые комплексы мономеров фибрина; p – достоверность различия между группами 1–2, 1–3, 2–3, 3–4 (парный U-test).

Note. VC – venous catheter; APTT – activated partial thromboplastin time; INR – international normalized ratio; PC – prothrombin complex; FDP – fibrin degradation products; SFMC – soluble fibrin monomers complexes; p – significance of differences between groups 1–2, 1–3, 2–3, 3–4 (paired U-test).

* $p < 0,05$ для пациентов с лимфомой по сравнению (U-test) с группой сравнения (пациенты без лимфомы).

* $p < 0.05$ for patients with lymphoma compared (U-test) with a comparison group (patients without lymphoma).

Таблица 2. Факторы риска, сопутствовавшие венозному тромбозу, n

Table 2. Risk factors associated with venous thrombosis, n

Известный фактор риска у числа пациентов Known risk factor in the number of patients	Тромбоз ВК+ и ВК– срок выявления от начала лечения Thrombosis VC+ and VC– was detected from therapy start						Всего Total	
	<6 нед <6 weeks		6–12 нед 6–12 weeks		>12 нед >12 weeks			
	ВК+ VC+	ВК– VC–	ВК+ VC+	ВК– VC–	ВК+ VC+	ВК– VC–	ВК+ VC+	ВК– VC–
20210G>A	1			1			1	1
FVLeiden 1691G>A	1						1	
ВА-положительные больные LA-positive patients		1				1		2
IgG к β ₂ -гликопротеину I IgG to β ₂ glycoprotein I		1						1
IgG к кардиолипину IgG to cardiolipin		1						1
АТ III <60 %	1		1				2	
PrC <60 %								
PrS <60 %	1	1	1	1			2	2
(АТ III + PrC) <60 %	2		1	1			3	1
(АТ III + PrS) <60 %	1						1	
(PrS + PrC) <60 %	1						1	
Bulky disease	5	7					5	7
Опухолевые массы в средостении, число пациентов Mediastinum tumor masses			2	1		1	2	2
Получали L-аспарагиназу Receive L-asparaginase	7		2	2	1		10	2
Число пациентов с тромбозом The number of patients with thrombosis	7	9	3	2	5	2	15	13
Всего Total	16		5		7		28	

Примечание. ВК – венозный катетер; 20210G>A – мутация гена фактора протромбина; FVLeiden 1691G>A – мутация гена фактора V; ВА – волчаночный антикоагулянт; IgG – антитела класса иммуноглобулин G; AT III – активность антитромбина III; PrC – активность протеина C; PrS – активность протеина S.

Note. VC – venous catheter; 20210G>A – mutation of prothrombin factor gene; FVLeiden 1691G>A – mutation of factor V gene; LA – lupus anticoagulant; IgG – immunoglobulin G class antibodies; AT III – antithrombin III activity; PrC – protein C activity; PrS – protein S activity.

2/3 (10 из 15) пациентов с ВТ ВК+ и лишь 1/5 (2 из 13) пациентов с тромбозом ВК–. В то же время у 4 из 13 пациентов с тромбозом ВК– тромбоз был выявлен при поступлении, а у 1 пациента с ВК+ – в 1-й день лечения через 12–18 ч после постановки центрального венозного катетера, задолго до назначения аспарагиназы. Следует учесть, что показатели свертывания крови были зарегистрированы на момент появления клинической картины и ультразвуковой верификации венозной окклюзии, а не в момент образования ВТ. Разнородность морфологических форм лимфом в ана-

лизированных группах и вследствие этого ограниченное (у 12 из 28 пациентов) применение аспарагиназы не позволили выявить четкие различия в активности большинства естественных антикоагулянтов и прокоагулянтов у пациентов с тромбозом и без него.

Рядом исследователей рекомендованы шкалы для выявления среди взрослых и лиц преклонного возраста с онкологическим заболеванием пациентов с потенциальным риском возникновения венозной тромбоэмболии. Эти шкалы основаны на сопоставлении данных, отражающих клиническую ситуацию, состояние

пациента и содержание D-димеров [17–19]. Алгоритм расчета клинической вероятности тромбоза у детей, базирующийся на сопоставлении клинических симптомов венозной окклюзии, пола ребенка, наличия ВК и злокачественного новообразования, не предусматривает необходимость определения коагуляционного статуса, включая регистрацию D-димеров из-за низкой специфичности признака [12].

Таким образом, отсутствие различий между значениями большинства соответствующих показателей у пациентов с тромбозами и без них не позволяет рекомендовать проанализированные рутинные показатели свертывания крови (включая определение D-димеров) в качестве диагностических тестов для выявления тромбозов среди детей, подростков и молодых взрослых с лимфомами.

Генетически доказанная тромбофилия среди 23 пациентов с НХЛ и тромбозом была зарегистрирована в 3 случаях, из них мутации 20210G>A гена, ответственного за синтез фактора II, — у 2 (8,6 ± 5,8 %) пациентов, мутация FVLeiden 1691G>A гена фактора V, резистентного к протеину C, — у 1 (4,3 ± 4,2 %). Среди взрослых пациентов с тромбозами мутацию FVLeiden 1691G>A гена фактора V исследователи обнаружили в 12–30 % случаев, что превышало частоту выявления (5–8 %) генетической аномалии среди лиц кавказской популяции [6]. Мутация 20210G>A была зарегистрирована исследователями у 7–18 % пациентов с тромбозами, по сравнению с частотой встречаемости (0,7–4,0 %) этого дефекта в европейской популяции здоровых лиц [5]. Частота генетических аномалий среди обследованных нами пациентов с тромбозами практически не превышала приведенную в публикациях [5, 6] частоту полиморфизмов анализируемых генов в популяции здоровых лиц.

Антифосфолипидные антитела (IgG) к β_2 -гликопротеину I в количестве 28 МЕ/мл (норма менее 14 МЕ/мл) были выявлены у 1 из 23 (4,34 ± 4,24 %) пациентов с НХЛ, антитела (IgM) к кардиолипину в титре 36 МЕ/мл (норма менее 14 МЕ/мл) — у 1 из 5 (20,0 ± 17,9 %) подростков с ЛХ. При лимфомах у взрослых пациентов АКЛа были зарегистрированы в 39 % наблюдений, при этом тромботические события среди АКЛа-положительных пациентов выявлены исследователями в 2 раза чаще, чем среди АКЛа-отрицательных [20]. Исследователи обнаружили отрицательную корреляционную связь ($p = 0,02$) у пациентов с лимфомой и тромбозом старшего и преклонного возраста между повышением титра АКЛа на момент диагностики лимфомы и снижением общей двухлетней выживаемости [21]. В то же время ряд авторов продемонстрировали присутствие АКЛа у пациентов с лимфомой и острым миелоидным лейкозом, не имевших тромбозов [22].

Сочетанное влияние тромбогенных факторов (см. табл. 2) констатируется в каждом случае ВТ. Кроме лимфомы как основного заболевания, большой опухолевой массы в средостении (12 из 16 пациентов

с медиастинальной локализацией), приема химиопрепаратов, несколько других факторов риска развития тромбоза (ВК, тромбофилия, наличие антифосфолипидных антител, не считая снижения активности естественных антикоагулянтов) в различном сочетании было у 4/5 (22 из 28) пациентов с ВТ. У 2 из 15 пациентов с ВТ ВК+ была гетерозиготная мутация 1691G>A и 20210G>A в сочетании с центральным ВК, тромбоз ВК+ на фоне снижения активности протеина S (56 и 54 %) наблюдали у 2 пациентов, сочетанное снижение активности антитромбина III (от 36 до 50 %) и протеина C (от 44 до 50 %) — у 3. Катетер-независимый ВТ на фоне гомозиготной мутации 20210G>A имел 1 пациент, сочетанное снижение антитромбина III (69 и 71 %) и протеина S (54 и 52 %) — 2. Мы наблюдали по 1 случаю тромбоза ВК– и повышенного титра IgG к β_2 -гликопротеину I (28 МЕ/мл), повышенного титра IgM к кардиолипину (36 МЕ/мл), а также 2 пациентов с положительным волчаночным антикоагулянтом. Результаты повторного анализа через 12 нед подтвердили повышенный титр маркеров АФС, включая волчаночный антикоагулянт; перед отменой антикоагулянтов тесты на присутствие маркеров АФС были отрицательными.

Таким образом, полученные нами результаты исследования стали основанием для регистрации перечисленных показателей свертывания крови, а также учета транзиторных и постоянно действующих факторов риска только по факту возникновения венозной окклюзии в целях уточнения причины тромбоза и определения тактики антикоагулянтной терапии.

Антикоагулянтная терапия. Все 28 пациентов с ВТ получали антикоагулянтную терапию лекарственными средствами, содержащими нефракционированный и низкомолекулярный гепарин. По факту выявления тромбоза натриевую соль нефракционированного гепарина методом круглосуточной внутривенной инфузии с постоянной скоростью, в дозе, обеспечивающей увеличение активированного парциального тромбопластинового времени в 2,0–2,5 раза по сравнению с контролем, получали 7 пациентов, в последующем нефракционированный гепарин был заменен на подкожные введения дальтепарина натрия. Все 28 пациентов в остром периоде (<1 мес от момента выявления тромбоза) получали терапевтическую дозу дальтепарина натрия 200 анти-Ха МЕ/кг в сутки. В подостром периоде, начиная со 2-го месяца антикоагулянтной терапии, суточную дозу дальтепарина натрия 150–200 анти-Ха МЕ/кг вводили путем выполнения 2 подкожных инъекций. У 4 пациентов в динамике лечения была зарегистрирована химиоиндуцированная тромбоцитопения со снижением содержания тромбоцитов в периферической крови от 100 до 45 тыс/мкл продолжительностью от 7 до 30 дней (медиана 18 дней). Пациентам с опухолевоассоциированным тромбозом, согласно инструкции по медицинскому применению дальтепарина натрия, суточную терапевтическую дозу дальтепарина натрия при числе тромбоцитов от 100

до 50 тыс/мкл снижали до 5000 анти-Ха МЕ для пациентов с массой тела менее 56 кг, что в перерасчете на единицу массы тела ($5000 \text{ МЕ}/56 \text{ кг} = 89 \text{ МЕ}/\text{кг}$) составляло 90–100 МЕ/кг в сутки. После восстановления числа тромбоцитов более 100 тыс/мкл возобновляли противотромботическое лечение дальтепарином натрия в суточной дозе 150–200 анти-Ха МЕ/кг. Ни в одном случае не зарегистрировано никаких геморрагических осложнений (в том числе представлявших угрозу для жизни, требовавших восполнения объема циркулирующей крови или гемотрансфузий), связанных с проведением антикоагулянтной терапии.

Полная реканализация тромбированного сосуда, доказанная данными ультразвукового исследования, наступила у половины пациентов (у 14 из 28 ($50,0 \pm 9,4 \%$)), из них в течение первых 3 мес — у 9, за 4–6 мес — у 1, за 7–12 мес — у 4. Частичная реканализация была доказана на фоне противотромботического лечения в течение 3–12 мес у 8 ($28,5 \pm 8,5 \%$) пациентов. Облитерация вены, преимущественно внутренней яремной, как исход ВТ наступила у 6 ($21,4 \pm 7,7 \%$) пациентов за 4–12 мес. Антикоагулянтную терапию с преимущественным использованием низкомолекулярных гепаринов продолжительностью 3 мес получали 10 пациентов, в течение 4–6 мес — 4, 7–12 мес — 12, до 18 мес — 2. После восстановления кровотока и отмены антикоагулянтов у 2 пациентов с ранним рецидивом лимфомы был зарегистрирован новый тромбоз другой локализации, в связи с чем применение низкомолекулярного гепарина 2 пациентам было продлено суммарно до 18 мес. Одному молодому взрослому пациенту с гомозиготной мутацией 20210G>A был назначен варфарин бессрочно в связи с рецидивом ВТ в месте первого тромбоза, наступившим через 4 мес после завершения програм-

многo лечения лимфомы и прекращения антикоагулянтной терапии. Была выявлена тесная корреляционная связь ($G = 0,8$; $p = 0,001$) продолжительности антикоагулянтной терапии с временем наступления полной или частичной реканализации в зоне тромбоза.

Таким образом, лечение антикоагулянтами в терапевтической дозе от 3 мес до 1 года необходимо для разрешения ВТ. Бессрочное применение антикоагулянтов подразумевается при рецидивирующем тромбозе на фоне генетически обусловленной тромбофилии.

Несмотря на то что наше исследование по анализу результатов антикоагулянтной терапии у пациентов с лимфомами имеет ряд существенных ограничений (ретроспективное, одноцентровое, не рандомизированное), оно относится к наиболее крупным и детальным из ныне опубликованных по данному вопросу.

Заключение

Значения большинства показателей свертывания крови у больных с лимфомой после развития ВТ не отличаются от значений соответствующих показателей у пациентов без тромбоза. Данное обстоятельство не позволяет рекомендовать коагулограмму как метод выявления тромбоза у детей, подростков и молодых взрослых с лимфомой. По сравнению со здоровыми детьми у пациентов с лимфомой повышено содержание фибриногена и D-димеров. Регистрация рутинных показателей свертывания, а также учет транзиторных и постоянно действующих факторов риска ВТ оправданы в целях уточнения причины тромбоза и определения тактики антикоагулянтной терапии. Антикоагулянтная терапия приводит к разрешению ВТ в течение 3–12 мес.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Khorana A.A. Venous thromboembolism and prognosis in cancer. *Thromb Res* 2010;125(6):490–3. DOI: 10.1016/j.thromres.2009.12.023. PMID: 20097409.
2. Timp J.F., Braekkan S.K., Versteeg H.H., Cannegieter S.C. Epidemiology of cancer-associated venous thrombosis. *Blood* 2013;122(10):1712–23. DOI: 10.1182/blood-2013-04-460121. PMID: 23908465.
3. Athale U., Siciliano S., Thabane L. et al. Epidemiology and clinical risk factors predisposing to thromboembolism in children with cancer. *Pediatr Blood Cancer* 2008;51(6):792–7. DOI: 10.1002/pbc.21734. PMID: 18798556.
4. Walker A., Grainge M., Card T. et al. Venous thromboembolism in children with cancer — a population-based cohort study. *Thromb Res* 2014;133(3):340–4. DOI: 10.1016/j.thromres.2013.12.021. PMID: 24388573.
5. Kenet G., Lütkehoff L.K., Albiessetti M. et al. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Circulation* 2010;121(16):1838–47. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.913673. PMID: 20385928.
6. Holmes M.V., Newcombe P., Hubacek J.A. et al. Effect modification by population dietary folate on the association between MTHFR genotype, homocysteine, and stroke risk: a meta-analysis of genetic studies and randomized trials. *Lancet* 2011;378(9791):584–94. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60872–6. PMID: 21803414.
7. Lyman G.H., Khorana A.A., Kuderer N.M. et al. Venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2013;31(17):2189–204. DOI: 10.1200/JCO.2013.49.1118. PMID: 23669224.
8. Kearon C., Akl E., Ornelas J. et al. Antithrombotic therapy for VTE disease. CHEST guideline and expert panel report. *Chest* 2016;149(2):315–52. DOI: 10.1016/j.chest.2015.11.026. PMID: 26867832.
9. Monagle P., Chan A.K., Goldenberg N.A. et al. Antithrombotic therapy in neonates and children: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2012;141(2 Suppl):e737S–801S. DOI: 10.1378/chest.11–2308. PMID: 22315277.

10. Carrier M., Khorana A., Zwicker J. et al. Management of challenging cases of patients with cancer-associated thrombosis including recurrent thrombosis and bleeding: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2013;11(9):1760–5. DOI: 10.1111/jth.12338. PMID: 23809334.
11. Cazals-Hatem D., Lepage E., Brice P. et al. Primary mediastinal large B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 141 cases compared with 916 nonmediastinal large B-cell lymphomas, a GELA (“Groupe d’Etude des Lymphomas de l’Adulte”) study. *Am J Surg Pathol* 1996;20(7):877–88. PMID: 8669537.
12. Kerlin B., Stephens J., Hogan M. et al. Development of a pediatric-specific clinical probability tool for diagnosis of venous thromboembolism: a feasibility study. *Pediatr Res* 2015;77(3):463–71. DOI: 10.1038/pr.2014.198. PMID: 25518012.
13. Andrew M., Vegh P., Johnston M. et al. Maturation of the hemostatic system during childhood. *Blood* 1992;80(8):1998–2005. PMID: 1391957.
14. Toulon P., Berruyer M., Brionne-Francois M. et al. Age dependency for coagulation parameters in paediatric populations. *Thromb Haemost* 2016;116(1):9–17. DOI: 10.1160/TH15-12-0964. PMID: 26988943.
15. Poort S.R., Rosendaal F.R., Reitsma P.H., Bertina R.M. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88(10):3698–703. PMID: 8916933.
16. Nasiruddin, Zahur-ur-Rehman, Anwar M. et al. Frequency of factor V Leiden mutation. *J Coll Physicians Surg Pak* 2005;15(1):15–7. DOI: 10.2005/JCPSP.1517. PMID: 15670517.
17. Khorana A.A., Kuderer N.M., Culakova E. et al. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood* 2008;111(10):4902–7. DOI: 10.1182/blood-2007-10-116327. PMID: 18216292.
18. Bahl V., Hu H., Henke H.R. et al. A Validation study of a retrospective venous thromboembolism risk scoring method. *Ann Surg* 2010;251(2):344–50. DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181b7fca6. PMID: 19779324.
19. Ay C., Dunkler D., Marosi C. et al. Prediction of venous thromboembolism in cancer patients. *Blood* 2010;116(24):5377–82. DOI: 10.1182/blood-2010-02-270116. PMID: 20829374.
20. Pusterla S., Previtali S., Marziali S. et al. Antiphospholipid antibodies in lymphoma: prevalence and clinical significance. *Hematol J* 2004;5(4):341–6. DOI: 10.1038/sj.thj.6200377. PMID: 15297851.
21. Bairey O., Blickstein D., Monselise Y. et al. Antiphospholipid antibodies may be a new prognostic parameter in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol* 2006;76(5):384–91. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2005.00620.x. PMID: 16466368.
22. Genvresse I., Leftner D., Sheth-Schwalbe E., Buttgerit F. Prevalence and clinical significance of anticardiolipin and anti- β_2 -glycoprotein I antibodies in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol* 2002;68(2):84–90. PMID: 12038453.

Вклад авторов

В.В. Дмитриев, А.С. Федорова: разработка концепции и дизайна исследования, сбор и обработка данных, предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи, окончательное одобрение рукописи;
 Н.В. Липай: предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных, окончательное одобрение рукописи;
 И.В. Бегун, И.А. Дунаев: предоставление материалов исследования, окончательное одобрение рукописи;
 Е.В. Дмитриев: сбор и обработка данных, окончательное одобрение рукописи.

Authors' contributions

V.V. Dmitriev, A.S. Fedorova: study concept and design development, data collection and processing, provision of research materials, analysis and interpretation of data, preparation of a manuscript, final approval of a manuscript;
 N.V. Lipay: provision of research materials, analysis and interpretation of data, final approval of a manuscript;
 I.V. Begun, I.A. Dunaev: provision of research materials, final approval of a manuscript;
 E.V. Dmitriev: data collection and processing, final approval of a manuscript.

ORCID авторов/ORCID of authors

В.В. Дмитриев/V.V. Dmitriev: <https://orcid.org/0000-0002-2738-429X>
 А.С. Федорова/A.S. Fedorova: <https://orcid.org/0000-0002-1559-8223>
 Н.В. Липай/N.V. Lipay: <https://orcid.org/0000-0002-8304-1005>
 И.В. Бегун/I.V. Begun: <https://orcid.org/0000-0001-6966-1892>
 Е.В. Дмитриев/E.V. Dmitriev: <https://orcid.org/0000-0003-0233-7718>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты или родители пациентов подписали информированное согласие на участие в исследовании.

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

Статья поступила: 11.04.2018. Принята к публикации: 03.10.2018.

Article received: 11.04.2018. Accepted for publication: 03.10.2018.

МРТ костного мозга после аутологичной трансплантации и влияние остаточной опухоли на выживаемость без прогрессии больных множественной миеломой

М.В. Соловьев, Л.П. Менделеева, Г.А. Яцык, Н.С. Луцки, М.В. Фирсова, Э.Г. Гемджян, В.Г. Савченко

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

Контакты: Максим Валерьевич Соловьев maxsolovej@mail.ru

Введение. Исследование влияния остаточной массы опухоли, определяемой по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ), на показатели выживаемости без прогрессии (ВБП) остается актуальной задачей, поскольку визуальная оценка опухолевого поражения костного мозга может стать одним из критериев выбора последующего персонализированного лечения больных множественной миеломой.

Цель исследования — определение влияния на показатели ВБП поражений костного мозга, выявленных методом МРТ после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) у больных множественной миеломой.

Материалы и методы. В проспективное исследование включены данные 60 больных, которым на 100-й день после ауто-ТГСК проводили МРТ-исследование позвоночника и костей таза.

Результаты. Очаговые изменения костного мозга в количестве от 1 до 56 (медиана 6 ± 9) обнаружены у 47 пациентов. Сравнение показателей ВБП больных множественной миеломой в зависимости от наличия или отсутствия опухолевой массы на 100-й день после ауто-ТГСК выявило достоверные ($p = 0,01$) различия: при МРТ-отрицательном статусе 2-летняя ВБП составила 89 % против 50 % в группе больных с наличием остаточной опухолевой ткани.

Заключение. МРТ-отрицательный статус после ауто-ТГСК является благоприятным прогностическим фактором, обуславливающим продолжительную выживаемость без признаков заболевания.

Ключевые слова: множественная миелома, магнитно-резонансная томография, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

Для цитирования: Соловьев М.В., Менделеева Л.П., Яцык Г.А. и др. МРТ костного мозга после аутологичной трансплантации и влияние остаточной опухоли на выживаемость без прогрессии больных множественной миеломой. Онкогематология 2018; 13(4):46–53.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-46-53

Bone marrow MRI after autologous transplantation and the effect of residual tumor on progression-free survival of multiple myeloma patients

M.V. Solovjev, L.P. Mendeleva, G.A. Yatsyk, N.S. Lutsik, M.V. Firsova, E.G. Gemdzhian, V.G. Savchenko

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

Background. The study of influence of residual tumor mass, determined by magnetic resonance imaging (MRI), on the progression-free survival (PFS) remains an actual problem. Since the visual assessment of tumor bone marrow lesion can be one of the criteria for the subsequent personalized treatment choice in multiple myeloma patients.

The objective of study was to determine the effect of bone marrow lesions detected by MRI after autologous hematopoietic stem cells transplantation (auto-HSCT) on PFS in multiple myeloma patients.

Materials and methods. The prospective study included 60 patients who underwent spine and pelvic bones MRI on the 100th day after auto-HSCT.

Results. Focal bone marrow changes were found in 47 of them — from 1 to 56 lesions (mean 6 ± 9). Significant ($p = 0.01$) differences of PFS in multiple myeloma patients depending on the presence or absence of tumor mass on 100th day after auto-HSCT were revealed: with MRI negative status, 2-year PFS was 89 % versus 50 % in a group of patients with residual tumor mass.

Conclusion. MRI-negative status after auto-HSCT is a favorable prognostic factor contributing to prolonged disease-free survival.

Key words: multiple myeloma, magnetic resonance imaging, autologous hematopoietic stem cells transplantation

For citation: Solovjev M.V., Mendeleva L.P., Yatsyk G.A. et al. Bone marrow MRI after autologous transplantation and the effect of residual tumor on progression-free survival of multiple myeloma patients. Onkogematologiya = Oncohematology 2018; 13(4):46–53.

Введение

В последнее десятилетие в клинических исследованиях большое внимание уделяется изучению минимальной остаточной болезни (МОБ), которая наряду с цитогенетическими аномалиями рассматривается в качестве основного предиктора, влияющего на показатели выживаемости больных.

При множественной миеломе (ММ) под МОБ понимают популяцию опухолевых плазматических клеток, сохраняющихся в костном мозге после завершения противоопухолевой терапии и не выявляющихся рутинными методами исследования. Наибольшее распространение для изучения МОБ у больных ММ получил метод мультипараметрической проточной цитометрии [1–5]. В ряде исследований было подтверждено благоприятное прогностическое значение достижения отрицательного МОБ-статуса. Так, испанская группа авторов под руководством В. Paiva провела анализ выживаемости без прогрессии (ВБП) больных ММ в зависимости от наличия МОБ. В исследование были включены 295 больных ММ, которым были проведены индукционная терапия и аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). На 100-й день после завершения высокодозного лечения у больных, достигших как минимум частичной ремиссии (ЧР) заболевания, осуществляли оценку МОБ методом 4-цветной проточной цитометрии. Медиана ВБП была значимо выше при констатации МОБ-отрицательного статуса: 71 мес против 37 мес в группе больных с наличием остаточной опухоли. Многофакторный анализ подтвердил благоприятное прогностическое значение МОБ-отрицательного статуса как наиболее важного независимого фактора, оказывающего влияние на ВБП [6].

Увеличение общей выживаемости (ОВ) больных ММ при достижении МОБ-отрицательного статуса было представлено в работе А.С. Rawstron и соавт. Исследование костного мозга методом 4-цветной проточной цитометрии проводили 397 больным ММ на 100-й день после ауто-ТГСК. Отсутствие клональных плазматических клеток подтверждено у 246 (62 %) больных, при этом медиана ОВ составила 80 мес против 59 мес в группе больных с наличием МОБ ($p = 0,02$) [7].

Результаты исследований по применению новых лекарственных препаратов в рамках индукционного этапа лечения больных ММ демонстрируют высокие показатели достижения общего противоопухолевого ответа, в частности полной ремиссии (ПР) заболевания. В исследовании М. Roussel и соавт. 31 больному ММ после индукционной терапии по схеме RVD (леналидомид + бортезомиб + дексаметазон) была выполнена ауто-ТГСК. В последующем проводились консолидирующая терапия 2 курсами RVD и поддерживающая терапия леналидомидом в течение 1 года. После завершения индукционной терапии у 23 % больных документирована ПР заболевания. Высокодозная химиотерапия с последующей ауто-ТГСК оказала

дополнительный противоопухолевый эффект в виде углубления ответа до ПР еще в 24 % случаев. После завершения консолидирующих курсов у 50 % больных сохранялась ПР. Поддерживающая терапия способствовала улучшению противоопухолевого ответа еще 27 % больных. В целом после завершения запланированной программы терапии 58 % больных достигли ПР, у 68 % из них методом проточной цитометрии МОБ не определялась. ВБП в течение 3 лет наблюдения у больных с МОБ-отрицательным статусом составила 100 % против 23 % у больных с наличием остаточной опухоли [8].

Таким образом, на основании результатов многочисленных исследований проточная цитометрия подтвердила свое неоспоримое клиническое значение и была включена в рекомендации Международной рабочей группы по изучению ММ (IMWG 2014) в качестве необходимого метода оценки строгой ПР заболевания [2].

В целях изучения остаточной популяции опухолевых клеток рассматриваются возможности и других методов. С учетом патофизиологических основ течения ММ и очагово-диффузного характера поражения костного мозга наибольший интерес представляет исследование МОБ визуализирующими инструментами. Высокой чувствительностью и специфичностью для определения поражений костного мозга обладает магнитно-резонансная томография (МРТ). Картина МРТ-изображений костного мозга изучалась в ряде исследований, на основании результатов которых были классифицированы специфические типы поражения костного мозга при ММ [9–13].

В то время как определение поражений костного мозга на магнитно-резонансных (МР) томограммах в дебюте заболевания показало преимущество по сравнению с рентгенологическими методами оценки, изучение остаточной массы опухоли методом МРТ после завершения терапии продолжается [14, 15]. Публикации, посвященные этому вопросу, отражают противоречивые данные о влиянии на показатели выживаемости результатов МРТ у больных ММ. Так, в исследование французской рабочей группы были включены 134 больных ММ, индукционное лечение которых включало комбинацию леналидомида, бортезомиба и дексаметазона (RVD) с последующей ауто-ТГСК или без нее и поддерживающей терапией леналидомидом. МРТ позвоночника и таза выполняли в дебюте заболевания, после 3 индукционных курсов RVD и после ауто-ТГСК. Определяли количество очагов поражения и характер инфильтративных изменений. Кроме того, проводилась оценка возможного влияния результатов МРТ на показатели ВБП и ОВ. Инициальные поражения костного мозга были отмечены у 127 (95 %) больных, медиана количества выявленных очагов изменения МР-сигнала от костного мозга составила 20. Полная инволюция выявленных поражений была определена у 3 % больных после

3 курсов RVD и в 11 % случаев после ауто-ТГСК. Оказалось, что улучшение МРТ-картины костного мозга после лечения не сопровождалось какими-либо различиями показателей ВБП, которые были высокими (80 %) в обеих группах при сроке наблюдения 20 мес [16].

В другом исследовании J. Hillengass и соавт. провели оценку МР-томограмм 100 больных ММ, сделанных до начала индукционной терапии и после ауто-ТГСК. Дизайн исследования не предусматривал четких сроков выполнения МРТ, поэтому временной интервал между ауто-ТГСК и повторной МРТ варьировал от 0,4 до 39,3 мес. В рамках исследования проводился подсчет количества очагов поражения костного мозга и анализ влияния данных МРТ на показатели выживаемости. Частота достижения противоопухолевого ответа после ауто-ТГСК была следующей: ПР документирована в 11 случаях, ЧР — в 74, стабилизация заболевания — в 7, прогрессия констатирована в 8 случаях. Медиана ВБП для всей группы больных составляла 24,5 мес от момента выполнения повторной МРТ, 3-летняя ОВ — 75 %. Исследователи отметили, что число очагов, выявленных на МР-томограммах после ауто-ТГСК, оказало достоверное влияние на показатели ОВ, в отличие от данных первичных МРТ-исследований. При отсутствии очагов поражения костного мозга по данным повторной МРТ 2-летняя ОВ была равна 100 %, при выявлении 1–10 очагов — 91 %, 11–20 — 64 % и >20 — 57 % ($p = 0,001$). При анализе результатов данной работы необходимо отметить, что не были определены контрольные временные точки для выполнения повторного МРТ-исследования после ауто-ТГСК, что могло повлиять на показатели выживаемости больных. Вместе с тем получены достоверные различия ОВ в зависимости от количества очагов поражения костного мозга на МР-томограмме [17].

Исследование влияния остаточной массы опухоли, определяемой по данным МРТ, на показатели ВБП остается актуальной задачей, поскольку визуальная оценка опухолевого поражения костного мозга может стать одним из критериев выбора последующего персонализированного лечения больных ММ.

Цель исследования — определение влияния на показатели ВБП поражений костного мозга, выявленных методом МРТ после ауто-ТГСК у больных ММ.

Материалы и методы

С декабря 2015 г. по июнь 2017 г. 60 больных ММ (26 мужчин и 34 женщины) в возрасте 36–66 лет (средний возраст 56 лет) были включены в проспективное исследование определения зависимости показателей ВБП от наличия поражений костного мозга по данным МРТ после выполнения ауто-ТГСК.

Диагноз ММ устанавливали в соответствии с критериями, разработанными IMWG (2014) [18]. Стадия заболевания по Международной системе стадирова-

ния (ISS) в момент диагностики была расценена как I у 22 больных, II — у 22, III — у 16. Миеломная нефропатия в дебюте заболевания была констатирована у 11 (18 %) больных. Костные плазмцитомы определялись в 23 (38 %) случаях. По данным цитогенетического исследования, выполненного 21 больному, выявлен высокий цитогенетический риск у 8 и стандартный риск у 13 больных (согласно классификации IMWG 2016) [19]. Всем больным проводили индукционную терапию с включением бортезомиба, иммуномодулирующие препараты применяли в 10 случаях. Мобилизацию CD34+ клеток крови выполняли по схеме ЦФ 4 г/м² + Г-КСФ или только Г-КСФ. В условиях высокодозного мелфалана (140–200 мг/м²) проводили однократную ($n = 47$) или тандемную ($n = 13$) ауто-ТГСК. Через 100 дней после 1-й ауто-ТГСК всем больным выполнили МРТ позвоночника и костей таза по нижеописанному протоколу для определения характера поражения костного мозга и объема опухолевой массы.

Противоопухолевый ответ после завершения индукции и на 100-й день после ауто-ТГСК оценивали в соответствии с критериями, разработанными IMWG. После выполнения ауто-ТГСК ПР была документирована у 32 (53 %) больных, очень хорошая частичная ремиссия (ОХЧР) — у 23 (38 %) и ЧР — у 5 (9 %). После проведения 1-й ауто-ТГСК последующее лечение больных было различным и включало: консолидирующую терапию в 16 случаях, поддерживающее лечение в 18; наблюдение без лечения проводилось за 26 больными.

Протокол МРТ-сканирования. МРТ-исследования проведены на МР-томографе GE Signa Profile с использованием катушек Body Flex Coil Medium или Body Flex II Coil Large без введения контрастного препарата. В протокол сканирования позвоночника были включены импульсные последовательности: T2FSE (TR = 2500; TE = 105; FOV = 25 × 25), T1SE (TR = 500; TE = 18; FOV = 25 × 25), Myelo (TR = 1545; TE = 1387; FOV = 35 × 35), T2STIR (TR = 5100; TE = 34,4; FOV = 32 × 32). Толщина среза 4,5 thk/1.0sp; 5.0 mm. Исследование позвоночника проводили в сагиттальной и коронарной проекциях. При выявлении опухолевого компонента, распространяющегося в спинно-мозговой канал, выполнялась импульсная последовательность T2FSE в аксиальной проекции. Исследование костей таза проводили в T2STIR коронарной (TR = 4940; TE = 30,3; FOV = 40 × 40), T2FSE аксиальной (TR = 5500; TE = 107; FOV = 40 × 40), T1FSE аксиальной (TR = 1400; TE = 23,6; FOV = 40 × 40), T2STIR аксиальной (TR = 5100; TE = 27,8; FOV = 40 × 40) проекциях.

Анализ изображений. Для анализа МР-изображений использовали программу «ЛИНС Махаон. Рабочая станция врача. Версия 3.3». На МР-томограммах определяли характер поражения и проводили подсчет очагов инфильтрации костного мозга. Очагом инфильтрации считали очаг измененного МР-сигнала, гиперинтенсивный на T2FSE и T2STIR, гипоинтенсивный на T1SE, размером ≥ 5 мм. Во внимание принималась

также диффузная инфильтрация костного мозга как средней (гиперинтенсивный МР-сигнал в T1ВИ по отношению к межпозвоночному диску), так и высокой (изоинтенсивный МР-сигнал в T1ВИ по отношению к межпозвоночному диску) степени выраженности. Для определения суммарного объема поражения костного мозга проводили подсчет опухолевой массы по данным МРТ по следующей методике: выявленные очаги и участки инфильтрации костного мозга с учетом интервалов интенсивности сигналов были маркированы с помощью инструмента Regions of interests (ROI) и сегментированы в режиме трехмерной реконструкции. Затем выполняли выделение выявленных изменений костного мозга от общего объема маркированных областей под контролем исходного изображения. После завершения процесса выделения всех очагов и участков инфильтрации рассчитывали величину измененного МР-сигнала для каждого больного, что расценивалось как общий объем опухолевой массы. Анализ МР-томограмм осуществляли 2 независимых рентгенолога в заслепленном режиме без доступа к информации о фазе противоопухолевого ответа после проведенного лечения.

Статистический анализ. Проведены анализ выживаемости методом Каплана–Майера (с использованием *log-rank* теста) и регрессионный анализ Кокса (с оценкой отношения рисков). Расчеты выполняли с помощью программы Statistica 10.0.

Результаты

На момент анализа живы 58 больных, из них 33 (57 %) сохраняют ПР продолжительностью 13–29 мес (медиана 17 мес) и у 19 больных диагностирована прогрессия через 5–17 мес (медиана 7 мес) после

ауто-ТГСК. В ОХЧР заболевания находятся 8 больных, смерть констатирована в 2 случаях от рефрактерного рецидива ММ.

Для определения влияния на показатели ВБП результатов МРТ, выполненной через 100 дней после ауто-ТГСК, были изучены МР-томограммы 60 больных ММ. Очаговые изменения костного мозга в количестве от 1 до 56 (медиана 6 ± 9) обнаружены у 47 из них. При этом 1–10 очагов отмечено у 40 (85 %) больных, 11–20 – у 5 (11 %), более 20 – у 2 (4 %). Общий объем опухолевой массы варьировал от 0,24 до 103 см³ (средний объем $12,8 \pm 19,0$ см³).

На рис. 1 представлены кривые ВБП для всей группы больных и в зависимости от противоопухолевого ответа, достигнутого после 1-й ауто-ТГСК. Для всей группы пациентов 2-летняя ВБП составила 63 % (медиана не достигнута). Максимальный срок наблюдения за больными, находившимися в ПР и ОХЧР заболевания, составил 29 мес, в то время как за больными с ЧР он не превышал 14 мес. Несмотря на это, получены достоверные ($p = 0,02$) различия 1-летней ВБП в зависимости от достигнутого после ауто-ТГСК противоопухолевого ответа: в группах больных с ПР и ОХЧР заболевания ВБП составила 80 % против 40 % в группе больных, находившихся в ЧР после ауто-ТГСК.

Далее был проведен анализ зависимости показателей ВБП от количества выявленных по данным МРТ очагов поражения костного мозга. Больные были разделены на 3 группы соответственно количеству очагов: не более 1 очага – 1-я группа ($n = 25$), 2–10 очагов – 2-я ($n = 28$), более 10 очагов – 3-я ($n = 7$). ВБП в течение 20 мес после выполнения МРТ была достоверно ($p < 0,05$) выше в 1-й группе и составила 75 %

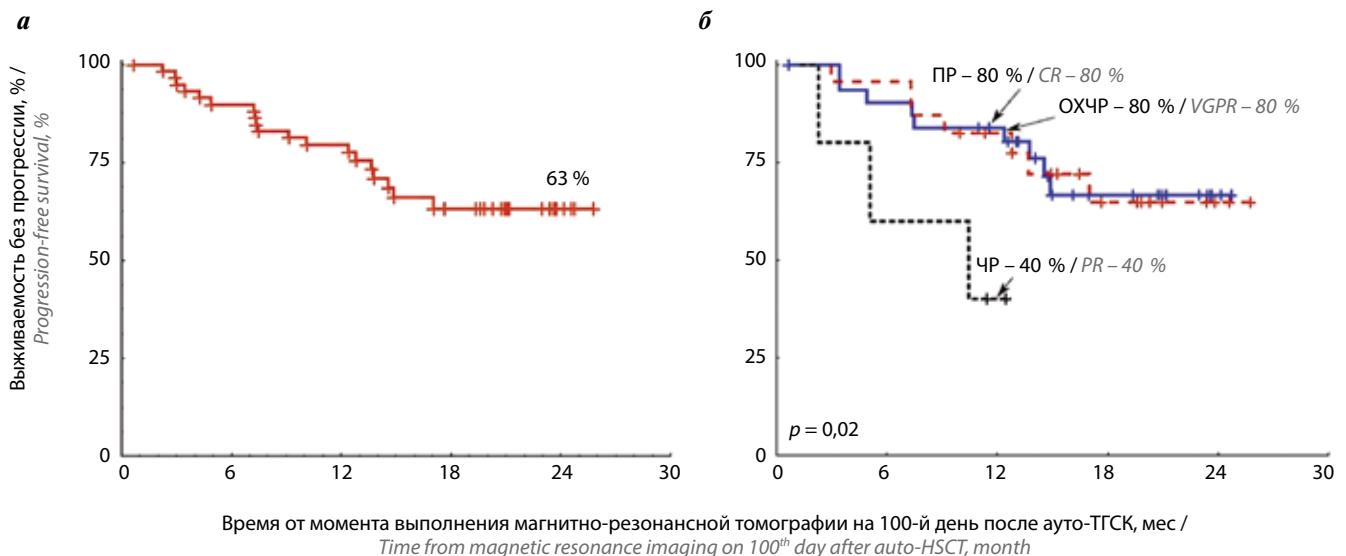


Рис. 1. Выживаемость без прогрессии для всей группы больных (а) и в зависимости от противоопухолевого ответа, достигнутого после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) (б). ПР – полная ремиссия; ОХЧР – очень хорошая частичная ремиссия; ЧР – частичная ремиссия

Fig. 1. Progression-free survival for the total patients (a) and, depending on the anti-tumor response after autologous hematopoietic stem cells transplantation (auto-HSCT) (b). CR – complete remission; VGPR – very good partial response; PR – partial response

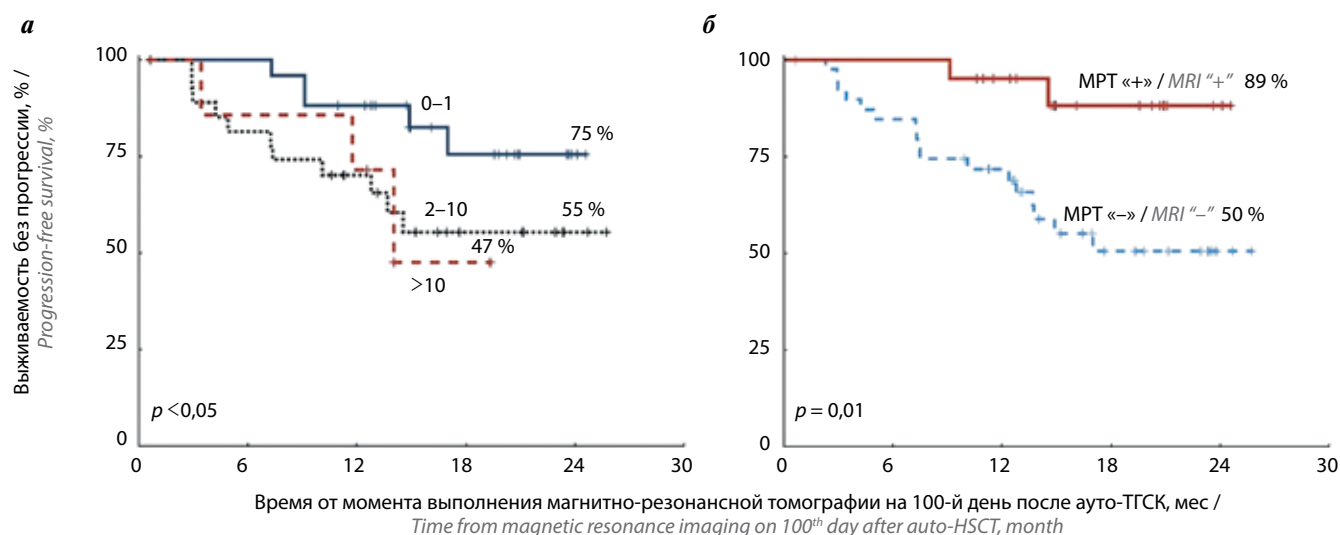


Рис. 2. Выживаемость без прогрессии больных множественной миеломой после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) в зависимости от числа очагов поражения костного мозга (а) и наличия опухолевой массы (б), выявленных по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ)

Fig. 2. Progression-free survival of multiple myeloma patients after autologous hematopoietic stem cells transplantation (auto-HSCT) depending on the number of lesions in the bone marrow (a) and the presence of tumor mass (б) detected by magnetic resonance imaging (MRI)

против 55 % во 2-й группе. ВБП у пациентов 3-й группы была равна 47 % (рис. 2а).

При подсчете общего объема опухолевой массы в костном мозге, выявленной по данным МРТ, оказалось, что у 20 больных он составлял менее 1 см³, что было расценено как отсутствие минимальной остаточной опухолевой массы, т. е. МРТ-отрицательный ответ. Фаза заболевания в этой группе была различной и включала: 12 (60 %) больных с ПР, 7 (35 %) с ОХЧР и 1 (5 %) с ЧР. У других 40 больных на 100-й день после ауто-ТГСК по данным МРТ костного мозга определяемый объем опухоли превышал 1 см³, что классифицировано как МРТ-положительный ответ. Сравнение показателей ВБП больных ММ в зависимости от наличия или отсутствия опухолевой массы на 100-й день после ауто-ТГСК выявило достоверные ($p = 0,01$) различия: при МРТ-отрицательном статусе 2-летняя ВБП составила 89 % против 50 % в группе больных с наличием остаточной опухолевой ткани (рис. 2б).

При изучении влияния на показатели ВБП совокупности 2 факторов (достигнутого после ауто-ТГСК противоопухолевого ответа и результатов МРТ) больные были разделены на 4 группы. В 1-ю группу ($n = 12$) включены больные с ПР и МРТ-отрицательным статусом, во 2-ю ($n = 20$) — с ПР и МРТ-положительным статусом, в 3-ю ($n = 8$) — больные, у которых не определялась остаточная опухоль по данным МРТ, но не была достигнута иммунохимическая ремиссия, в 4-ю ($n = 20$) — пациенты с МРТ-положительным статусом и вне ПР.

На рис. 3 представлены кривые ВБП больных ММ в зависимости от результатов МРТ и достигнутого после 1-й ауто-ТГСК противоопухолевого ответа. У больных с МРТ-отрицательным статусом после 1-й ауто-ТГСК показатели 2-летней ВБП были наиболее

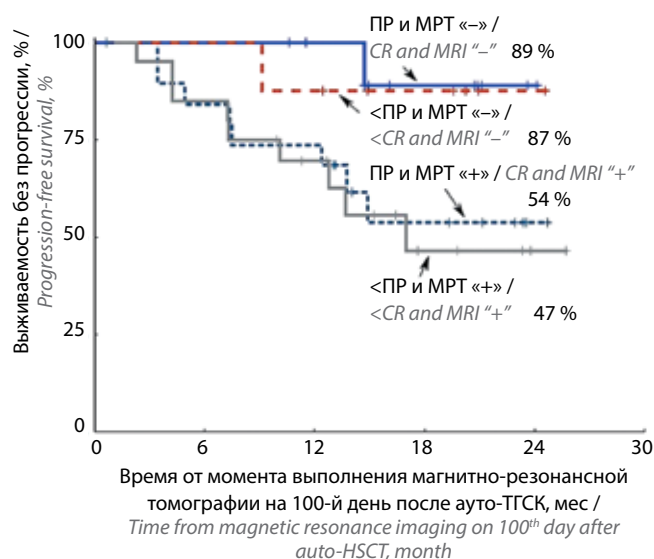


Рис. 3. Выживаемость без прогрессии больных множественной миеломой после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) в зависимости от наличия опухоли по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ) и противоопухолевого ответа. ПР — полная ремиссия

Fig. 3. Progression free survival of multiple myeloma patients after autologous hematopoietic stem cells transplantation (auto-HSCT) depending on the presence of tumor in magnetic resonance imaging (MRI) and antitumor response. CR — complete remission

высокими и практически одинаковыми (89 и 87 %) независимо от наличия или отсутствия в эти сроки ПР. При сравнении показателей 2-летней ВБП больных ММ с МРТ-положительным статусом после 1-й ауто-ТГСК не выявлено значимых различий в зависимости от глубины противоопухолевого ответа: 54 % в группе больных с ПР против 47 % в группе больных, не достигших ПР.

Таблица 1. Характеристика лечения, выполнявшегося больным множественной миеломой после осуществления 1-й ауто-ТГСК

Table 1. Characteristics of treatment in multiple myeloma patients after 1st auto-HSCT

Параметр Parameter	ПР CR		ОХЧР + ЧР VGPR + PR	
	МРТ «-» (n = 12) MRI «-» (n = 12)	МРТ «+» (n = 20) MRI «+» (n = 20)	МРТ «-» (n = 8) MRI «-» (n = 8)	МРТ «+» (n = 20) MRI «+» (n = 20)
Консолидирующая терапия, n (%): Consolidation therapy, n (%):				
2-я ауто-ТГСК 2 nd auto-HSCT	0	0	3 (38)	10 (50)
2 курса RVD 2 course RVD	0	0	1 (12)	2 (10)
Поддерживающая терапия, n (%) Maintenance therapy, n (%)	4	10	0	4 (20)
Всего, n (%) Total, n (%)	4 (33)	10 (50)	4 (50)	16 (80)
2-летняя выживаемость без прогрессии, % 2-year progression-free survival, %	89	54	87	47

Примечание. Здесь и в табл. 2: ауто-ТГСК — аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; ПР — полная ремиссия; ОХЧР — очень хорошая частичная ремиссия; ЧР — частичная ремиссия; МРТ — магнитно-резонансная томография.
Note. Here and in the table 2: auto-HSCT — autologous hematopoietic stem cell transplantation; CR — complete remission; VGPR — very good partial response; PR — partial response; MRI — magnetic resonance imaging.

Однако сопоставление показателей ВБП в группах больных, находившихся в ПР заболевания после 1-й ауто-ТГСК, но отличавшихся по МРТ-статусу, выявило достоверные ($p < 0,05$) различия: 2-летняя ВБП при отсутствии опухолевой массы в костном мозге составила 89 % против 54 % при наличии таковой на МР-томограммах. Также получены достоверные ($p < 0,05$) различия при сравнении показателей ВБП в группах больных, не достигших ПР заболевания после ауто-ТГСК, но отличавшихся по МРТ-статусу: 2-летняя ВБП больных при отсутствии опухолевого поражения костного мозга составила 87 % против 47 % в группе больных с наличием такового на МР-томограммах.

Особое внимание в нашем исследовании привлекли пациенты, не достигшие ПР после 1-й ауто-ТГСК. В табл. 1 представлена характеристика лечения, выполнявшегося больным после 1-й ауто-ТГСК. Поскольку отсутствие ПР рассматривалось нами как показание к продолжению интенсивного лечения, 50 % больных с МРТ-отрицательным статусом и 80 % пациентов с МРТ-положительным статусом получили консолидирующее лечение в виде 2-й ауто-ТГСК или 2 курсов RVD.

Высокие показатели ВБП больных в группе с МРТ-отрицательным статусом вне ПР с наибольшей долей вероятности могут быть обусловлены проведением дополнительной интенсивной консолидации. В то же время у больных вне ПР и с сохранявшейся опухолевой массой по данным МРТ высокодозная консолидация не обеспечила аналогичного противоопухолевого эффекта, но все же позволила приблизить показатели ВБП к таковым у больных с ПР и МРТ-положительным статусом.

Таблица 2. Многофакторный регрессионный анализ Кокса влияния различных клинических параметров на показатели выживаемости без прогрессии больных множественной миеломой после ауто-ТГСК

Table 2. Multivariate Cox-regression analysis of various clinical parameters for progression-free survival in multiple myeloma patients after auto-HSCT

Клинический параметр Clinical parameter	HR	p	95 % HR
Стадия заболевания по системе ISS (I + II или III) ISS stage (I + II or III)	2,3	0,2	0,4–7,0
Количество линий терапии до ауто-ТГСК (1 или 2) The number of therapy lines before auto-HSCT (1 or 2)	1,6	0,5	0,4–5,0
Костные плазмцитомы в дебюте (наличие или отсутствие) Bone plasmacytomas in debut (presence or absence)	0,6	0,4	0,2–1,7
Фаза заболевания перед ауто-ТГСК (ПР или ОХЧР + ЧР) Disease phase before auto-HSCT (CR or VGPR + PR)	0,5	0,4	0,1–2,0
Наличие опухолевой ткани по данным МРТ объемом более 1 см ³ (да или нет) The presence of tumor tissue on MRI, volume greater than 1 cm ³ (Yes or No)	0,2	0,02	0,1–0,7
Консолидирующее лечение после 1-й ауто-ТГСК (наличие или отсутствие) Consolidation therapy after 1 st auto-HSCT (presence or absence)	2,7	0,5	0,6–12,0

Примечание. HR — hazard ratio.

Таким образом, выявление остаточной опухолевой ткани методом МРТ на 100-й день после ауто-ТГСК оказалось достоверным фактором, отрицательно влияющим на показатели ВБП.

Многофакторный регрессионный анализ Кокса, сопоставивший влияние клинических параметров (стадия заболевания, количество линий терапии, наличие костных плазмочитом, противоопухолевый ответ перед ауто-ТГСК, результаты МРТ и терапия после 1-й ауто-ТГСК) на показатели 2-летней ВБП, подтвердил, что наиболее важным фактором, от которого зависела ВБП, оказалось наличие остаточной опухоли по данным МРТ костного мозга (табл. 2). Таким образом МРТ-отрицательный статус после ауто-ТГСК следует рассматривать в качестве благоприятного прогностического фактора, увеличивающего ВБП.

Обсуждение

Результаты многочисленных международных клинических исследований подтвердили эффективность консолидирующего и поддерживающего лечения больных ММ после ауто-ТГСК. Однако до настоящего времени не определены четкие показания к проведению дополнительной терапии у больных ММ, достигших ПР заболевания после ауто-ТГСК. Возможно, оценка остаточной популяции опухолевых плазматических клеток может стать одним из критериев персонализированного лечения больных в случае достижения глубокого противоопухолевого ответа после высокодозной химиотерапии.

С учетом диффузно-очагового характера поражения костного мозга при ММ, а также вероятности наличия экстрамедуллярных очагов именно визуализирующие методики предоставляют возможность провести оценку остаточного опухолевого поражения одновременно всего тела.

Результаты проведенного нами исследования показали высокую значимость МРТ, поскольку наличие очагов измененного МР-сигнала от костного мозга у больных ММ после ауто-ТГСК ассоциируется с низкими показателями ВБП. Данное наблюдение подтверждено результатами анализа числа очагов поражения костного мозга и объема опухолевой массы после ауто-ТГСК.

Статистический анализ полученных нами результатов продемонстрировал, что МРТ-положительный статус реализует свое отрицательное влияние на показатели ВБП независимо от достижения ПР после ауто-ТГСК. Представляется целесообразным учитывать результаты МРТ после ауто-ТГСК наряду со стандартными рутинными критериями противоопухолевого ответа для определения дальнейшей тактики терапии.

Возможно, дополнительная информация о статусе заболевания, представленная визуализирующими методами, позволит назначать дополнительное лечение в случае необходимости и воздержаться от дорогостоящей и токсичной терапии в случаях, где такая необходимость отсутствует.

Использование новых МРТ-режимов, таких как диффузионно-взвешенное изображение, безусловно, позволит расширить понимание биологических особенностей течения ММ и определить функциональную активность очагов поражения костного мозга после завершения противоопухолевого лечения.

Заключение

МРТ-отрицательный статус после ауто-ТГСК является благоприятным прогностическим фактором, обуславливающим продолжительную выживаемость без признаков заболевания. Обнаруживаемое методом МРТ опухолевое поражение костного мозга объемом более 1 см³ достоверно снижает показатели ВБП больных после ауто-ТГСК.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Roshal M., Flores-Montero J.A., Gao Q. et al. MRD detection in multiple myeloma: comparison between MSKCC 10-color single-tube and EuroFlow 8-color 2-tube methods. *Blood* 2017;112(12):728–32. DOI: 10.1182/bloodadvances.2016003715. PMID: 29296716.
2. Paiva B., Dongen J.J. M., Orfao A. New criteria for response assessment: role of minimal residual disease in multiple myeloma. *Blood* 2015;125(20):3059–68. DOI: 10.1182/blood-2014-11-568907. PMID: 25838346.
3. Kumar S., Paiva B., Anderson K.C. et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2016;17(8):e328–46. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30206-6. PMID: 27511158.
4. Flores-Montero J., Sanoja-Flores L., Paiva B. et al. Next Generation Flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia* 2017;31(10):2094–103. DOI: 10.1038/leu.2017.29. PMID: 28104919.
5. Solovov M., Mendeleva L., Pokrovskaya O. et al. The duration of MRD-negative status in multiple myeloma (MM) patients after auto-HSCT is a criterion for prolonged remission without maintenance therapy. *Blood* 2017;130(Suppl. 1):3294.
6. Paiva B., Vidrales M.B., Cerveró J. et al. Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Blood* 2008;112(10):4017–23. DOI: 10.1182/blood-2008-05-159624. PMID: 18669875.
7. Rawstron A.C., Child J.A., Tute R.M. et al. Minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry in multiple myeloma: impact on outcome in the Medical Research Council Myeloma IX Study. *J Clin Oncol* 2013;31(20):2540–7. DOI: 10.1200/JCO.2012.46.2119. PMID: 23733781.
8. Roussel M., Lauwers-Cances V., Robillard N. et al. Front-line transplantation program

- with lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone combination as induction and consolidation followed by lenalidomide maintenance in patients with multiple myeloma: a phase II study by the Intergroupe Francophone du Myélo. *J Clin Oncol* 2014;32(25):2712–7. DOI: 10.1200/JCO.2013.54.8164. PMID: 25024076.
9. Dimopoulos M., Terpos E., Comenzo R.L. et al. International myeloma working group consensus statement and guidelines regarding the current role of imaging techniques in the diagnosis and monitoring of multiple Myeloma. *Leukemia* 2009;23(9):1545–56. DOI: 10.1038/leu.2009.89. PMID: 19421229.
 10. Mouloupoulos L.A., Gika D., Anagnostopoulos A. et al. Prognostic significance of magnetic resonance imaging of bone marrow in previously untreated patients with multiple myeloma. *Ann Oncol* 2005;16(11):1824–8. DOI: 10.1093/annonc/mdi362. PMID: 16087694.
 11. Mouloupoulos L.A., Dimopoulos M.A., Alexanian R. et al. Multiple myeloma: MR patterns of response to treatment. *Radiology* 1994;193(2):441–6. DOI: 10.1148/radiology.193.2.7972760. PMID: 7972760.
 12. Bray T.J. P., Singh S., Latifoltajar A. et al. Diagnostic utility of whole body Dixon MRI in multiple myeloma: a multi-reader study. *PLoS One* 2017;12(7):e0180562. DOI: 10.1371/journal.pone.0180562. PMID: 28672007.
 13. Lasocki A., Gaillard F., Harrison S.J. Multiple myeloma of the spine. *Neuroradiol J* 2017;30(3):259–68. DOI: 10.1177/1971400917699426. PMID: 28423980.
 14. Dyrberg E., Hendel H.W., Al-Farra G. et al. A prospective study comparing whole-body skeletal X-ray survey with 18F-FDG-PET/CT, 18F-NaF-PET/CT and whole-body MRI in the detection of bone lesions in multiple myeloma patients. *Acta Radiol Open* 2017;6(10):2058460117738809. DOI: 10.1177/2058460117738809. PMID: 29123920.
 15. Filonzi G., Mancuso K., Zamagni E. et al. A comparison of different staging systems for multiple myeloma: can the MRI pattern play a prognostic role? *AJR Am J Roentgenol* 2017;209(1):152–8. DOI: 10.2214/AJR.16.17219. PMID: 28418695.
 16. Moreau P., Attal M., Caillot D. et al. Prospective evaluation of magnetic resonance imaging and [18F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography at diagnosis and before maintenance therapy in symptomatic patients with multiple myeloma included in the IFM/DFCI 2009 trial. *J Clin Oncol* 2017;35(25):2911–8. DOI: 10.1200/JCO.2017.72.2975. PMID: 28686535.
 17. Hillengass J., Ayyaz S., Kilk K. et al. Changes in magnetic resonance imaging before and after autologous stem cell transplantation correlate with response and survival in multiple myeloma. *Haematologica* 2012;97(11):1757–60. DOI: 10.3324/haematol.2012.065359. PMID: 22689673.
 18. Менделеева Л.П., Вотякова О.М., Покровская О.С. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению множественной миеломы. *Гематология и трансфузиология* 2016;61(1, прил. 2):1–24. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-1. [Mendeleva L.P., Votyakova O.M., Pokrovskaya O.S. et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of multiple myeloma. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and transfusiology* 2016;61(1, Suppl. 2):1–24. (In Russ.)].
 19. Sonneveld P., Avet-Loiseau H., Lonial S. et al. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group. *Blood* 2016;127(24):2955–62. DOI: 10.1182/blood-2016-01-631200. PMID: 27002115.

Вклад авторов

М.В. Соловьев: разработка концепции и дизайна исследования, сбор и обработка данных, предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи;
Л.П. Менделеева: разработка концепции и дизайна исследования, предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи, окончательное одобрение рукописи;
Г.А. Яцык, Н.С. Луцик: сбор и обработка данных, предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных;
М.В. Фирсова, Э.Г. Гемджян: предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных;
В.Г. Савченко: анализ полученных данных, окончательное одобрение рукописи, административная поддержка.

Authors' contributions

M.V. Solovov: study concept and design development, data collection and processing, provision of research materials, data analysis and interpretation, manuscript preparation;
L.P. Mendeleva: study concept and design development, provision of research materials, data analysis and interpretation, manuscript preparation, final approval of the manuscript;
G.A. Yatsyk, N.S. Lutsik: data collection and processing, provision of research materials, data analysis and interpretation;
M.V. Firsova, E.G. Gemdzian: provision of research materials, data analysis and interpretation;
V.G. Savchenko: analysis of the obtained data, final approval of the manuscript, administrative support.

ORCID авторов/ORCID of authors

М.В. Соловьев/M.V. Solovov: <https://orcid.org/0000-0002-7944-6202>
Л.П. Менделеева/L.P. Mendeleva: <https://orcid.org/0000-0002-4966-8146>
Г.А. Яцык/G.A. Yatsyk: <https://orcid.org/0000-0001-5085-4045>
Н.С. Луцик/N.S. Lutsik: <https://orcid.org/0000-0002-7556-2054>
М.В. Фирсова/M.V. Firsova: <https://orcid.org/0000-0003-4142-171X>
Э.Г. Гемджян/E.G. Gemdzian: <http://orcid.org/0000-0002-8357-977x>
В.Г. Савченко/V.G. Savchenko: <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

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

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

Статья поступила: 24.09.2018. **Принята к публикации:** 24.10.2018.

Article received: 24.09.2018. **Accepted for publication:** 24.10.2018.

Брентуксимаб ведотин (адцетрис®) в терапии системной анапластической крупноклеточной лимфомы. Клиническое наблюдение

А.А. Семенова, П.А. Зейналова, М.С. Никитина, М.И. Ахмедов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 23

Контакты: Анастасия Александровна Семенова Semenova.ronc@gmail.com

Внедрение в современную медицинскую практику новых моноклональных антител стало неотъемлемым инструментом терапии злокачественных новообразований.

Новым препаратом, зарегистрированным в феврале 2016 г. на территории России, стал брентуксимаб ведотин (адцетрис®) — анти-CD30-моноклональное антитело, конъюгированное с монометилауристатином E (SGN-35; Adcetris®). Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США одобрило адцетрис® с августа 2011 г. в качестве терапии рефрактерных/рецидивных форм лимфомы Ходжкина и анапластической крупноклеточной лимфомы.

В настоящей статье представлено описание клинического случая успешного применения брентуксимаб ведотина, сопровождающегося развитием редкого осложнения — синдрома лизиса опухоли — у пожилого пациента с первично-рефрактерным течением ALK-негативной анапластической крупноклеточной лимфомы, протекавшей с массивной эозинофилией.

Ключевые слова: брентуксимаб ведотин (адцетрис®), рецидив анапластической крупноклеточной лимфомы, эозинофилия, синдром лизиса опухоли

Для цитирования: Семенова А.А., Зейналова П.А., Никитина М.С., Ахмедов М.И. Брентуксимаб ведотин (адцетрис®) в терапии системной анапластической крупноклеточной лимфомы. Клиническое наблюдение. Онкогематология 2018;13(4):54–9.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-54-59

Brentuximab vedotin (Adcetris®) in therapy of system anaplastic large cell lymphoma. Case report

A.A. Semenova, P.A. Zeynalova, M.S. Nikitina, M.I. Akhmedov

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

The introduction of new monoclonal antibodies has become an integral part of the treatment of malignant tumors.

Brentuximab vedotin (Adcetris®) — anti-D30 monoclonal antibody conjugated with monomethyluristatin E — has become a new drug registered since February 2016 in the Russian Federation (SGN-35; Adcetris®). The Food and Drug Administration approved the Adcetris® since August 2011 as a therapy for refractory/recurrent Hodgkin's lymphoma and anaplastic large cell lymphoma.

This article describes the clinical case of successful use of Brentuximab vedotin, accompanied by the development of a rare complication — tumor lysis syndrome — in an elderly patient with primary refractory ALK-negative anaplastic large cell lymphoma with massive eosinophilia.

Key words: Brentuximab vedotin (Adcetris®), relapse of anaplastic large cell lymphoma, eosinophilia, tumor lysis syndrome

For citation: Semenova A.A., Zeynalova P.A., Nikitina M.S., Akhmedov M.I. Brentuximab vedotin (Adcetris®) in therapy of system anaplastic large cell lymphoma. Case report. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(4):54–9.

Течение лимфопролиферативных заболеваний в ряде случаев сопровождается развитием редких симптомокомплексов, которые представляют особый интерес, требуют тщательного подхода к выбору тактики лечения и оценке возможных рисков терапии. В частности, при Т-клеточных неходжкинских лимфомах описаны случаи, протекающие с выраженной гиперэозинофилией. Частота эозинофилий изучена недостаточно. По данным литературы, в общеклинической практике эозинофилия диагностируется у 7 % пациентов [1], однако точных данных относительно

развития подобного симптомокомплекса при различных вариантах лимфом не представлено.

По этиологии эозинофилии разделяют на 2 группы: реактивные (неклональные) и клональные, сопровождающие некоторые болезни кроветворной системы. Отдельно выделяют также идиопатический гиперэозинофильный синдром, являющийся диагнозом исключения первых 2 категорий заболеваний.

Клональные эозинофилии чаще характерны для миелолифопролиферативных заболеваний. Для их диагностики необходим комплекс молекулярно-генетических

исследований, включающих выявление таких основных генетических маркеров, как *PDGFRA* (ген, кодирующий синтез α -цепи рецептора к ростовому фактору, продуцируемому тромбоцитами/мегакариоцитами), *PDGFRB*, *FGFR1* (ген, кодирующий синтез рецептора к ростовому фактору, продуцируемому фибробластами), *JAK2*, *BCR-ABL* и *c-KIT*.

Реактивные эозинофилии наиболее распространены при гельминтозах, аллергических состояниях, болезнях соединительной ткани, солидных опухолях, лимфомах. В этих ситуациях эозинофилия появляется в ответ на повышенную выработку эозинофильных факторов роста. В основе патогенеза неклональных эозинофилий лежит гиперпродукция интерлейкина 5 Т-хелперами. Как правило, успешное лечение основного заболевания приводит к нормализации числа эозинофилов в крови.

В данной статье приводится описание интересного клинического наблюдения первично-рефрактерной ALK-негативной анапластической крупноклеточной лимфомы (АККЛ), которая характеризуется выраженной пролиферацией эозинофилов в периферической крови и костном мозге.

Анапластическая крупноклеточная лимфома — самостоятельный вариант Т-клеточной лимфомы с фенотипом периферических органов иммунной системы, подразделяется на системную и первичную кожную формы заболевания. Опухоль отличается экспрессией антигена CD30 и наличием или отсутствием специфичной транслокации $t(2;5)(p23;35)$, продуктом которой является химерный белок ALK, обладающий тирозинкиназной активностью [2]. На основе экспрессии белка киназы анапластической лимфомы (ALK) на поверхности злокачественных Т-клеток системную АККЛ классифицируют на ALK-позитивную и ALK-негативную.

Большинство случаев (55–85 %) системной АККЛ представлены ALK-позитивным вариантом и составляют 3 % всех неходжкинских лимфом у взрослых и 10–20 % лимфом у детей [3]. Заболевание чаще встречается у детей и лиц младше 30 лет. ALK-негативные варианты АККЛ диагностируются у более пожилых пациентов 40–65 лет (медиана возраста превышает 50 лет) [3, 4]. Болезнь характеризуется наличием нодальных и экстранодальных (кости, мягкие ткани, кожа) поражений; у большинства пациентов выявляются генерализованные III–IV стадии с периферической и забрюшинной лимфоаденопатией и В-симптомами [5].

Эффективность терапии в группе ALK-позитивной АККЛ превышает таковую в группе ALK-негативной: показатели 5-летней общей выживаемости пациентов составляют 70 и 49 % соответственно [6].

Результаты лечения по стандартной схеме СНОР в целом надо признать неудовлетворительными: примерно 40–65 % пациентов, страдающих АККЛ, имеют первичную рефрактерность или рецидив заболева-

ния [6]. Проведение в дальнейшем высокодозной терапии с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток позволяет достичь ремиссии только у трети пациентов [7]. Разработка новых подходов к терапии пациентов с АККЛ остается крайне актуальной задачей. Наиболее перспективным препаратом, который может явиться альтернативой интенсифицированных режимов полихимиотерапии при рефрактерном течении заболевания, является брентуксимаб ведотин (адцетрис®) (БВ). Это конъюгат моноклонального анти-CD30-антитела, ковалентно связанного с цитотоксическим агентом монометилауристатином Е — мощным ингибитором полимеризации тубулина. По данным многоцентрового исследования II фазы, проведенного в 22 медицинских центрах США, Канады и Европы, пациенты с рецидивом системной АККЛ после предшествующей одной и более линии терапии (наиболее распространенной из которых являлась схема СНОР) получали БВ по 1,8 мг/кг внутривенно в течение 30-минутной инфузии каждые 3 нед [8].

У 50 (86 %) из 58 пациентов, участвовавших в исследовании, достигнут объективный ответ: 33 (57 %) полных и 17 (29 %) частичных ремиссий [9, 10].

Наиболее распространенными (≥ 20 %) нежелательными явлениями являлись периферическая сенсорная нейропатия (41 %), тошнота (40 %), слабость (38 %), пирексия (34 %), диарея (29 %), сыпь (24 %), запор (22 %) и нейтропения (21 %). Осложнения III степени тяжести и более были отмечены у 60 % пациентов: нейтропения (21 %), тромбоцитопения (14 %), периферическая сенсорная нейропатия (12 %) и анемия (7 %).

Развитие синдрома лизиса опухоли наблюдалось у 1 (1,7 %) пациента после первого введения БВ. После коррекции возникшего осложнения продолжена терапия БВ (всего 8 введений), затем выполнена аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Достигнута полная ремиссия заболевания [10, 11].

Необходимо отметить, что в зарубежной и отечественной литературе не приводятся данные об эффективности терапии АККЛ, протекающей с вторичной эозинофилией, обзор доступной литературы ограничен описанием единичных клинических случаев. Нет сведений и об особенностях применения новых таргетных препаратов у этой категории больных.

Опираясь на личный опыт применения препарата БВ, мы хотим представить интересное клиническое наблюдение высокой эффективности терапии с развитием редкого осложнения — синдрома лизиса опухоли — у пожилого пациента, страдающего рефрактерной формой ALK-негативной АККЛ с массивной эозинофилией.

Клинический случай

Пациент В., 1944 года рождения (73 года), находился под наблюдением в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина с декабря 2016 г. Дебют заболевания в ноябре 2016 г., когда пациент отметил увеличение лимфатических

узлов на шее слева. Выполнена экцизионная биопсия шейного лимфатического узла. При морфологическом исследовании определялась диффузная инфильтрация лимфоидных клеток разного размера с наличием крупных лимфоидных элементов. Опухолевые клетки были CD4+, CD30+, слабо экспрессировали антигены CD3, PD1. Экспрессия CD20, CD21, PAX5 не отмечена. SXS13-положительные клетки не обнаружены. Индекс пролиферативной активности Ki-67 составлял менее 70 % положительных клеток. Экспрессия ALK не выявлена. Таким образом, верифицирован диагноз системной ALK-негативной АККЛ. При первичном обследовании определялось поражение шейных, медиастинальных лимфатических узлов, левой доли щитовидной железы — стадия ПАЕ.

По данным анамнеза и дополнительного обследования, у пациента отмечался высокий индекс коморбидности: сахарный диабет 2-го типа; диабетическая нефропатия III стадии; хроническая болезнь почек IV стадии; ангиосклероз сетчатки; ожирение III степени; ишемическая болезнь сердца: атеросклероз аорты, гипертоническая болезнь II стадии, III степени, риск 4, хроническая сердечная недостаточность I функционального класса по NYHA (диастолическая дисфункция миокарда левого желудочка по I-му типу), пароксизмальная форма мерцательной аритмии; гипотиреоз. Больной получал соответствующую сопутствующим заболеваниям сопроводительную терапию: линаглиптин (Тражента) 3 мг, глимепирид (Амарил) 4 мг, метформин (Глюкофаж-лонг) 750 мг на ночь, инсулин ~100 Ед/сут на фоне приема глюкокортикостероидов, фозиноприл (Фозикард) 6,5 мг 2 раза в сутки, Кардиомагнил 1 таблетка в сутки, L-Т4 200 мкг/сут.

С декабря 2016 г. пациенту было проведено 8 курсов полихимиотерапии по схеме СНОР. При обследовании по окончании программного лечения (июнь 2017 г.) у пациента отмечено прогрессирование основного заболевания в исходных зонах. В условиях стационара по месту жительства (июнь — август 2017 г.) выполнено 2 курса химиотерапии гемзаросодержащим режимом. При промежуточной оценке эффекта констатирован рост периферических лимфатических узлов. Пациенту выполнена повторная биопсия подмышечного лимфатического узла (09.09.2017), диагноз ALK-негативной АККЛ был подтвержден. С учетом резистентности опухоли к 2 линиям стандартной химиотерапии согласно отечественным и международным рекомендациям препаратом выбора может явиться БВ (адцетрис®).

При госпитализации в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина состояние больного соответствовало статусу 2 по ECOG, отмечались гипертермия до 38,5 °С, увеличение шейных лимфатических узлов до 2,5 см с двух сторон, слабость, бледность кожных покровов и видимых слизистых оболочек без элементов сыпи и зуда, эпизодический непродуктивный кашель, гепатоспленомегалия, диарея.

Больному были проведены обследования.

По данным клинического анализа крови (17.10.2017) выявлена гиперэозинофилия (уровни лейкоцитов 86,64 ×

10⁹/л, эритроцитов 3,81 × 10¹²/мм³, гемоглобина 11,60 г/дл, гематокрита 34,80 %, тромбоцитов 214 × 10⁹/л, палочкоядерных нейтрофил 2 %, сегментоядерных нейтрофил 15 %, лимфоцитов 5 %, моноцитов 8 %; эозинофилов 60 × 10⁹/л (70 %); скорость оседания эритроцитов 15 мм/ч).

- Результаты общего анализа крови перед 1-м курсом СНОР (декабрь 2016 г.): уровни лейкоцитов 6,30 × 10⁹/л (эозинофилов 0,39 × 10⁹/л (8 %), лимфоцитов 1,94 × 10⁹/л, моноцитов 0,64 × 10⁹/л), эритроцитов 4,08 × 10¹²/л, гемоглобина 12,30 г/дл, гематокрита 37,10 %; скорость оседания эритроцитов 12 мм/ч.
- Результаты биохимического анализа крови: уровни глюкозы 6,6 ммоль/л, мочевины 10,8 ммоль/л, креатинина 131 мкмоль/л, общего билирубина 5,9 мкмоль/л, общего белка 73,1 г/л, аспаратаминоминотрансферазы 17,9 Ед/л, лактатдегидрогеназы 735 Ед/л.
- Данные коагулограммы: активированное частичное тромбопластиновое время 28,9 с; уровни фибриногена 430 мг/дл, протромбина 54 %, международное нормализованное соотношение 1,41; уровни Д-димера 2,87 нг/мл, аденозиндифосфата 30 %.
- В миелограмме пунктат клеточный. Значительно увеличено число эозинофилов (72 %). Сужен нейтрофильный и эритроидный росток.
- Результат гистологического исследования костного мозга (трепанобиопсия подвздошной кости): миело-пролиферативное заболевание с эозинофилией?

В целях определения клональности эозинофилов и дифференциальной диагностики миело-пролиферативного заболевания с реактивной эозинофилией проведен комплекс диагностических мероприятий.

- При молекулярном и цитогенетическом исследовании крови и костного мозга методами полимеразной цепной реакции и флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) мутации генов PGRFA, PGRFB, FGFR1, BCR-ABL, JAK2, MPL1 не обнаружены.
- При стандартном цитогенетическом исследовании и FISH выявлен клон с гиперплоидным набором хромосом и комплексными перестройками кариотипа. Специфическая транслокация t(9;22)(q34;q11) не обнаружена. Убедительных данных в пользу миело-пролиферативного заболевания с клональной эозинофилией не получено.
- Исключены реактивные состояния с возможной эозинофилией (паразитарные инфекции, аллергические состояния, коллагенозы, надпочечниковая недостаточность).

До получения результатов цитогенетического анализа в целях коррекции эозинофильного лейкоцитоза пациенту начата терапия гидроксимочевойной в дозе 2000 мг (площадь тела 2,8 м²) в течение 12 дней. Отмечены снижение абсолютной эозинофилии до 25 тыс. (исходно 75 тыс.), уменьшение слабости. Однако на фоне приема гидроксимочевинной наблюдались снижение уровня тромбоцитов до 65 × 10⁹/л, анемия до 8,9 г/дл (рис. 1). Больному была проведена дезэскалация дозы до 1000 мг с дальнейшей полной отменой препарата.

После восстановления уровня тромбоцитов до $91 \times 10^9/\text{л}$ начата противоопухолевая терапия таргетным препаратом БВ (адцетрис®) в дозе 150 мг внутривенно капельно из расчета 1,8 мг/кг в течение 30 мин. Непосредственное введение было без осложнений.

Однако в 1-е сутки (через 13 ч) после введения БВ у пациента появились жалобы на одышку в покое (частота дыхания 30 в минуту), выраженную слабость, гипотензию (артериальное давление 100/60 мм рт. ст.), задержку диуреза 400 мл/сут на фоне стимуляции.

Больному выполнена рентгенография органов грудной клетки (через 14 ч после введения БВ): отмечены диффузное усиление и сгущение легочного рисунка, более



Рис. 2. Рентгенография органов грудной клетки пациента В.
Fig. 2. Chest radiography organs of patient B.

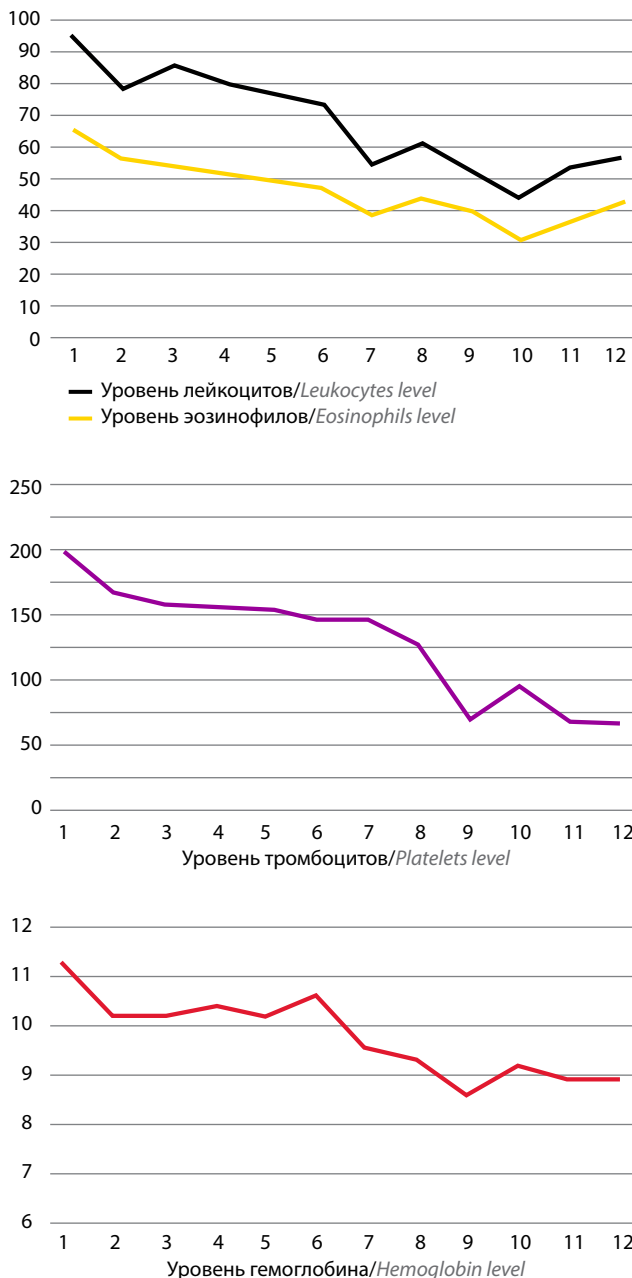


Рис. 1. Динамика снижения показателей периферической крови
Fig. 1. Dynamics of peripheral blood parameters

выраженное в нижних отделах легких с обеих сторон за счет сосудистого компонента. Рентгенологическая картина отека легких (рис. 2).

По данным лабораторных методов исследования определяются признаки развития синдрома лизиса опухоли I степени (критерии классификации Каиро-Бишоп). В биохимическом анализе крови отмечены рост уровней креатинина более чем в 1,5 раза (212 мкмоль/л), мочевины (до 19,14 ммоль/л) (рис. 3), гипергликемия (24 ммоль/л). Для дальнейшего мониторинга и коррекции развившихся осложнений пациент переведен в отделение интенсивной терапии.

Состояние пациента стабилизировалось на 4-е сутки на фоне массивной сопроводительной терапии. В серии последовательных анализов крови обращает внимание обвальное снижение уровней лейкоцитов и эозинофилов с 88 до $10 \times 10^9/\text{л}$ (через 5 дней после введения БВ), тромбоцитов с 90 до $36 \times 10^9/\text{л}$ (см. рис. 3).

По данным инструментальных обследований отмечено уменьшение размеров контрольных лимфатических узлов более чем на 70 % (через 3 дня после введения БВ). Таким образом, на фоне только одного введения БВ имеет место «драматический» противоопухолевый ответ с развитием синдрома лизиса опухоли.

Пациент был выписан из стационара на 10-е сутки в стабильном состоянии с рекомендациями последующих введений БВ 1 раз в 3 недели в условиях стационара по месту жительства под строгим контролем показателей крови.

Опыт применения БВ (адцетрис®) в НМИЦ онкологии Н.Н. Блохина ограничен в большинстве случаев терапией рецидивов лимфомы Ходжкина. Как правило, это молодые пациенты с низкой коморбидностью, иной биологической характеристикой опухолевых клеток и, как следствие, с другим, более благоприятным, профилем токсичности препарата. Несмотря на то что случаи развития синдрома лизиса опухоли при терапии БВ единичны, необходима оценка риска

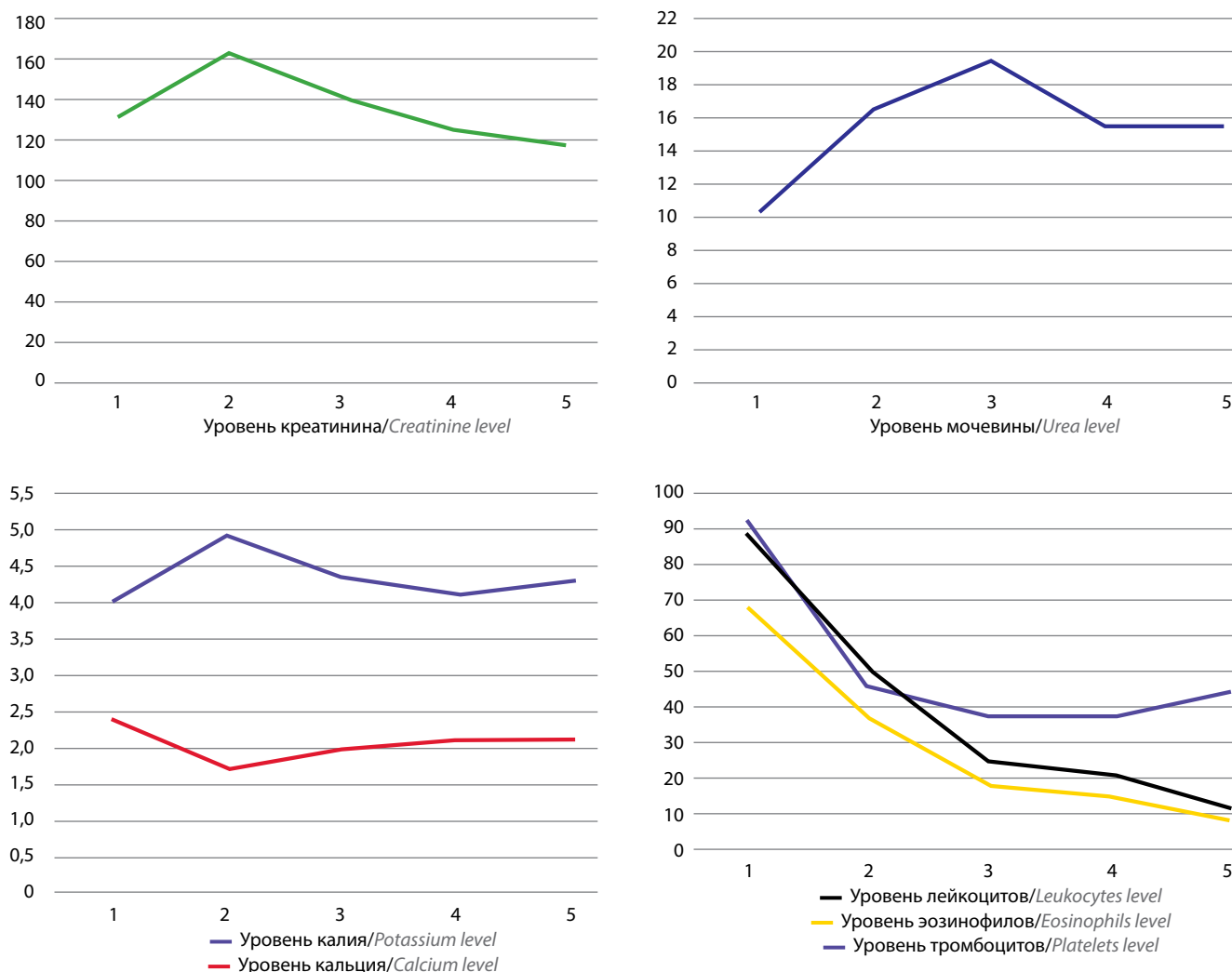


Рис. 3. Динамика изменений показателей общего и биохимического анализов крови (1–5-й день после введения брентуксимаб ведотина)

Fig. 3. Dynamics of Complete blood count and blood biochemistry (1–5th day after administration of Brentuximab vedotin)

данного осложнения в каждом конкретном случае. Пациенты с риском развития синдрома лизиса опухоли должны находиться под постоянным наблюдением

врача, получать интенсивную гидратацию с мониторингом функции почек, состояния сердечно-сосудистой и легочной системы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гематология: национальное руководство. Под ред. О.А. Рукавицына. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 776 с. [Hematology: national guidelines. Ed.: O.A. Rukavitsin. Moscow: GEOTAR-Media, 2015. 775 p. (In Russ.)].
2. Семенова А.А. Клинико-морфологические особенности анапластических крупноклеточных лимфом. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2008. [Semenova A.A. Clinical and morphological features of anaplastic large cell lymphomas. Author's abstract of thesis ... of candidate medical sciences. Moscow, 2008. (In Russ.)].
3. Stein H., Foss H.D., Dürkop H. et al. CD30 (+) anaplastic large-cell lymphoma: review of its histopathologic genetic and clinical features. Blood 2000;96(12):3681–95. PMID: 11090048.
4. Falini B. Anaplastic large-cell lymphoma: pathological, molecular and clinical features. Br J Hematol 2001;114(4):741–60. PMID: 11564061.
5. ten Berge R.L., de Bruin P.C., Oudejans J.J. et al. ALK-negative anaplastic large-cell lymphoma demonstrates similar pool prognosis to peripheral T-cell lymphoma, unspecified. Histopathology 2003;43(5):462–9. PMID: 14636272.
6. Pro B., Advani R., Brice P. et al. Brentuximab vedotin (SGN-35) in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large-cell lymphoma: results of a phase II study. J Clin Oncol 2012;30(18):2190–6. DOI: 10.1200/JCO.2011.38.0402. PMID: 22614995.
7. Adcetris® FDA: полная информация о назначении. Неблагоприятные реакции. Доступно по: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/125388s00051bl.pdf. [Adcetris®

- FDA: full appointment information. Adverse reactions. Available at: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/125388s0005lbl.pdf. (In Russ.)].
8. Vaklavas C., Forero-Torres A. Safety and efficacy of brentuximab vedotin in patients with Hodgkin lymphoma or systemic anaplastic large cell lymphoma. *Ther Adv Hematol* 2012;3(4):209–25. DOI: 10.1177/2040620712443076. PMID: 23606932.
9. Cairo M.S., Bishop M. Tumor lysis syndrome: new therapeutic strategies and classification. *Br J Haematol* 2004;127(1):3–11. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05094.x. PMID: 15384972.
10. Wang R., Li L., Zhang S., et al. A novel enediyne-integrated antibody – drug conjugate shows promising antitumor efficacy against CD30+ lymphomas. *Mol Oncol* 2018;12(3):339–55. DOI: 10.1002/1878-0261.12166. PMID: 29316337.
11. Gandolfi L., Pellegrini C., Casadei B. et al. Long-term responders after brentuximab vedotin: single-center experience on relapsed and refractory hodgkin lymphoma and anaplastic large cell lymphoma patients. *Oncologist* 2016;21(12):1436–41. DOI: 10.1634/theoncologist.2016-0112. PMID: 27486201.

Вклад авторов

А.А. Семенова: анализ полученных данных (включая статистический), обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;
П.А. Зейналова: разработка дизайна исследования;
М.С. Никитина, М.И. Ахмедов: получение данных для анализа.

Authors' contributions

A.A. Semenova: analysis of the obtained data (including statistical), reviewing of publications on the article's topic, article writing;
P.A. Zeynalova: study design development;
M.S. Nikitina, M.I. Akhmedov: obtaining data for analysis.

ORCID авторов/ORCID of authors

А.А. Семенова/A.A. Semenova: <https://orcid.org/0000-0003-4951-3053>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Пациент подписал информированное согласие на публикацию своих данных.

Informed consent. The patient gave written informed consent to the publication of his data.

Влияние злокачественных новообразований на состояние костно-мышечной системы у детей (обзор литературы)

О.А. Тихонова¹, Н.Ю. Крутикова¹, А.Ф. Карелин², Е.В. Жуковская², А.Г. Румянцев²

¹ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 214019 Смоленск, ул. Крупской, 28;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1

Контакты: Ольга Андреевна Тихонова olya.tikhonova.sm@gmail.com

Благодаря успешной реализации современных технологий лечения на любом этапе терапии детей с онкогематологическими заболеваниями их общая и безрецидивная выживаемость значительно увеличилась. Согласно последним наблюдениям у 80 % детей после окончания специального лечения злокачественных новообразований сохраняются изменения со стороны различных органов и систем разной степени выраженности. Практически все пациенты находятся в группе риска по поздним осложнениям со стороны костно-мышечной системы, но данному вопросу уделяется мало внимания. Поэтому оценка отдаленных осложнений со стороны опорно-двигательного аппарата и минерального обмена у пациентов, разработка их комплексной реабилитации и профилактики являются актуальной проблемой детской онкологии и гематологии. В настоящем обзоре обобщены данные об отдаленных осложнениях со стороны костно-мышечной системы после специальной терапии. Показана необходимость гармонизации подходов к диагностике и коррекции не только наиболее распространенных осложнений, но и мало изученных состояний, таких как снижение минерализации костной ткани. Отмечено, что своевременное мультидисциплинарное реабилитационное лечение детей в ремиссии может не только корректировать последствия основного заболевания, сопутствующей патологии и специальной терапии, но и снижать инвалидизацию детей.

Ключевые слова: безрецидивная выживаемость, дети, злокачественное новообразование, минеральный обмен, опорно-двигательный аппарат

Для цитирования: Тихонова О.А., Крутикова Н.Ю., Карелин А.Ф. и др. Влияние злокачественных новообразований на состояние костно-мышечной системы у детей (обзор литературы). Онкогематология 2018;13(4):60–6.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-60-66

Impact of malignant neoplasms on musculoskeletal system in children (literature review)

O.A. Tikhonova¹, N. Yu. Krutikova¹, A.F. Karelin², E.V. Zhukovskaya², A.G. Rumyantsev²

¹Smolensk State Medical University; 28 Krupskoy St., Smolensk 214019, Russia;

²Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology; 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia

Because of the successful implementation of modern treatment technologies at any stage of therapy of children with oncohematological diseases, their overall and disease-free survival has increased significantly. According to recent observations, 80 % of children after the completion of a special antitumor treatment continue to have changes of different organs. Almost all patients are at risk for late complications from the musculoskeletal system but little attention is paid to this issue. Evaluation of long-term complications from the musculoskeletal system and mineral metabolism in patients, development of their complex rehabilitation and prevention is an actual problem of pediatric oncology and hematology. This review summarizes data on long-term complications from the musculoskeletal system after special therapy. The necessity of diagnostics approaches harmonization and correction of not only the most common complications, but also little studied conditions, such as reduction of bone mineralization, is shown. It is noted that multidisciplinary rehabilitation treatment of children in remission can not only correct the consequences of the underlying disease, concomitant pathology and the consequences of special therapy but also reduce the disability of children.

Key words: disease-free survival, child, neoplasm, mineral exchange, musculoskeletal system

For citation: Tikhonova O.A., Krutikova N. Yu., Karelin A.F. et al. Impact of malignant neoplasms on musculoskeletal system in children (literature review). Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(4):60–6.

Детская онкология является одной из актуальных проблем здравоохранения во всем мире [1, 2]. По данным Всемирной организации здравоохранения,

злокачественные новообразования (ЗНО) у детей всего мира встречаются часто, занимая 2-е место после травм и несчастных случаев [3, 4]. В России также

продолжается неуклонный рост числа онкологических заболеваний у детей. В российских онкологических учреждениях к концу 2015 г. на учете состояли 17 515 детей в возрасте 0–14 лет и 22 484 ребенка в возрасте 0–17 лет.

В структуре заболеваемости ЗНО у детей до 14 лет удельный вес гемобластозов составил 44,4 %. Солидные опухоли встречались у 55,6 % пациентов в возрасте до 15 лет. Наиболее частыми локализациями ЗНО были головной мозг и другие отделы нервной системы (18,8 %), почки (6,9 %), мягкие ткани (4,7 %), кости и суставные хрящи (4,1 %). Особенно возрастает актуальность онкологии у детей и подростков, так как благодаря новым технологиям и развивающейся системе скрининга все чаще ЗНО выявляют у детей более раннего возраста [5, 6].

ЗНО у детей особенно опасны тем, что они развиваются в возрасте, когда происходит становление иммунной, нервной, эндокринной, костно-мышечной систем, формируются морфофункциональные особенности, психические и личностные качества ребенка. Поэтому при нарушении какой-либо структуры в организме ребенка запускается «эффект домино» — меняется работа не только этих, но и других органов и систем. Это приводит к дисгармоничности развития организма и ограничивает возможности жизнедеятельности, способствуя появлению социальной недостаточности [7].

Благодаря успешной реализации современных технологий лечения на любом этапе терапии детей и подростков с онкогематологическими заболеваниями их общая и безрецидивная выживаемость значительно увеличилась [8, 9]. После внедрения и использования новых протоколов интенсивной химиотерапии, комбинированного лечения 5-летняя выживаемость детей с опухолями головного мозга достигла 25–60 % (в зависимости от локализации и распространенности), опухолями костей и мягких тканей — 60–65 %, неходжкинскими лимфомами — 60–70 %, острым лимфобластным лейкозом — 70–80 %, нефробластомами — 75 %, ретинобластомой — до 90 %, лимфогранулематозом — 95 % [10, 11].

Однако у столь интенсивного лечения есть и обратная сторона. Агрессивное лечение, включающее химиотерапию, облучение, иммунодепрессанты, оказывает влияние не только на опухоль, но и на здоровые ткани. Это приводит к увеличению частоты и тяжести осложнений со стороны различных органов и систем во время лечения [12].

В отдаленном периоде после окончания лечения оно способствует углублению метаболических и структурных изменений органов и систем [13]. Согласно последним наблюдениям у 80 % детей со ЗНО после окончания специального лечения сохраняются изменения со стороны различных органов и систем разной степени выраженности [14, 15]. Все это значительно снижает качество жизни пациентов и может стать причиной ограничения в выборе профессии, противопоказанием для службы в армии, проблемой в ре-

продуктивной сфере, а также привести к инвалидизации в социально активном возрасте [16].

Особенно часто говорится об отрицательном влиянии на центральную нервную и сердечно-сосудистую системы, желудочно-кишечный тракт, почки [17].

Исследования на тему изменения опорно-двигательного аппарата единичны. В доступных научных публикациях мало работ, посвященных изучению кальциевого обмена и костного метаболизма у детей, перенесших лечение ЗНО, хотя этот вопрос весьма актуален, так как рассматривая вопрос о физических нарушениях, можно смело заявить, что те или иные проблемы наблюдаются у всех пациентов [18].

Костная ткань является живой динамической структурой, которая участвует в гомеостазе кальция, фосфора, карбоната, других микроэлементов, а также в регуляции кислотно-основного равновесия. Также она тесно контактирует с гемопоэтической системой (красным костным мозгом), имея с ней общий пул клеток-предшественников и местных регуляторных факторов. Кроме того, минеральный матрикс костей скелета обладает способностью связывать некоторые токсины и ионы металлов (как тяжелых, так и легких), что имеет значение в минимизации их токсического воздействия на клетки других органов [19].

Костная ткань играет большую роль в кальций-фосфорном обмене. До недавнего времени ее участие в данном виде обмена рассматривали исключительно в том плане, что кость — основное место действия паратиреоидного гормона (ПТГ) или кальцитриола. В настоящее время установлено, что фактор роста фибробластов 23, продуцируемый остеocytes костной ткани, сам является активным гормоном, участвующим в поддержании уровня фосфатов крови (фосфатурический фактор), наряду с кальцитриолом и ПТГ. Теперь ауто-сомно-доминантную форму гипофосфатемического рахита связывают с генетически детерминированным дефицитом фактора роста фибробластов 23 [20, 21].

В свою очередь, остеобласты синтезируют остеокальцин, который участвует в энергетическом обмене организма и увеличивает интенсивность продукции инсулина Р-клетками поджелудочной железы и адипонектина в жировой ткани [20].

В процессе развития ребенка опорные структуры скелета проходят последовательные этапы формирования, во время которых происходят изменения микроструктуры и степени минерализации костного матрикса [22]. В результате формируется пиковая костная масса, которая определяет прочность и устойчивость скелета в последующие годы жизни. Ее снижение является прогностическим фактором развития остеопороза, нарушений осанки, переломов в дальнейшей жизни [23–25].

Поскольку костная ткань — динамическая структура, ее физиологические свойства могут изменяться в зависимости от возраста, условий питания, мышечной деятельности, состояния нервной и эндокринной

систем, наличия сопутствующей патологии внутренних органов и других экзогенных факторов. Также костная ткань способна приспосабливаться к внешним воздействиям, под влиянием которых происходит изменение внутренней структуры и внешней формы кости. Это возможно благодаря непрерывным процессам разрушения старой и построения новой кости (ее ремоделированию) [19].

Специфическое лечение ЗНО является крайне агрессивным экзогенным фактором и вызывает стойкие изменения в организме пациента.

Пациенты, перенесшие ЗНО, находятся в группе риска по поздним осложнениям со стороны костно-мышечной системы, таким как дефицит костной прочности (ДКП), нарушение роста костей, мышечная гипотрофия, деформирующие дорсопатии (нарушение осанки и сколиоз), переломы и аваскулярный некроз, нервно-мышечные нарушения, снижение толерантности к физической нагрузке [26–30].

Раннее обнаружение и коррекция нарушений могут снизить тяжесть поздних осложнений со стороны опорно-двигательного аппарата. Для этого необходимо хорошо представлять взаимосвязь между самой онкологией, ее терапией и отдаленными последствиями относительно костно-мышечной системы [31].

Каждая деталь важна для прогнозирования успешности лечения и возможных отрицательных воздействий на костно-мышечную систему. ДКП у онкологических больных может вызываться большим количеством различных факторов. К ним относят тип онкологии, способы лечения (химиотерапия, лучевая терапия), наличие осложнений со стороны эндокринной системы (дефицит гормона роста или гипогонадизм), давность диагноза, пол пациента, генетическую предрасположенность, особенности питания и образа жизни.

Онкология сама по себе — причина снижения костной прочности. От 10 до 20 % детей с острым лимфобластным лейкозом имеют в качестве сопутствующего состояния ДКП. Установлено, что одной из причин является то, что лейкозные клетки при инфильтрации костей секретируют ПТГ и пептид, родственные ПТГ, которые стимулируют резорбцию кальция из костной ткани [32].

Давно известно, что различные группы химиотерапевтических препаратов, такие как кортикостероиды, метотрексат, алкилирующие агенты, напрямую или косвенно влияют на ДКП.

Кортикостероиды оказывают прямое отрицательное влияние на процессы ремоделирования, опосредованно ухудшают качество костной ткани. В процессе лечения острого лимфобластного лейкоза пациенты длительно получают глюкокортикоиды, в 39 % случаев диагностируют переломы, что приводит к уменьшению длительности приема гормонов в последующих протоколах [33]. Глюкокортикоиды оказывают действие на продукцию и активность других гормонов, влияющих на костный и кальциевый метаболизм (го-

надотропные гормоны, гормон роста, инсулиноподобный фактор роста 1). Они ингибируют образование новой костной ткани путем угнетения резорбции остеокластов [34]. Также они ингибируют 1 α -гидроксирование витамина D, что ведет к уменьшению усвоения кальция в кишечнике. Высокие дозы преднизолона (≥ 20 г/м²) являются фактором риска развития остеопении у пациентов со злокачественной лимфомой [32]. После завершения лечения клиническая картина уменьшается, однако эти пациенты еще в течение длительного времени имеют повышенный риск остеопении и переломов [35].

Метотрексат, обладая гепатотоксичностью, опосредованно влияет и на снижение костной прочности [36]. Также он супрессирует активность остеобластов, но стимулирует пополнение рядов остеокластов, в итоге формирование костной ткани замедляется, а ее резорбция ускоряется. Причем высокие кумулятивные дозы метотрексата связаны с большей встречаемостью остеопении. При превышении общей дозы более 4 г/м² увеличивается риск остеопении и невозможности восстановления нормальной минеральной прочности костей после завершения терапии препаратом [32].

Алкилирующие агенты, такие как циклофосфамид и ифосфамид, вызывают гипогонадизм, который, в свою очередь, ведет к нарушению формирования кости. Эстроген играет ключевую роль в достижении и поддержании на должном уровне пика костной прочности, предохраняя от резорбции и стимулируя ростовые факторы костной ткани. Андрогены важны для наращивания надкостницы. Практически все противоопухолевые препараты оказывают нефротоксическое действие, результатом которого может быть гипофосфатемия и некоторые метаболические болезни костей [19].

Другие лекарственные препараты, такие как винкристин, даунорубин, этопозид, аспарагиназа, угнетают синтез коллагена I-го типа (который синтезируется остеобластами в виде предшественника проколлагена I-го типа) — основного белка, составляющего 90 % органического матрикса кости. Результаты недавних исследований показали, что ингибирующее действие L-аспарагиназы на синтез белка и нейротоксичность винкристина могут быть причиной потери мышечной силы и гибкости [37, 38].

Лучевая терапия — наиболее опасный фактор риска возникновения остеопороза, особенно у пациентов с опухолями головного мозга. Облучение может влиять на минеральную костную прочность, непосредственно разрушая костный мозг, а также вызывая дефицит гормонов — половых и соматотропного [39]. Дети, которые получили лучевую терапию на область гипофиза в дозе 44 Гр, через 4 года после лечения в 93 % случаев имели дефицит гормона роста [40], который важен для достижения нормальной пиковой костной массы и поддержания ее на должном уровне [41]. При тотальном облучении тела пациентов детского возраста практически в 100 % случаев наблюдается

дефицит гормона роста [35]. Краниальное и общее облучение могут приводить к дефициту гормона роста и центральному гипогонадизму, каждый из которых ведет к ДКП [42]. Некоторые авторы отмечают задержку роста у пациентов не только из-за дефицита гормона роста, но и из-за нарушения роста позвонков после облучения у детей различного возраста, не достигших полового созревания [43].

Механизмы непосредственного влияния лучевой терапии на функции костно-мышечной системы до конца не ясны. Считается, что излучение угнетает митоз миосателлитных клеток-предшественников [44], нарушает проницаемость клеточной мембраны и может привести к отказу натрий-калиевого насоса в нервно-мышечном соединении [45]. Кроме того, воспаление после облучения приостанавливает рост мышц, а радиационно-индуцированное сосудистое и паренхиматозное повреждение может влиять на мышечное питание, тем самым приводить к миопатии, способствующей мышечной атрофии, фиброзу и гипоплазии [46]. Наибольшими факторами риска для вышеописанных осложнений являются маленький возраст пациента и большие дозы облучения ≥ 20 Гр [47]. Отдаленные эффекты наиболее распространены среди выживших пациентов с опухолью Вильмса и нейробластомой, так как они встречаются в раннем возрасте [48]. Также часто страдают от поздних осложнений пациенты с саркомами, поскольку получают высокие дозы облучения.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток вызывает ДКП у трети пациентов [49]. Основные факторы риска — малый возраст пациентов или незрелость, которым сопутствуют небольшая масса тела и показатель индекса массы тела, недостаток кальция [50]. Сама процедура вызывает серьезные стойкие количественные и качественные нарушения у предшественников остеобластов. Метотрексат, стероиды, травматическое повреждение мозга, высокие дозы алкилирующих агентов, являясь частью лечения, также наносят удар по состоянию костной прочности. Кроме того, они влияют на функцию половых желез [51], повреждают почки и печень, вызывают дисфункцию кишечника и уменьшение абсорбции, а соответственно, нарушение метаболизма кальция и витамина D [52, 53].

Часто пациенты, выжившие после онкологических заболеваний, не достигают оптимальной костной массы из-за недостаточности питания или физической активности. Многие пациенты не получают необходимого количества нутриентов во время лечения, госпитализации и вынужденной иммобилизации, поэтому у них нарушен обмен кальция, магния, 1,25-дигидроксивитамина D. Также зачастую такие дети во время лечения и после него не вовлекаются в занятия каким-либо видом физической нагрузки. Физическую активность может ограничивать боль на фоне остеопении у детей с опухолями головного мозга. Поэтому при уменьшении физической активности ухудшается уровень костной минерализации [32, 41].

Направление реабилитации онкологических пациентов в России находится в начальной стадии развития, хотя основная часть пациентов, перенесших опухолевые заболевания, нуждаются в комплексной реабилитации, в частности в восстановлении двигательных функций [11].

Данный факт ставит новую организационную задачу — разработать и внедрить в практику медицинскую реабилитационно-адаптационную программу детей со ЗНО. Она необходима для формирования компенсации функций организма, нарушенных как вследствие развития заболевания, так и в результате проведенной терапии [18].

Поскольку способность к движению является базовой характеристикой жизни, она определяет развитие и калибровку сенсорных, когнитивных и психических процессов. Крайне важна онтогенетическая физическая реабилитация в виде кинезиотерапии, использующей методики проприоцептивного ремоделирования и реинтеграции двигательных стереотипов, механотерапии, роботизированных комплексов с биологической обратной связью для лучшего реабилитационного прогноза пациентов, перенесших ЗНО [26].

В настоящем обзоре обобщены данные о влиянии ЗНО и их терапии на костно-мышечную систему и прочность костной ткани. К сожалению, сейчас существует мало исследований, анализирующих влияние терапии ЗНО на физическое состояние пациентов, особенно их опорно-двигательного аппарата и костной прочности. Поэтому необходимо продолжить работу по документированию и анализу отдаленных последствий у пациентов, получавших химиотерапию, лучевую терапию, хирургическую помощь [54–56].

Необходима гармонизация подходов к диагностике и коррекции не только наиболее распространенных осложнений, но и мало изученных состояний, таких как снижение минерализации костной ткани [57].

Ранняя диагностика, лечение осложнений со стороны костно-мышечной системы и реабилитация пациентов — главные факторы улучшения как результатов лечения, так и качества жизни детей, вылеченных от ЗНО [58]. Необходимо разработать стандарты и обеспечить регулярность диспансерного наблюдения, организовать реабилитацию детей, перенесших такое тяжелое заболевание.

Реабилитационные мероприятия должны быть максимально ранними и активными. Особое внимание следует уделить коррекции нарушений физического состояния и костно-мышечной системы. Существует необходимость своевременного проведения остеоденситометрии, участия врача-ортопеда, реабилитолога, специалиста ЛФК в реабилитационных мероприятиях.

Своевременное мультидисциплинарное реабилитационное лечение детей в ремиссии может не только корректировать последствия основного заболевания, сопутствующей патологии и специальной терапии, но и снижать инвалидизацию.

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

1. Честнов О., Ульрих А., Вартанян К. Борьба Всемирной организации здравоохранения с детским раком. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2016;3(4):56–9. DOI: 10.17650/2311-1267-2016-3-4. [Chestnov O., Ulrich A., Vartanyan K. WHO struggle against childhood cancer. Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = The Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2016;3(4):56–9. (In Russ.)].
2. WHO. Globocan 2008: cancer incidence and mortality worldwide. Available at: <http://globocan.iarc.fr> (accessed Jan 2, 2013).
3. Papathoma P., Thomopoulos T., Karalexi M.A. et al. Childhood central nervous system tumours: incidence and time trends in 13 Southern and Eastern European cancer registries. Eur J Cancer 2015;51(11):1444–55. DOI: 10.1016/j.ejca.2015.04.014. PMID: 25971531.
4. Колосов А.Е., Мильчаков Д.Е. Злокачественные опухоли у детей. Вятский медицинский вестник 2015;58(2):55–8. [Kolosov A.E., Milchakov D.E. Malignant tumors in children. Vaytskiy meditsinskiy vestnik = Medical Newsletter of Vyatka 2015;58(2):55–8. (In Russ.)].
5. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2015 (morbidity and mortality). Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMIRTS” Minzdrava Rossii, 2017. 250 p. (In Russ.)].
6. Мень Т.Х., Поляков В.Г., Алиев М.Д. Эпидемиология злокачественных новообразований у детей в России. Онкопедиатрия 2014;1:5–12. [Men T.Kh., Polyakov V.G., Aliev M.D. Epidemiology of childhood cancer in Russia. Onkopediatriya = Oncopediatrics 2014;1:5–12. (In Russ.)].
7. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2015. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2013 (morbidity and mortality). Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMIRTS” Minzdrava Rossii, 2015. 250 p. (In Russ.)].
8. Баянова Н.А., Маколдина И.М., Набиуллина В.В., Пантелеева Е.В. Злокачественные новообразования в формировании детской инвалидности в Оренбургской области. Российский онкологический журнал 2013;6:33–3. [Bayanova N.A., Makoldina I.M., Nabiullina V.V., Panteleeva E.V. Malignant neoplasms in the formation of childhood disability in the Orenburg region. Rossiyskiy onkologicheskii zhurnal = Russian Journal of Oncology 2013;6:33–5. (In Russ.)].
9. Румянцев А.Г., Володин Н.Н., Касаткин В.Н., Митраков Н.Н. Концепция медицинской, нейрокогнитивной и психолого-социальной реабилитации детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями. Вестник восстановительной медицины 2015;1:7–15. [Rumyantsev A.G., Volodin N.N., Kasatkin V.N., Mitrakov N.N. The concept of medical, neurocognitive, psychological and social rehabilitation of children with cancer and hematological diseases. Vestnik vosstanovitelnoy meditsiny = Bulletin of Rehabilitation Medicine 2015;1:7–15. (In Russ.)].
10. Жуковская Е.В., Бондаренко В.П., Карелин А.Ф. Предпосылки изучения содержания микроэлементов в биосубстратах у детей и подростков с онкологическими заболеваниями в период реабилитации. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований 2016;9(часть 3):365–8. [Zhukovskaya E.V., Bondarenko V.P., Karelin A.F. The background of study of trace elements content in biosubstrates of children and adolescents with oncological diseases in rehabilitation period. Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy = International Journal of Applied and Basic Research 2016;9(Part 3):365–8. (In Russ.)].
11. Цейтлин Г.Я., Володин Н.Н., Румянцев А.Г. Современные подходы и направления реабилитации детей с онкологическими заболеваниями. Вестник восстановительной медицины 2015;1:7–15. [Tseytlin G.Ya., Volodin N.N., Rumyantsev A.G. Current approaches to rehabilitation of children with cancer. Vestnik vosstanovitelnoy meditsiny = Bulletin of Rehabilitation Medicine 2015;1:7–15. (In Russ.)].
12. Поляков В.Г. Обращение к участникам VI съезда детских онкологов. Онкопедиатрия 2015;2(3):173. [Polyakov V.G. Address to the participants of the VI Congress of Pediatric Oncologists. Onkopediatriya = Oncopediatrics 2015;2(3):173. (In Russ.)].
13. Чечельницкая С.М., Касаткин В.Н., Баербах А.В. и др. Толерантность к физическим нагрузкам и причины ее снижения у детей, переживших онкологическое заболевание. Вестник Московского городского педагогического университета. Серия: Естественные науки 2017;27(3):54–64. [Chechel'nitskaya S.M., Kasatkin V.N., Baerbakh A.V. et al. Exercise tolerance and the reasons for its decline in children who survived cancer. Vestnik Moskovskogo gorodskogo pedagogicheskogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki = Bulletin of the Moscow City Pedagogical University. Series: Natural Sciences 2017;27(3):54–64. (In Russ.)].
14. Kinahan K.E., Sharp L.K., Seidel K. et al. Scarring, disfigurement, and quality of life in long-term survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. J Clin Oncol 2012;30(20):2466–74. DOI: 10.1200/JCO.2011.39.3611. PMID: 22614987.
15. Киргизов К.И. Поздние осложнения у детей, перенесших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (обзор литературы). Российский журнал детской гематологии и онкологии 2017;4(2):29–39. [Kirgizov K.I. Late effects in children after hematopoietic stem cell transplantation (review). Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = The Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2017;4(2):29–39. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2311-1267-2017-4-2-29-39.
16. Поспелова Т.И., Солдатова Г.С., Пуртова Л.А. и др. Отдаленные последствия противоопухолевой терапии гемобластозов и подходы к реабилитации больных. Гематология и трансфузиология 2012;57(S3):73–4. [Pospelova T.I., Soldatova G.S., Purtova L.A. et al. Long-term effects of antitumor therapy and approaches to the rehabilitation of patients with hematological malignancies. Gematologiya i transfusiologiya = Hematology and Transfusiology 2015;57(S3):73–4. (In Russ.)].
17. Спичак И.И., Богачева М.В., Билялутдинова Д.И. и др. Частота стероидного диабета на программной полихимиотерапии у детей с лимфобластным лейкозом. Педиатрический вестник Южного Урала 2014;1–2:30–3. [Spichak I.I., Bogacheva M.V., Bilyalutdinova D.I. et al. Frequency of steroid diabetes on program polychemotherapy at children with acute lymphoblastic leukemia. Pediatricheskii vestnik Uyzhnogo Urala = Pediatric Bulletin of South Ural 2014;1–2:30–3. (In Russ.)].

18. Сковцова Ю.В., Масчан А.А., Делягин В.М. и др. Актуальные вопросы наблюдения, диагностики и реабилитации пациентов на отдаленных сроках после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Российский журнал детской онкологии и гематологии 2014;1(2):13–8. DOI: 10.17650/2311-1267-2014-0-2-13-18. [Skvortsova Yu. V., Maschan A. A., Delyagin V. M. et al. The follow-up, diagnosis, and rehabilitation of patients in late periods following hematopoietic stem cell transplantation: Topical issues. Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = The Russian Journal of Children Hematology and Oncology 2014;1(2):13–8. (In Russ.)].
19. Володин Н.Н., Касаткин В.Н., Цейтлин Г.Я. и др. Стратегия медико-психолого-социальной реабилитации детей с гематологическими и онкологическими заболеваниями. Онкогематология 2015;10(1):7–15. DOI: 10.17650/1818-8346-2015-1-7-15. [Volodin N. N., Kasatkin V. N., Tseytlin G. Ya. et al. Strategy of medical, psychological and social rehabilitation for children with haematological and oncological diseases. Onkogematologiya = Oncohematology 2015;10(1):7–15. (In Russ.)].
20. Смирнов А.В., Румянцев А.Ш. Строение и функции костной ткани в норме и при патологии. Сообщение I. Нефрология 2014;18(6):9–25. [Smirnov A. V., Rumyantsev A. Sh. Bone tissue function and structure under normal and pathological conditions. Message I. Nefrologiya = Nephrology 2014;18(6):9–25. (In Russ.)].
21. Quarles L. D. Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. J Clin Invest 2008;118(12):3820–8. DOI: 10.1172/JCI36479. PMID: 19033649.
22. Fukumoto S., Martin T. J. Bone as an endocrine organ. Trends Endocrinol Metab 2009;20(5):230–6. DOI: 10.1016/j.tem.2009.02.001. PMID: 19546009.
23. Крутикова Н.Ю. Особенности определения костной прочности у детей по данным количественной ультрасонометрии. Смоленский медицинский альманах 2016;15(3):89–98. [Krutikova N. Yu. Determining features of bone strength in children according to quantitative ultrasonometry. Smolenskiy meditsinskiy al'manakh = Smolensk Medical Almanac 2016;15(3):89–98. (In Russ.)].
24. Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. Снижение минеральной плотности кости у детей и подростков: причины, частота развития, лечение. Вопросы современной педиатрии 2015;14(5):573–8. DOI: 10.15690/vsp.v14i5.1442. [Maltsev S. V., Mansurova G. Sh. Reduced bone mineral density in children and adolescents: causes, incidence and treatment. Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics 2015;14(5):573–8. (In Russ.)].
25. Рябухин Ю.В., Крутикова Н.Ю., Пересецкая О.В. Клиническое значение оценки прочности костной ткани у 6-летних детей, родившихся недоношенными. Детская больница 2011;3:35–8. [Ryabukhin Yu. V., Krutikova N. Yu., Peresetskaya O. V. Clinical implications of bone strength assessment in six-year-old children born preterm. Detskaya bol'nitsa = Children Hospital 2011;3:35–8. (In Russ.)].
26. Остеопороз: руководство для врачей. Под ред. О.М. Лесняк. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 64 с. [Osteoporosis: a physician guide. Ed.: O. M. Lesnyak. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. 64 p. (In Russ.)].
27. Ткаченко И.В., Тесленко Б.В., Румянцев А.Г. Комплексная реабилитация детей с острым лимфобластным лейкозом в состоянии длительной ремиссии. Онкогематология 2009;4(2):42–51. [Tkachenko I. V., Teslenko B. V., Rumyantsev A. G. Complex rehabilitation of children with acute lymphoblastic leukemia in long-term remission. Onkogematologiya = Oncohematology 2009;4(2):42–51. (In Russ.)].
28. Wilson C. L., Ness K. K. Bone mineral density deficits and fractures in survivors of childhood cancer. Curr Osteoporosis Rep 2013;11(4):329–37. DOI: 10.1007/s11914-013-0165-0. PMID: 24043370.
29. Wasilewski-Masker K., Kaste S. C., Hudson M. M. et al. Bone mineral density deficits in survivors of childhood cancer: long-term follow-up guidelines and review of the literature. Pediatrics 2008;121(3):e705–13. DOI: 10.1542/peds.2007-1396. PMID: 18310191.
30. Kaste S. C., Karimova E. J., Neel M. D. Osteonecrosis in children after therapy for malignancy. AJR Am J Roentgenol 2011;196(5):1011–8. DOI: 10.2214/AJR.10.6073. PMID: 21512065.
31. Li X., Brazauskas R., Wang Z. et al. Avascular necrosis of bone after allogeneic hematopoietic cell transplantation in children and adolescents. Biol Blood Marrow Transplant 2014;20(4):587–92. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.12.567. PMID: 24388803.
32. Gawade P. L., Hudson M. M., Kaste S. C. et al. A systematic review of selected musculoskeletal late effects in survivors of childhood cancer. Curr Pediatr Rev 2015;10(4):249–62. PMID: 25403639.
33. Kang M. J., Lim J. S. Bone mineral density deficits in childhood cancer survivors: pathophysiology, prevalence, screening, and management. Korean J Pediatr 2013;56(2):60–7. DOI: 10.3345/kjp.2013.56.2.60. PMID: 23482662.
34. Halton J. M., Atkinson S. A., Fraher L. et al. Altered mineral metabolism and bone mass in children during treatment for acute lymphoblastic leukemia. J Bone Miner Res 1996;11(11):1774–83. DOI: 10.1002/jbmr.5650111122. PMID: 8915786.
35. Драгунова Н.В., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я. Состояние костно-мышечной системы при эндогенном гиперкортицизме. Остеопороз и остеопатии 2012;15(3):18–24. DOI: 10.14341/osteo2012318–24. [Dragunova N. V., Belaya Zh. E., Rojzhinskaya L. Ya. The musculoskeletal system in patients with endogenous hypercorticism. Osteoporosis and bone diseases 2012;15(3):18–24. (In Russ.)].
36. Радулеску Г.Г., Матченкова Н.В., Белогурова М.Б. Эндокринологические осложнения у пациентов, получивших противоопухолевую терапию в детском возрасте. Педиатр 2016;7(1):120–8. DOI: 10.17816/PED71120–128. [Radulescu G. G., Matchenkova N. V., Belogurova M. B. The endocrinologic complications in children after anticancer treatment. Pediatr = Pediatrician 2016;7(1):120–8. (In Russ.)].
37. Васильева Л.В., Евстратова Е.Ф., Курбатова Т.Л. Применение количественной ультрасонометрии (кус) в амбулаторных условиях у пациентов псоритическим артритом, принимающих кортикостероидную терапию. Остеопороз и остеопатии 2016;19(2):53–4. DOI: 10.14341/osteo2016253–54. [Vasil'eva L. V., Evstratova E. F., Kurbatova T. L. The use of quantitative ultrasonometry (qus) on an outpatient basis in patients with psoriatic arthritis, receiving corticosteroid therapy. Osteoporosis i osteopatii = Osteoporosis and Bone Diseases 2016;19(2):53–4. (In Russ.)].
38. Ness K. K., Hudson M. M., Pui C. H. et al. Neuromuscular impairments in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: associations with physical performance and chemotherapy doses. Cancer 2012;118(3):828–38. DOI: 10.1002/cncr.26337. PMID: 21766297.
39. Hartman A., van den Bos C., Stijnen T., Pieters R. Decrease in peripheral muscle strength and ankle dorsiflexion as long-term side effects of treatment for childhood cancer. Pediatr Blood Cancer 2008;50(4):833–7. DOI: 10.1002/pbc.21325. PMID: 17763466.
40. Cohen L. E., Gordon J. H., Popovsky E. Y. et al. Bone density in post-pubertal adolescent survivors of childhood brain

- tumors. *Pediatr Blood Cancer* 2012;58:959–63. DOI: 10.1002/pbc.23300. PMID: 22431246.
41. Laughton S.J., Merchant T.E., Sklar C.A. et al. Endocrine outcomes for children with embryonal brain tumors after risk adapted craniospinal and conformal primary-site irradiation and high-dose chemotherapy with stem cell rescue on the SJBM-96 trial. *J Clin Oncol* 2008;26(7):1112–8. DOI: 10.1200/JCO.2008.13.5293. PMID: 18309946.
 42. Children's Oncology Group. Long-Term Follow-Up Guidelines for Survivors of Childhood, Adolescent, and Young Adult Cancers. Version 3.0. Arcadia, CA: Children's Oncology Group, 2008. Available at: <http://www.survivorshipguidelines.org>. Accessed November 4, 2009.
 43. Kang M.J., Kim S.M., Lee Y.A., et al. Risk factors for osteoporosis in long-term survivors of intracranial germ cell tumors. *Osteoporos Int* 2012;23(7):1921–9. DOI: 10.1007/s00198-011-1821-9. PMID: 22057549.
 44. Chow E.J., Friedman D.L., Yasui Y. et al. Decreased adult height in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the childhood cancer survivor study. *J Pediatr* 2007;150(4):370–5. DOI: 10.1016/j.jpeds.2006.11.036. PMID: 17382112.
 45. Caiozzo V.J., Giedzinski E., Baker M. et al. The radiosensitivity of satellite cells: cell cycle regulation, apoptosis and oxidative stress. *Radiat Res* 2010;174(5):582–9. DOI: 10.1667/RR2190.1. PMID: 20726709.
 46. Leyko W., Bartosz G. Membrane effects of ionizing radiation and hyperthermia. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1986;49(5):743–70. PMID: 3009342.
 47. Gawade P.L., Hudson M.M., Kaste S.C. et al. A systematic review of selected musculoskeletal late effects in survivors of childhood cancer. *Curr Pediatr Rev* 2014;10(4):249–62. PMID: 25403639.
 48. Van Dijk I.W., Oldenburger F., Cardous-Ubbink M.C. et al. Evaluation of late adverse events in long-term wilms' tumor survivors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010;78(2):370–8. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2009.08.016. PMID: 20137867.
 49. Green D.M., Kun L.E., Matthay K.K. et al. Relevance of historical therapeutic approaches to the contemporary treatment of pediatric solid tumors. *Pediatr Blood Cancer* 2013;60(7):1083–94. DOI: 10.1002/pbc.24487. PMID: 23418018.
 50. Petryk A., Polgreen L.E., Zhang L. et al. Bone mineral deficits in recipients of hematopoietic cell transplantation: the impact of young age at transplant. *Bone Marrow Transplant* 2014;49(2):258–3. DOI: 10.1038/bmt.2013.156. PMID: 24121211.
 51. Greer F.R., Krebs N.F. Optimizing bone health and calcium intakes of infants, children, and adolescents. *Pediatrics* 2006;117(2):578–85. DOI: 10.1542/peds.2005-2822. PMID: 16452385.
 52. Metzger M.L., Meacham L.R., Patterson B. et al. Female reproductive health after childhood, adolescent, and young adult cancers: guidelines for the assessment and management of female reproductive complications. *J Clin Oncol* 2013;31(9):1239–47. DOI: 10.1200/JCO.2012.43.5511. PMID: 23382474.
 53. Benmiloud S., Steffens M., Beaufoye V. et al. Long-term effects on bone mineral density of different therapeutic schemes for acute lymphoblastic leukemia or non-Hodgkin lymphoma during childhood. *Horm Res Paediatr* 2010;74(4):241–50. DOI: 10.1159/000313397. PMID: 20395671.
 54. Le Meignen M., Auquier P., Barlogis V. et al. Bone mineral density in adult survivors of childhood acute leukemia: impact of hematopoietic stem cell transplantation and other treatment modalities. *Blood* 2011;118(6):1481–9. DOI: 10.1182/blood-2011-01-332866. PMID: 21596857.
 55. Kun L.E. General principles of radiation oncology. Eds.: P.A. Pizzo, D.G. Poplack. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health, 2011. Pp. 406–425.
 56. Pui C.H., Mullighan C.G., Evans W.E., Relling M.V. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there? *Blood* 2012;120(6):1165–74. DOI: 10.1182/blood-2012-05-378943. PMID: 22730540.
 57. Shamberger R.C. Cooperative group trials in pediatric oncology: the surgeon's role. *J Pediatr Surg* 2013;48(1):1–13. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2012.10.068. PMID: 23331786.
 58. Nieder M.L., McDonald G.B., Kida A. et al. National cancer institute-national heart, lung and blood institute/pediatric blood and marrow transplant consortium first international consensus conference on late effects after pediatric hematopoietic cell transplantation: long-term organ damage and dysfunction. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17(11):1573–84. DOI: 10.1016/j.bbmt.2011.09.013. PMID: 21963877.

Вклад авторов

О.А. Тихонова: обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

Н.Ю. Крутикова, А.Ф. Карелин, Е.В. Жуковская, А.Г. Румянцев: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contributions

O.A. Tikhonova: reviewing of publications on the article's topic, article writing;

N.Yu. Krutikova, A.F. Karelin, E.V. Zhukovskaya, A.G. Rumyantsev: study design development, reviewing of publications on the article's topic.

ORCID авторов/ORCID of authors

О.А. Тихонова/O.A. Tikhonova: <https://orcid.org/0000-0003-0927-6786>

Н.Ю. Крутикова/N.Yu. Krutikova: <http://orcid.org/0000-0003-0900-078x>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 06.04.2018. Принята к публикации: 14.11.2018.

Article received: 06.04.2018. Accepted for publication: 14.11.2018.

Целесообразность проведения KIR-типирования при подборе донора для аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: обзор литературы

В.В. Захарова

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

Контакты: Виктория Витальевна Захарова hla.dgoi@gmail.com

Естественные киллерные (*natural killer, NK*) клетки являются 1-й популяцией лимфоцитов, которая восстанавливается после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). После того как в 2002 г. L. Rugerri и соавт. показали роль NK-аллореактивности при гаплоидентичной ТГСК, появилось множество противоречивых исследований о NK-аллореактивности при гаплоидентичной и совместимой неродственной ТГСК. Современные представления говорят о влиянии на NK-аллореактивность трансплантационного протокола – вида режима кондиционирования, процессинга трансплантата, а также пост-трансплантационной профилактики реакции «трансплантат против хозяина».

Ключевые слова: иммуноглобулиноподобные рецепторы киллерных клеток, KIR-типирование, HLA-типирование, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

Для цитирования: Захарова В.В. Целесообразность проведения KIR-типирования при подборе донора для аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: обзор литературы. Онкогематология 2018;13(4):67–74.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-67-74

Role of KIR typing in donor selection prior to allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: literature review

V.V. Zakharova

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

Natural killer (NK) cells are the first population to recover after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Since the report in 2002 by L. Rugerri et al. showing the effectiveness of NK cell alloreactivity in haploidentical stem cell transplantation, a lot of conflicting studies have appeared about the role of NK alloreactivity in haploidentical and matched unrelated donor transplantations. Current studies demonstrate that the beneficial effects of donor NK alloreactivity are dependent on the transplant protocol – conditioning regimen, graft processing procedure and graft-versus-host disease.

Key words: killer cell immunoglobulin-like receptors, KIR typing, HLA typing, hematopoietic stem cell transplantation

For citation: Zakharova V.V. Role of KIR typing in donor selection prior to allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: literature review. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(4):67–74.

Введение

Совместимость донора и реципиента по молекулам человеческого лейкоцитарного антигена (Human Leukocyte Antigen, HLA) исторически является важнейшим фактором, определяющим исходы трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). В то же время результаты ряда исследований показали влияние на исход ТГСК других генов, таких как семейство иммуноглобулиноподобных рецепторов (killer cell immunoglobulin-like receptors, KIR) естественных киллерных (*natural killer, NK*) клеток и малые антигены гистосовместимости [1, 2].

Впервые L. Rugerri и соавт. продемонстрировали феномен влияния NK-аллореактивности, предсказан-

ной по модели «лиганд–лиганд», на выживаемость реципиентов с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) при аллогенной HLA-гаплоидентичной ТГСК [3]. После опубликования этих результатов было проведено множество аналогичных ретроспективных исследований для разных типов ТГСК по всему миру. Выполненные исследования крайне редко показывали статистически достоверные результаты, но, что удивительно, в большинстве из них были получены полностью противоположные ожидаемым данные – отрицательное влияние NK-аллореактивных доноров.

Современные представления объясняют разнообразие результатов влияния NK-аллореактивности

на эффективность ТГСК, главным образом, особенностями трансплантационных протоколов [4].

Развитие представлений об НК-аллореактивности

До начала 1990-х годов считалось, что аллореактивность у человека — врожденное свойство Т-лимфоцитов. В нескольких публикациях А. Moretta и соавт. в начале 1990-х годов впервые показано, что небольшая часть НК-клонов способна лизировать аллогенные фитогемагглютининстимулированные бласты [5, 6]. Различные клоны НК-клеток лизировали различные клетки-мишени, определяя таким образом несколько различных аллоспецифичностей [7]. Результаты последующих исследований показали, что специфичности клеток-мишеней определяют молекулы HLA-B и HLA-C на их поверхности [8, 9]. Необычным был тот факт, что аллореактивные НК-клетки лизировали только те клетки-мишени, которые не имели на своей поверхности соответствующего HLA (механизм «отсутствия своего»), что в корне отличалось от Т-клеточной аллореактивности (механизм «измененное свое»). Экспериментально было показано, что аллели HLA-C могут быть разделены на 2 группы в зависимости от присутствия аспарагина (C1-группа) или лизина (C2-группа) в аминокислотной позиции 80 альфа-2 домена тяжелой цепи, т. е. специфичность аллореактивных НК-клонов определяется данными эпитопами на поверхности клетки-мишени [10]. Отсутствие аллеля с соответствующей аминокислотой в позиции 80 на поверхности клетки-мишени приводит к ее лизису. Также в соответствии с хорошо известными серологическими группами Bw4 и Bw6 были идентифицированы НК-клоны, обладающие специфичностью по отношению к аналогичным эпитопам для аллелей HLA-B в зависимости от аминокислотных остатков в позициях 77–80. Однако для аллелей HLA-B были идентифицированы только НК-клоны, способные к лизису клеток-мишеней, у которых отсутствует эпитоп Bw4 [11, 12].

Точный механизм, объясняющий данный феномен, когда отсутствие лиганда (эпитопа) приводило к лизису НК-клеткой клетки-мишени, стал понятен с открытием семейства иммуноглобулиноподобных рецепторов НК-клеток — KIR. Каждая НК-клетка экспрессирует набор, состоящий из нескольких ингибирующих и активирующих KIR. Эпитопы C1, C2 и Bw4 распознаются различными ингибирующими KIR. Толерантность НК-клеток к собственным неповрежденным тканям организма приобретает в процессе так называемого «обучения» и «лицензирования», при котором в ходе созревания НК-клетки, ее KIR взаимодействуют с молекулами HLA I класса и впоследствии развитие аутореактивности исключается («функционально молчащие» рецепторы). Как правило, сигналы от ингибирующих и активирующих KIR сбалансированы и здоровые клетки не уничтожаются. Однако при вирусной инфекции или опухолевой

трансформации клетки экспрессируют молекулы HLA I класса нарушается, что приводит к преобладанию сигналов от активирующих KIR, и клетка уничтожается. Это уникальное свойство НК-клеток было описано как гипотеза «missing self», или «отсутствия своего» [12].

Впервые роль НК-аллореактивности в ТГСК была показана в 2002 г. L. Ruggeri и соавт. Реципиенты с ОМЛ, получившие HLA-гаплоидентичную ТГСК от потенциально аллореактивного донора, имели 60 % 5-летнюю выживаемость по сравнению с 5 % у реципиентов с донором без потенциальной НК-аллореактивности. В случае потенциальной аллореактивности донора у реципиента существенно снижался риск развития рецидива, отторжения трансплантата и развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Донор в данном исследовании считался потенциально аллореактивным в случае отсутствия у реципиента 1 из 3 лигандов для ингибирующих KIR (C1, C2, Bw4), присутствующих у донора. В экспериментах на мышах было показано, что отторжению трансплантата препятствуют донорские аллореактивные НК-клетки, уничтожающие Т-лимфоциты реципиента. Одновременно с этим аллореактивные НК-клетки донора уничтожали антигенпредставляющие клетки (АПК) реципиента и остаточные лейкоэмические клетки, тем самым препятствуя развитию острой РТПХ и снижая риск развития рецидива соответственно [3]. Интересно, что аналогичного эффекта не получено для реципиентов с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), что объяснялось предположением о неспособности НК-клеток уничтожать клетки ОЛЛ из-за отсутствия экспрессии молекул, обеспечивающих межклеточное взаимодействие, таких как ICAM-1 [13]. Уникальной особенностью клинических и лабораторных экспериментов L. Ruggeri и соавт. являлось использование чистой популяции клеток CD34+ для трансплантации и отсутствие фармакологической иммуносупрессии после ТГСК. В этих условиях НК-клетки донора интенсивно восстанавливаются в первые недели после трансплантации в отсутствие Т-лимфоцитов [3].

Модели аллореактивности

НК-клетки являются 1-й популяцией лимфоцитов, которая восстанавливается после аллогенной ТГСК, и могут оказывать сильный эффект «трансплантат против лейкоза», основанный на их аллореактивности.

Для характеристики влияния взаимодействия НК-клеток и их лигандов на исходы аллогенной ТГСК используют 3 модели.

1. Модель «лиганд–лиганд» основана на особенностях функционирования НК-клеток и предполагает, что если у реципиента отсутствуют как минимум 1 или более KIR лигандов (C1, C2 или Bw4), которые имеются у донора, донорские НК-клетки могут быть аллореактивны по отношению к реципиенту (потенциальная аллореактивность в направлении «трансплантат против лейкоза»). Данная модель была подтверждена

результатами экспериментальных исследований на мышах в университете Перуджи [3]. Согласно этой модели отсутствие лигандов у реципиента необходимо, но недостаточно для формирования потенциально аллореактивных клонов НК-клеток. Необходимо также присутствие у донора гена, кодирующего ингибирующий рецептор к отсутствующему у реципиента лиганду. Поскольку результаты популяционного исследования показали, что ингибирующие KIR гены присутствуют у 95 % людей, предположение о наличии соответствующего KIR у донора будет корректно на 95 % [14, 15]. Соответственно, определение KIR-генотипа донора повысит точность исследования. Данная модель не применима для трансплантаций, в которых донор и реципиент являются HLA-идентичными. Однако для неродственных с несовпадением по HLA-B или HLA-C и гаплоидентичных аллогенных ТГСК данная модель применима [4].

2. Модель «рецептор—лиганд» не принимает во внимание донорские KIR лиганды, поэтому применима для любого вида аллогенной ТГСК. По этой модели аллореактивность достигается в случае наличия у донора KIR, к которому нет лиганда у реципиента. Эта модель основана на предположении, подтвержденном исследованием экспрессии KIR на поверхности НК-клеток методом проточной цитометрии в ранний посттрансплантационный период. В первые 90 дней после ТГСК вновь развивающиеся НК-клетки, экспрессирующие ингибирующие KIR, временно могут быть аллореактивными к клеткам реципиента без соответствующих лигандов. В этот период такие аллореактивные клоны НК-клеток могут оказывать такой же эффект, как и в предыдущей модели. В последующем, когда костный мозг восстанавливается и НК-клетки проходят «обучение» и «лицензирование», аллореактивные клоны больше не образуются [14]. Частный случай данной модели — “missing ligand” («отсутствие лиганда»). Это менее точная модель, в которой на основании популяционного исследования предполагается, что у большинства доноров есть все ингибирующие KIR гены, поэтому при отсутствии хотя бы одного из лигандов у реципиента (C1, C2 или Bw4) считается, что донор потенциально аллореактивен [4].

3. Модель, анализирующая влияние отдельных KIR генов, а также общего количества KIR генов донора без учета HLA реципиента и донора. Эта модель наименее изучена, и предполагается, что чем больше количество KIR на НК-клетке донора, тем выше вероятность того, что различие между KIR лигандами донора и реципиента будет определяться НК-клетками [16].

Также, можно выделить 4-ю модель НК-аллореактивности. Данная модель основана на том, что ингибирующий KIR2DL1 и активирующий KIR2DS1 имеют общую лиганд-специфичность и взаимодействуют с HLA-C, относящимися к группе C2 [17]. Так, было показано, что НК-клетки доноров, гомозиготные по

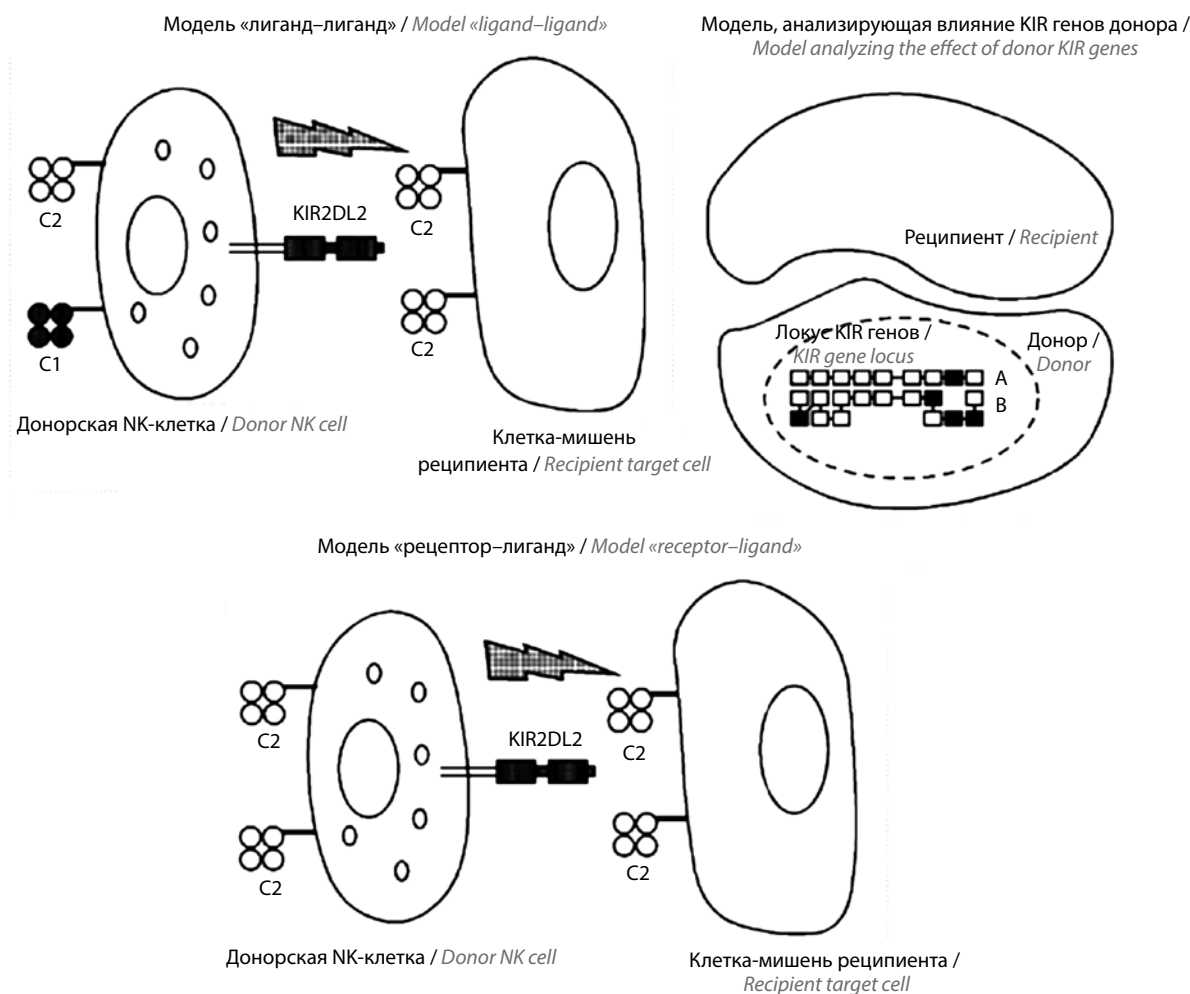
лиганду C1 и имеющие в своем генотипе KIR2DS1, активируются *in vitro* клетками В-лимфобластоидной клеточной линии, экспрессирующими на своей поверхности лиганд C2. Такая активация происходит, в частности, благодаря отсутствию распознавания лиганда C1 ингибирующими KIR2DL2/3. При этом, помимо присутствия KIR2DS1, гомозиготность донора по лиганду C1 является главным условием, поскольку при наличии у донора аллеля из группы C2 его НК-аллореактивность существенно снижается *in vitro* [18]. Тем не менее вклад активирующих KIR в иммунный ответ остается до конца неизученным.

Три основных модели аллореактивности схематично представлены на рисунке.

Роль НК-аллореактивности в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Как уже было сказано, после опубликования результатов L. Rugerri и соавт. множество трансплантационных центров провели свои собственные ретроспективные исследования, изучающие влияние НК-аллореактивности по модели «лиганд—лиганд» на исходы различных типов ТГСК. В небольшой части этих исследований обнаружен благоприятный эффект потенциальной НК-аллореактивности донора, в то время как результаты подавляющего большинства исследований продемонстрировали отрицательный эффект [4]. Такие неоднозначные данные могут быть объяснены результатами исследований НК-аллореактивности на мышах, которые показывают противоположные эффекты [19]. Помимо положительного эффекта относительно предотвращения РТПХ, в этих исследованиях было продемонстрировано, что НК-клетки могут выполнять эффекторную функцию в развитии РТПХ [20]. Возможность взаимодействия АПК реципиента с Т-лимфоцитами донора определяется соотношением количества Т-клеток и НК-клеток в трансплантате. Низкое значение соотношения Т/НК (мало Т-клеток) будет способствовать НК-опосредованному уничтожению АПК у реципиента, тем самым препятствуя взаимодействию с донорскими Т-лимфоцитами, в то время как высокое значение соотношения Т/НК (много Т-клеток) будет способствовать взаимодействию Т-лимфоцитов с АПК и тем самым развитию РТПХ.

Результаты 2 современных исследований демонстрируют, что присутствие донорских Т-лимфоцитов в трансплантате препятствует проявлению НК-клеточной аллореактивности [21, 22]. Т. Yabe и соавт. исследовали НК-аллореактивность по модели «лиганд—лиганд» в группе 1395 реципиентов, получивших неродственную ТГСК. Из них в группе реципиентов ($n = 91$), получавших анти timoцитарный глобулин в рамках трансплантационного протокола, в случае потенциально НК-аллореактивного донора риск развития РТПХ был достоверно ниже, чем в группе реципиентов, не получавших анти timoцитарный глобулин [22]. Эти



Модели аллореактивности естественных киллерных клеток (NK)
Natural killer (NK) cell alloreactivity models

результаты существенно подкрепляют наблюдения, что НК-аллореактивность может иметь полностью противоположные эффекты в зависимости от количества донорских Т-лимфоцитов. Однако это не означает, что анти timоцитарный глобулин — единственный фактор, благоприятно влияющий на исход ТГСК. Так, S. Cooley и соавт. показали, что присутствие донорских Т-клеток может влиять на развитие НК-аллореактивности у вновь образующихся НК-клеток в посттрансплантационный период. Было продемонстрировано, что Т-клетки в трансплантате, не влияя на абсолютное количество НК-клеток, способствуют отсроченному формированию KIR на вновь формирующихся НК-клетках у реципиента [21].

Еще один момент, вызывающий вопросы, — это источник происхождения и время жизни аллореактивных донорских НК-клеток в Т-деплементированных трансплантатах. Современная методика Т-деплеции включает селекцию CD34-клеток, что эффективно удаляет НК- и Т-клетки из трансплантата. Возникает вопрос, может ли оставшееся небольшое количество НК-клеток оказаться достаточным, чтобы способствовать лизису АПК, остаточных лейкоэмических клеток

и Т-лимфоцитов реципиента. В то же время не до конца понятно, могут ли НК-клетки, вновь развивающиеся из стволовых клеток донора, оказывать положительный аллореактивный эффект у реципиента. Для того чтобы предотвратить РТПХ, которая обычно развивается не позднее 100-го дня после ТГСК, аллореактивные НК-клетки должны уничтожить АПК реципиента до того, как они начнут взаимодействовать с донорскими Т-лимфоцитами. Очевидно, это должно произойти практически сразу после ТГСК, и кажется совершенно невероятным, что за такой короткий срок вновь развивающиеся НК-клетки достигнут достаточного для этого количества [4]. Уничтожение остаточных лейкоэмических клеток может происходить в течение более длительного периода и может, соответственно, быть функцией вновь образующихся НК-клеток. Для этого требуется, чтобы вновь развивающиеся НК-клетки были аллореактивны по отношению к реципиенту, т. е. «обучены» распознавать лиганды, отсутствующие у донора (если они развивались в доноре), и, соответственно, для этого необходимо взаимодействие с HLA донора при «обучении». Однако происхождение клеток, чьи HLA влияют на «обучение»

НК-клеток, до конца неизвестно. Если источник таких клеток не гемопоэтического происхождения, вновь развивающиеся НК-клетки в клеточном окружении реципиента будут толерантны к HLA реципиента и, соответственно, не аллореактивны. Если же источник — донорские клетки гемопоэтического происхождения, такие вновь развивающиеся НК-клетки будут аллореактивными, возможно, всю жизнь реципиента. Таким образом образуется очень эффективный, долгосрочный антилейкемический механизм. Однако возникает вопрос, почему такие аллореактивные НК-клетки не атакуют другие ткани реципиента, на поверхности клеток которых отсутствует соответствующий ингибирующий HLA-лиганд, с учетом того, что НК-клетки играют роль эффекторов для развития РТПХ [23, 24].

Посттрансплантационный мониторинг за НК-клетками внес некоторую ясность в эти моменты, но данные противоречивы. Несколько групп исследователей проводили наблюдение за посттрансплантационной экспрессией KIR на НК-клетках и их аллореактивностью. Было показано, что после проведения аллогенных ТГСК, в ранний посттрансплантационный период, НК-клетка характеризуется относительно незрелым фенотипом, а именно имеет высокую экспрессию NKG2A и совсем незначительную KIR, что, вероятно, говорит о низком потенциале аллореактивности [25, 26]. В другом исследовании L. Vago и соавт. подсчитали количество НК-клеток в ранний посттрансплантационный период, имеющих на своей поверхности только один KIR (single KIR positive) для HLA-гаплоидентичных с Т-деплецией ТГСК. И на 30-й, и на 60-й день после ТГСК НК-клетки экспрессировали только NKG2A, а single KIR positive не образовывались в значительных количествах до 75-го дня после ТГСК. Вполне возможно, что трансплантационный протокол, который включал инфузию донорских Т-лимфоцитов на 30-й день после ТГСК, затруднял генерацию аллореактивных НК-клеток [27]. В то же время L. Rugerri и соавт. обнаружили аллореактивные НК-клетки в ранний посттрансплантационный период после HLA-гаплоидентичной ТГСК в выборке из 24 реципиентов. Такие аллореактивные клоны определялись у большинства реципиентов до 3-го месяца после ТГСК в количестве, аналогичном таковому у донора до проведения ТГСК. К 4–7-му месяцам после ТГСК количество таких аллореактивных (донорских) НК-клеток снижалось, а по прошествии года и вовсе не определялось ни у одного из реципиентов. Эти данные говорят о возможности того, что в первые несколько месяцев после ТГСК формирующиеся НК-клетки «обучаются» под влиянием HLA донора, но в конечном итоге приобретают фенотип под влиянием HLA реципиента [28]. В других исследованиях также обнаруживались аллореактивные НК-клетки, которые циркулировали иногда до 5 лет [26, 29, 30]. Таким образом, вопрос, как скоро формиру-

ются аллореактивные НК-клетки донорского происхождения и как долго они остаются циркулировать, требует дальнейшего изучения.

Результаты исследований НК-аллореактивности при гаплоидентичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

С тех пор как группа исследователей из университета Перуджи в 2002 г. впервые обнаружила благоприятную роль НК-аллореактивности донора в гаплоидентичной ТГСК у пациентов с ОМЛ, ни один трансплантационный центр не смог подтвердить эти результаты [28]. Невозможность других исследовательских групп, использующих различные трансплантационные протоколы, воспроизвести опыт группы Перуджи усилила идею того, что НК-аллореактивность существенно зависит от самого трансплантационного протокола.

Так, в исследование W. Leung и соавт. были включены 17 детей с ОМЛ и 19 детей с ОЛЛ. W. Leung и соавт. не смогли обнаружить положительный эффект НК-аллореактивности, предсказанной по модели «лиганд–лиганд», но выявили существенное преимущество в выживаемости у пациентов при предсказании НК-аллореактивности донора по модели «рецептор–лиганд». Однако небольшое число пациентов, включенных в исследование, не позволило показать существенную разницу между моделями [31]. Полученные результаты сподвигли группу исследователей из Перуджи переанализировать свои данные, сравнив 2 модели аллореактивности [28]. Результаты повторного исследования подтвердили, что модель «лиганд–лиганд» лучше предсказывает исход ТГСК, и не выявили положительного эффекта от предсказания потенциальной аллореактивности донора по модели «рецептор–лиганд».

L. Vago и соавт. проанализировали 44 гаплоидентичных ТГСК, проведенных по протоколу, очень близкому к Перуджи, но не обнаружили преимуществ при применении модели «лиганд–лиганд». Отличие от протокола Перуджи заключалось в том, что, во-первых, тотальное облучение тела не использовалось у 70 % пациентов и, во-вторых, для профилактики инфекционных осложнений в ранний посттрансплантационный период в большинстве случаев на 30-й день после ТГСК проводили инфузию донорских Т-лимфоцитов. Вполне вероятно, что эти 2 фактора, особенно инфузия донорских Т-лимфоцитов, не позволили повторить результаты группы Перуджи [27].

A. Bishara и соавт. исследовали 62 в основном взрослых пациента, 28 из которых с диагнозом ОМЛ, и не обнаружили благоприятный эффект потенциальной донорской НК-аллореактивности. Наоборот, в группе пациентов с предположительно аллореактивными донорами были существенно выше риск развития острой РТПХ и ниже выживаемость. Трансплантационный протокол был очень похож на протокол

Перуджи, однако используемый метод Т-деплеции оставлял в 3 раза больше Т-лимфоцитов и, возможно, этого оказалось достаточно для существенного увеличения риска острой РТПХ (50 % по сравнению с 9 % в группе Перуджи) [32].

Х.Х. Huang и соавт. исследовали 111 пациентов, 71 из которых с диагнозом ОМЛ, получивших Т-реплетируемый трансплантат, а также мобилизованные гранулоцитарным колониестимулирующим фактором периферические стволовые клетки крови, что в итоге составило довольно высокое количество Т-лимфоцитов в трансплантате. Также отличием от протокола Перуджи был отказ от проведения тотального облучения тела и профилактики РТПХ. Авторы исследования не смогли обнаружить благоприятный эффект потенциально аллореактивных НК-клеток донора. Наоборот, донорская НК-аллореактивность была ассоциирована с более высоким риском развития рецидива, РТПХ и худшей выживаемостью. Интересно, что связь между НК-аллореактивностью по модели «лиганд–лиганд» и высоким риском РТПХ была только у пациентов, получивших высокие дозы Т-лимфоцитов ($p < 0,000001$), что подтверждает факт увеличения риска развития РТПХ в присутствии донорских Т-лимфоцитов [33].

Х.У. Zhao и соавт. исследовали 64 пациента, из которых 47 с диагнозом ОМЛ, и использовали трансплантационный протокол, аналогичный Х.Х. Huang и соавт. Авторы получили полностью аналогичный отрицательный результат [34].

В. Triplett и соавт. показали применимость гаплоидентичного подхода к пациентам с ОЛЛ. У пациентов с диагнозом ОЛЛ, получивших аллогенную ТГСК от HLA-идентичного сиблинга, развилось множество посттрансплантационных осложнений, включая РТПХ и рецидив лейкоза. Последующая аллогенная ТГСК с Т-деплецией от HLA-гаплоидентичного отца прошла без осложнений с приживлением нейтрофилов на 10-й день и молекулярной ремиссией на 16-й день. НК-клетки, полученные от пациента на 3-й неделе, после ТГСК экспрессировали донорские KIR и были способны уничтожать бластные клетки пациента [30].

Заключение

Таким образом, результаты множества опубликованных ранее исследований демонстрируют абсолютно противоположное влияние каждой из моделей НК-аллореактивности на исходы ТГСК. Необходимо продолжение исследований в данной области, однако уже ясно, что присутствие донорских Т-лимфоцитов в трансплантате отрицательно влияет на проявление НК-аллореактивности. В то же время очевидно, что потенциальная НК-аллореактивность может приводить к более тяжелой форме РТПХ и увеличению риска развития рецидива при использовании определенных трансплантационных протоколов. Проведение профилактики РТПХ способствует снижению эффекта «трансплантат против лейкемии» НК-клеток вследствие иммуносупрессивного влияния используемых препаратов на активность НК-клеток и экспрессию KIR [35–37].

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Cooley S., Trachtenberg E., Bergemann T.L. et al. Donor with group B KIR haplotypes improve relapse-free survival after unrelated hematopoietic cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2009;113(3):726–32. DOI: 10.1182/blood-2008-07-171926. PMID: 18945962.
- Spierings E., Kim Y., Hendriks M. et al. Multicenter analyses demonstrate significant clinical effects of Minor Histocompatibility Antigens on GvHD and GvL after HLA-matched related and unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19(8):1244–53. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.06.001. PMID: 23756210.
- Rugerri L., Capanni M., Casucci M. et al. Role of natural killer cell alloreactivity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 1999;94(1):333–9. PMID: 10381530.
- The HLA complex in Biology and Medicine: A Resource Book. Eds.: N.K. Mehra, G. Kaur, J. McCluskey et al. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers LTD, 2010.
- Ciccone E., Viale O., Pende D. et al. Specific lysis of allogeneic cells after activation of CD3-lymphocytes in mixed lymphocyte culture. *J Exp Med* 1988;168(6):2403–8. PMID: 2974067.
- Moretta A., Bottino C., Pende D. et al. Identification of four subsets of human CD3 – CD16+ natural killer (NK) cells by the expression of clonally distributed functional surface molecules: Correlation between subset assignment of NK clones and ability to mediate specific alloantigen recognition. *J Exp Med* 1990;172(6):1589–98. PMID: 2147946.
- Ciccone E., Pende D., Moretta A. et al. Evidence of natural killer (NK) cell repertoire for (Allo) antigen recognition: definition of five distinct NK-determined allospecificities in humans. *J Exp Med* 1992;175(3):709–18. PMID: 1371301.
- Ciccone E., Pende D., Viale O. et al. Involvement of HLA Class I alleles in natural killer (NK) cell-specific functions: expression of HLA-Cw3 confers selective protection from lysis by alloreactive NK clones displaying a defined specificity. *J Exp Med* 1992;176(4):963–71. PMID: 1328466.
- Colonna M., Brooks E.G., Falco M. et al. Generation of allospecific natural killer cells by stimulation across a polymorphism of HLA-C. *Science* 1993;260(5111):1121–4. PMID: 8493555.
- Cella M., Longo A., Ferrara G.B. et al. NK3-specific natural killer cells are selectively inhibited by Bw4-positive HLA alleles with isoleucine 80. *J Exp Med* 1994;180(4):1235–42. PMID: 7931060.
- Foley B.A., De Santis D.D., Van Beelen E. et al. The reactivity of Bw4+ HLA-B and HLA-A alleles with KIR3DL1: implications for patient and donor suitability for haploidentical stem cell transplantations. *Blood* 2008;112(2):435–43. DOI: 10.1182/blood-2008-01-132902. PMID: 18385451.
- Ljunggren H.G., Karre K. In search of the “missing self”: MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol Today* 1990;11(7):237–44. PMID: 2201309.

13. Oevermann L., Michaelis S.U., Mezger M. et al. KIR B haplotype donors confer a reduced risk for relapse after haploidentical transplantation in children with ALL. *Blood* 2014;124(17):2744–7. DOI: 10.1182/blood-2014-03-565069. PMID: 25115891.
14. Uhrberg M., Valiante N.M., Shum B.P. et al. Human diversity in killer cell inhibitory receptor genes. *Immunity* 1997;7(6):753–63. PMID: 9430221.
15. Witt C.S., Dewing C.B., Sayer D.C. et al. Population frequencies and putative haplotypes of the killer cell immunoglobulin-like receptor sequences and evidence for recombination. *Transplantation* 1999;68(11):1784–9. PMID: 10609957.
16. Savani B.N., Mielke S., Adams S. et al. Rapid natural killer cell recovery determines outcome after T-cell-depleted HLA-identical stem cell transplantation in patients with myeloid leukemias but not with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2007;21(10):2145–52. DOI: 10.1038/sj.leu.2404892. PMID: 17673900.
17. Stewart C.A., Laugier-Anfossi F., Vely F. et al. Recognition of peptide-MHC class I complexes by activating killer immunoglobulin-like receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(37):13224–9. DOI: 10.1073/pnas.0503594102. PMID: 16141329.
18. Chewning J.H., Gudme C.N., Hsu K.C. et al. KIR2DS1-positive NK cells mediate alloresponse against the C2 HLA-KIR ligand group *in vitro*. *J Immunol* 2007;179(2):854–68. PMID: 17617576.
19. Ruggeri L., Capanni M., Urbani E. et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* 2002;295(5562):2097–100. DOI: 10.1126/science.1068440. PMID: 11896281.
20. Ghayur T., Seemayer T.A., Kongshavn P.A. et al. Graft-versus-host reactions in the beige mouse: an investigation of the role of host and donor natural killer cells in the pathogenesis of graft-versus-host disease. *Transplantation* 1987;44(2):261–7. PMID: 3307050.
21. Cooley S., McCullar V., Wangen R. et al. KIR reconstitution is altered by T cells in the graft and correlates with clinical outcomes after unrelated donor transplantation. *Blood* 2005;106(13):4370–6. DOI: 10.1182/blood-2005-04-1644. PMID: 16131567.
22. Yabe T., Matsuo K., Hirayasu K. et al. Donor killer immunoglobulin-like receptor (KIR) genotype-patient cognate KIR ligand combination and antithymocyte globulin preadministration are critical factors in outcome of HLA-C-KIR ligand-mismatched T cell-replete unrelated bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14(1):75–87. DOI: 10.1016/j.bbmt.2007.09.012. PMID: 18158964.
23. Rhoades J.L., Cibull M.L., Thompson J.S. et al. Role of natural killer cells in the pathogenesis of human acute graft-versus-host disease. *Transplantation* 1993;56(1):113–20. PMID: 8333033.
24. Ferrara J.L., Guillen F.J., Dijken P.J. et al. Evidence that large granular lymphocytes of donor origin mediate acute graft-versus-host disease. *Transplantation* 1989;47(1):50–4. PMID: 2643231.
25. Shilling H.G., McQueen K.L., Cheng N.W. et al. Reconstitution of NK cell receptor repertoire following HLA-matched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2003;101(9):3730–40. DOI: 10.1182/blood-2002-08-2568. PMID: 12511415.
26. Pende D., Marcenaro S., Falco M. et al. Anti-leukemia activity of alloreactive NK cells in KIR ligand-mismatched haploidentical HSCT for pediatric patients: Evaluation of the functional role of activating KIR and redefinition of inhibitory KIR specificity. *Blood* 2009;113(13):3119–29. DOI: 10.1182/blood-2008-06-164103. PMID: 18945967.
27. Vago L., Forno B., Sormani M.P. et al. Temporal, quantitative, and functional characteristics of single KIR positive alloreactive natural killer cell recovery account for impaired graft-versus-leukemia activity after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2008;112(8):3488–99. DOI: 10.1182/blood-2007-07-103325. PMID: 18645039.
28. Ruggeri L., Mancusi A., Capanni M. et al. Donor natural killer cell allorecognition of “missing self” in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. *Blood* 2007;110(1):433–40. DOI: 10.1182/blood-2006-07-038687. PMID: 17371948.
29. Locatelli F., Pende D., Maccario R. et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of high-risk leukemias: how NK cells make the difference. *Clin Immunol* 2009;133(2):171–8. DOI: 10.1016/j.clim.2009.04.009. PMID: 19481979.
30. Triplett B., Handgretinger R., Pui C.H., Leung W. KIR-incompatible hematopoietic-cell transplantation for poor prognosis infant acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2006;107(3):1238–9. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2809. PMID: 16434496.
31. Leung W., Iyengar R., Turner V. et al. Determinants of antileukemia effect of allogeneic NK cells. *J Immunol* 2004;172(1):644–50. PMID: 14688377.
32. Bishara A., Santis D.D., Witt C.C. et al. The beneficial role of inhibitory KIR genes of HLA class I NK epitopes in haploidentically mismatched stem cell allografts may be masked by residual donor-alloreactive T cells causing GVHD. *Tissue Antigens* 2004;63(3):204–11. DOI: 10.1111/j.0001-2815.2004.00182.x. PMID: 14989709.
33. Huang X.J., Zhao X.Y., Liu D.H. et al. Deleterious effect of KIR ligand incompatibility on clinical outcomes in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without *in vitro* T-cell depletion. *Leukemia* 2007;21(4):848–51. DOI: 10.1038/sj.leu.2404566. PMID: 17268518.
34. Zhao X.Y., Huang K.Y., Liu K.Y. et al. Prognosis after unmanipulated HLA-haploidentical blood and marrow transplantation is correlated to the numbers of KIR ligands in recipients. *Eur J Haematol* 2007;78(4):338–46. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2007.00822.x. PMID: 17378893.
35. Giebel S., Dziaczkowska J., Wojnar J. et al. The impact of immunosuppressive therapy on an early quantitative NK cell reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Transplant* 2005;10(2):29–33. PMID: 16218030.
36. Muller C., Scherthaner G., Kovarik J. et al. Natural killer cell activity and antibody-dependent cellular cytotoxicity in patients under various immunosuppressive regimens. *Clin Immunol Immunopathol* 1987;44(1):12–9. PMID: 3297437.
37. Wang H., Grzywacz B., Sukovich D. et al. The unexpected effect of cyclosporine A on CD56+. *Blood* 2007;110(5):1530–9. DOI: 10.1182/blood-2006-10-048173. PMID: 17495133.

ORCID автора/ORCID of author

В.В. Захарова/V.V. Zakharova: <https://orcid.org/0000-0001-5949-5317>

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Изучение признаков дисмиелопоэза методом многоцветной проточной цитофлуориметрии у пациентов с миелодиспластическими синдромами

Ю.О. Давыдова, И.В. Гальцева, Е.Н. Паровичникова, А.В. Кохно, Н.М. Капранов, В.В. Троицкая, Е.А. Михайлова, З.Т. Фидарова, Т.Н. Моисеева, Л.А. Кузьмина, Е.А. Лукина, Т.Н. Обухова, Л.А. Гребенюк, А.М. Ковригина, В.Н. Двирнык, В.Г. Савченко

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

Контакты: Юлия Олеговна Давыдова juliya89mur@yandex.ru

Введение. Миелодиспластические синдромы (МДС) — это гетерогенная группа клональных заболеваний системы кроветворения, характеризующихся дисмиелопоэзом и цитопениями, наличием цитогенетических аберраций и высоким риском трансформации в острые миелоидные лейкозы. Диагностика МДС требует комплексного подхода и обязательного выполнения цитологического, цитохимического и цитогенетического исследований аспирата костного мозга, а также гистологического исследования трепанобиоптата. Однако в случаях цитопенических синдромов с минимальными проявлениями дисмиелопоэза требуется дополнительный диагностический критерий, который позволил бы верифицировать МДС. Исследование аспирата костного мозга методом многоцветной проточной цитофлуориметрии (МПЦ) можно рассматривать как дополнительный критерий в диагностике МДС.

Цель исследования — оценка частоты встречаемости признаков дисмиелопоэза у пациентов с различными формами МДС методом МПЦ.

Материалы и методы. В исследование включено 79 пациентов с МДС: 8 — с МДС с изолированной делецией 5q, 33 — с МДС без избытка бластных клеток и 38 — с избытком бластных клеток. Исследование аспирата костного мозга проводили методом 6-цветной проточной цитофлуориметрии. В контрольную группу вошло 35 доноров аллогенного костного мозга. В результате анализа составлялось заключение по скрининговой шкале Ogata score, прогностической шкале Wells и объединенной шкале Ogata—Wells.

При применении скринингового метода наличие 2 и более цитометрических признаков МДС было выявлено у 60 (75,9 %) из 79 пациентов с МДС. При использовании более глубокого анализа всех клеточных компартментов показано, что наибольший балл по шкале Wells был у пациентов из группы МДС с избытком бластных клеток. При применении объединенной шкалы Ogata—Wells признаки, характерные для МДС, обнаруживались у 70 (88,6 %) из 79 пациентов с МДС. У пациентов с МДС с избытком бластных клеток частота обнаружения увеличенного количества CD34⁺ и/или CD117⁺ миелоидных клеток была выше, чем у больных с МДС без избытка бластных клеток и МДС с делецией 5q. При этом частота обнаружения аномальных цитометрических параметров (аномальная экспрессия CD34, CD117, доля CD56⁺ миелобластных клеток) в этих группах не отличалась. У пациентов с изолированной делецией 5q и МДС без избытка бластных клеток чаще выявлялась повышенная доля CD7⁺CD34⁺ клеток, чем при МДС с избытком бластных клеток.

Заключение. Таким образом, цитометрические аномалии при МДС встречаются часто, даже у пациентов без избытка бластных клеток. Метод МПЦ может быть использован в качестве дополнительного диагностического метода при первичной диагностике МДС.

Ключевые слова: миелодиспластический синдром, проточная цитофлуориметрия, иммунофенотипирование

Для цитирования: Давыдова Ю.О., Гальцева И.В., Паровичникова Е.Н. и др. Изучение признаков дисмиелопоэза методом многоцветной проточной цитофлуориметрии у пациентов с миелодиспластическими синдромами. Онкогематология 2018;13(4):75–88.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-75-88

Study of myelodysplastic features in patients with myelodysplastic syndromes by multicolor flow cytometry

Yu.O. Davydova, I.V. Galtseva, E.N. Parovichnikova, A.V. Kokhno, N.M. Kapranov, V.V. Troitskaya, E.A. Mikhailova, Z.T. Fidarova, T.N. Moiseeva, L.A. Kuzmina, E.A. Lukina, T.N. Obukhova, L.A. Grebenyuk, A.M. Kovrigina, V.N. Dvirnyk, V.G. Savchenko
National Research Center for Hematology; 4 Novyi Zykovskiye Proezd, Moscow 125167, Russia

Background. Myelodysplastic syndromes (MDS) are a heterogeneous group of clonal diseases of the hematopoiesis system characterized by dysmyelopoiesis and cytopenia, the presence of cytogenetic aberrations and a high risk of transformation into acute myeloid leukemias. Diagnosis of MDS requires a comprehensive approach and mandatory performance of cytological, cytochemical and cytogenetic studies of bone marrow aspirate, as well as histological examination of trephine biopsy. However, in some cases it is necessary to undergo a diagnostic test that would allow verification of the MDS. The study of bone marrow aspirate by multicolor flow cytometry (MFC) can be considered as an additional diagnostic criterion in the diagnosis of MDS.

The objective of the study was to estimate the incidence of myelodysplastic features in patients with various forms of MDS by the MFC method. **Materials and methods.** The study included 79 patients with MDS: 8 with MDS with 5q deletion, 33 with MDS without excess blast cells and 38 with excess of blasts. A bone marrow aspirate test was performed by 6-color flow cytometry. The control group included 35 donors of allogeneic bone marrow. The analysis resulted in a conclusion on the Ogata score scale, the Wells prognostic scale and the combined Ogata—Wells scale. When using the screening method, the presence of two or more cytometric signs of MDS was detected in 60 (75.9 %) of 79 MDS patients. Wells score was higher in MDS group with an excess of blast than in others. Using the combined Ogata—Wells scale, cytometric aberrations were found in 70 (88.6 %) of 79 MDS patients. In patients with MDS with an excess of blasts, the incidence of increased CD34⁺ and/or CD117⁺ myeloid cells was higher than in MDS patients without an excess of blasts and an MDS with a 5q deletion. The frequency of abnormal cytometric parameters (anomalous expression of CD34, CD117, CD56⁺ myeloblasts) in these groups did not differ. In patients with isolated 5q deletion and MDS without excess of blasts, an increased proportion of CD7⁺CD34⁺ cells was more often detected than in MDS with an excess of blasts.

Conclusion. Thus, cytometric abnormalities in MDS are common, even in patients without excess of blasts. The MFC method can be used as an additional diagnostic method in the initial diagnosis of MDS.

Key words: myelodysplastic syndrome, flow cytometry, immunophenotyping

For citation: Davydova Yu.O., Galtseva I.V., Parovichnikova E.N. et al. Study of myelodysplastic features in patients with myelodysplastic syndromes by multicolor flow cytometry. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2018;13(4):75–88.

Введение

Миелодиспластические синдромы (МДС) представляют собой гетерогенную группу клональных заболеваний системы кроветворения, характеризующихся цитопениями, наличием дисмиелопоэза, высокой частотой обнаружения аномалий кариотипа и высоким риском трансформации в острые миелоидные лейкозы [1, 2]. Ранние миелоидные предшественники у больных МДС характеризуются избыточным апоптозом, что может быть одной из причин развития цитопений [3]. Выявление цитопении и признаков дисплазии хотя бы в одной линии гемопоэза является необходимым условием для верификации диагноза МДС [3, 4].

Базовыми методами диагностики МДС являются цитологическое, цитохимическое, гистологическое и цитогенетическое исследования костного мозга (КМ). Морфологическим признаком МДС является наличие дисплазии хотя бы в одном ростке гемопоэза. Наличие диспластических признаков в разных линиях миелопоэза само по себе не является критерием клонального патологического процесса. Дисплазия эритрокариоцитов также выявляется в случаях дефицита витамина В₁₂, фолиевой кислоты, меди, а также при воздействии тяжелых металлов (мышьяка, цинка). Изониазид способен вызывать формирование кольцевых сидеробластов. Ко-тримоксазол, такролимус, мофетила микофенолат вызывают значительную гипосегментацию ядер нейтрофилов. Парвовирус В19 может приводить к снижению количества эритрокариоцитов, появлению гигантских форм пронормобластов [3, 5]. Клеточность костного мозга, наличие фиброза стромы и дисплазии клеток основных ростков кроветворения оцениваются с помощью гистологического исследования трепанобиоптата [6]. Исследование гистоархитектоники ростков миелопоэза, выявление аномальной локализации незрелых предшественников гранулоцитарного ростка и иммуногистохимическое исследова-

ние с антителами к CD34 являются крайне важными в случае МДС, протекающего с фиброзом и/или гипоклеточным КМ, когда морфологический подсчет бластных клеток и оценка выраженности дисплазии в аспирате КМ могут быть затруднены [7].

Исключительно важную роль в диагностике МДС играют цитогенетические исследования, а ряд хромосомных aberrаций связан с определенным клиническим течением и прогнозом заболевания. В существующие шкалы оценки продолжительности жизни больных МДС (IPSS, WPSS (WHO classification-based Prognostic Scoring System) и IPSS-R (Revised International Prognostic Scoring System)) включены особенности кариотипа. Миелодиспластический синдром с изолированной делецией del (5q) (или при наличии дополнительной aberrации, за исключением аномалий хромосомы 7) выделяют как отдельный вид МДС (МДС с изолированной делецией 5q), нередко характеризующийся наличием мегакариоцитов с гиполобулярными ядрами, макроцитарной анемией, нормальным или повышенным количеством тромбоцитов и благоприятным прогнозом. Комплексный кариотип (≥ 3 цитогенетических aberrаций) ассоциирован с неблагоприятным прогнозом [8, 9].

Даже при выполнении цитологического, цитохимического, цитогенетического и гистологического исследований может потребоваться дополнительный диагностический критерий, особенно при отсутствии цитогенетических аномалий и минимальных признаках дисмиелопоэза при морфологическом исследовании КМ. В последнее время в качестве дополнительного метода все чаще используют многоцветную проточную цитофлуориметрию (МПЦ) [10]. В 2003 г. D.A. Wells и соавт. была предложена цитометрическая прогностическая шкала, основанная на подсчете числа цитометрических aberrаций в компартменте нейтрофилов и моноцитов, а также количества аномальных ранних миелоидных клеток. При оценке выживаемо-

сти больных МДС была выявлена ассоциация между суммарным баллом по шкале Wells и продолжительностью жизни, а также вариантом МДС в соответствии с классификацией ВОЗ [11]. Первая работа по стандартизации диагностики МДС методом МПЦ была опубликована в 2009 г. В дальнейшем новые исследования и накопленный опыт привели к пересмотру и дополнению рекомендаций в 2012 и 2014 гг. [12–14]. Согласно классификации Всемирной организации здравоохранения 2017 г., при диагностике МДС выявление не менее 3 цитометрически аномальных параметров в 2 и более клеточных компартментах костного мозга имеют высокую диагностическую значимость при МДС [1].

Целью данного исследования было проведение анализа костного мозга пациентов с МДС методом МПЦ, определение и сравнение частоты встречаемости аномальных цитометрических признаков в разных группах МДС.

Материалы и методы

Пациенты

С января 2016 г. по июль 2017 г. в исследование было включено 79 пациентов с диагнозом МДС, проходивших обследование в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (НМИЦ гематологии). Из них 8 пациентов с изолированной делецией 5q (МДС с 5q-), 4 пациента с МДС с линейной дисплазией (МДС-ЛД), из них 3 – с рефрактерной анемией, 1 – с рефрактерной нейтропенией), 22 – с МДС с мультилинейной

дисплазией (МДС-МД), 7 – с МДС с кольцевыми сидеробластами (МДС-КС, из них 4 – МДС с МД и КС, 3 – МДС с ЛД и КС), 20 – с МДС с избытком бластов-1 (МДС-ИБ-1), 16 – с МДС с избытком бластов-2 (МДС-ИБ-2). Соотношение мужчин и женщин, возраст пациентов с разными вариантами МДС приведены в табл. 1. Диагноз был установлен на основании клинического течения заболевания, данных морфологического, цитохимического, цитогенетического исследований аспирата КМ и гистологического исследования трепанобиоптата.

Многоцветная проточная цитофлуориметрия

Материалом для исследования служил аспират КМ с антикоагулянтом ЭДТА. Проводили предварительный лизис КМ раствором, содержащим хлорид аммония (Farm Lyse, BD Biosciences, США). После отмывки в растворе CellWash (BD Biosciences, США) подсчитывали содержание ядросодержащих клеток в образце на гематологическом анализаторе Abacus Junior 30 (Diatron, Венгрия). Для окраски моноклональными антителами отбирали 3×10^5 клеток в 100 мкл раствора CellWash. Использовали моноклональные антитела, меченные флуорохромами, против CD56 FITC (клон NCAM16.2), CD34 APC (клон 8G12), CD19 PerCP-Cy5.5 (клон SJ25C1), CD117 PE-Cy7 (клон 104D2), CD33 APC (клон P67.6), CD16 PerCP-Cy5.5 (клон 3G8), CD45 APC-Cy7 (клон 2D1), CD11b APC-Cy7 (клон ICRF44), CD36 PerCP-Cy5.5 (клон CB38), CD64 APC (клон 10.1) производства BD Biosciences и CD7 PE (клон 8H8.1), CD45 FITC (клон

Таблица 1. Характеристика пациентов с миелодиспластическим синдромом, включенных в исследование

Table 1. Characteristics of myelodysplastic syndrome patients included in the study

Диагноз Diagnosis	n	Медиана возраста Median age	Минимальный возраст Minimum age	Максимальный возраст Maximum age	Соотношение мужчины:женщины Male:female ratio
МДС с 5q- MDS with 5q-	8	66	63	79	1:3
МДС-ЛД MDS-LD	4	67	57	82	1:1
МДС-КС MDS-RS	7	69	54	79	1:1,3
МДС-МД MDS-MLD	22	56	32	83	1:2,1
МДС-ИБ-1 MDS-EB-1	20	61,5	21	74	1,2:1
МДС-ИБ-2 MDS-EB-2	18	64	20	87	3,5:1

Примечание. МДС – миелодиспластический синдром; МДС-ЛД – МДС с линейной дисплазией; МДС-КС – МДС с кольцевыми сидеробластами; МДС-МД – МДС с мультилинейной дисплазией; МДС-ИБ-1 – МДС с избытком бластов-1; МДС-ИБ-2 – МДС с избытком бластов-2.

Note. MDS – myelodysplastic syndrome; MDS-SLD – MDS with single lineage dysplasia; MDS-RS – MDS with ring sideroblasts; MDS-MLD – MDS with multilineage dysplasia; MDS-EB-1 – MDS with an excess of blasts-1; MDS-EB-2 – MDS with an excess of blasts-2.

Таблица 2. Параметры, учитываемые в ходе цитометрического анализа
 Table 2. Parameters analyzed by cytometric analysis

Клеточный компартмент Cell compartment	Анализируемые параметры Analyzed parameters
Компартмент гемопоэтиче- ских предшественников Compartment of hematopoietic progenitors	Доля CD34 ⁺ CD19 ⁻ CD117 [±] миелоидных клеток от CD45 ⁺ клеток The proportion of CD34 ⁺ CD19 ⁻ CD117 [±] myeloid cells from CD45 ⁺ cells Средняя интенсивность флуоресценции и коэффициент вариации флуоресценции анти-CD34 и анти-CD117 на CD34 ⁺ CD19 ⁻ CD117 [±] миелоидных клетках The mean fluorescence intensity and fluorescence variation coefficient of anti-CD34 and anti-CD117 on CD34 ⁺ CD19 ⁻ CD117 [±] myeloid cells Отношение средних интенсивностей флуоресценции анти-CD45 на лимфоцитах к анти- CD45 на CD34 ⁺ миелоидных клетках (индекс CD45) The ratio of anti-CD45 mean fluorescence intensity on lymphocytes to anti-CD45 on CD34 ⁺ myeloid cells (CD45 index) Доля CD34 ⁺ CD19 ⁺ В-клеточных предшественников от CD34 ⁺ клеток The proportion of CD34 ⁺ CD19 ⁺ B-cell progenitors from CD34 ⁺ cells Доли CD7 ⁺ и CD56 ⁺ клеток от всех CD34 ⁺ миелоидных клеток The proportion of CD7 ⁺ and CD56 ⁺ cells from all CD34 ⁺ myeloid cells
Компартмент гранулоцитов Compartment of granulocytes	Доля гранулоцитов от CD45 ⁺ клеток The proportion of granulocytes from CD45 ⁺ cells Отношение среднего показателя SSC (Side Scatter) гранулоцитов к среднему показателю SSC лимфоцитов (индекс гранулярности) Ratio of mean granulocytes SSC (Side Scatter) to mean lymphocytes SSC (granularity index) Доля CD56 ⁺ , CD10 ⁺ , CD14 ⁺ гранулоцитов The proportion of CD56 ⁺ , CD10 ⁺ , CD14 ⁺ granulocytes Соотношение экспрессии (паттерны) CD16 против CD13, CD16 против CD11b, CD13 против CD11b Expression ratio (patterns) of CD16 vs CD13, CD16 vs CD11b, CD13 vs CD11b
Компартмент моноцитов Compartment of monocytes	Доля моноцитов от CD45 ⁺ клеток The proportion of monocytes from CD45 ⁺ cells Доля CD56 ⁺ моноцитов The proportion of CD56 ⁺ monocytes Соотношение экспрессии (паттерны) CD11b против HLA-DR, CD13 против CD11b, CD14 против CD36 Expression ratio (patterns) of CD11b vs HLA-DR, CD13 vs CD11b, CD14 vs CD36 Средняя интенсивность флуоресценции анти-CD64 The mean fluorescence intensity of anti-CD64

J33), CD13 PE (клон SJ1D1) и CD14 PE (клон RMO52) производства Beckman Coulter. Исследование выполнено на 6-цветном проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II (BD Biosciences, США). Настройку компенсаций флуоресценции проводили с помощью BD CompBeads (BD Biosciences, США). Регулировка напряжения на фотоумножителях для поддержания значений выходного сигнала проводилась рутинно с применением Cytometer Setup & Tracking Beads kit (BD Biosciences, США).

Анализ основных клеточных компартментов (ранних миелобластных клеток, В-клеточных предшественников, гранулоцитов и моноцитов) проводили в соответствии с рекомендациями Westers T.M. и соавт. (2012) (табл. 2) [13]. Для оценки экспрессии CD34 и CD117 на CD34⁺ миелоидных клетках учитывали среднюю интенсивность флуоресценции (СИФ) и коэффициент вариации (КВ) флуоресцентного сигнала.

Анализируемые цитометрические параметры были двух типов: качественные и количественные. К качественным параметрам относили соотношения экс-

прессии (паттерны) антигенов на гранулоцитах и моноцитах, остальные параметры (доли клеток, СИФ и КВ флуоресцентного сигнала) – к количественным (см. табл. 2).

Контрольная группа включала 35 здоровых доноров аллогенного костного мозга. Качественные цитометрические параметры оценивались визуальным методом: у пациента паттерн считался аномальным в случае значительных его отличий от контрольной группы. Для каждого количественного параметра рассчитывали референсный интервал, содержащий 95 % всех значений (от 2,5 до 97,5 процентиля), полученных при анализе КМ доноров. Количественный параметр признавали аномальным в случае его отклонения от референсного интервала. Примеры аномальных цитометрических параметров представлены на рис. 1.

После получения данных по параметрам компартментов ранних миелоидных клеток, популяций гранулоцитов и моноцитов КМ пациентов определяли оценки по шкалам Ogata score, Wells и Ogata–Wells [15, 16].

По шкале Ogata score оценивали параметры, показанные в табл. 3.

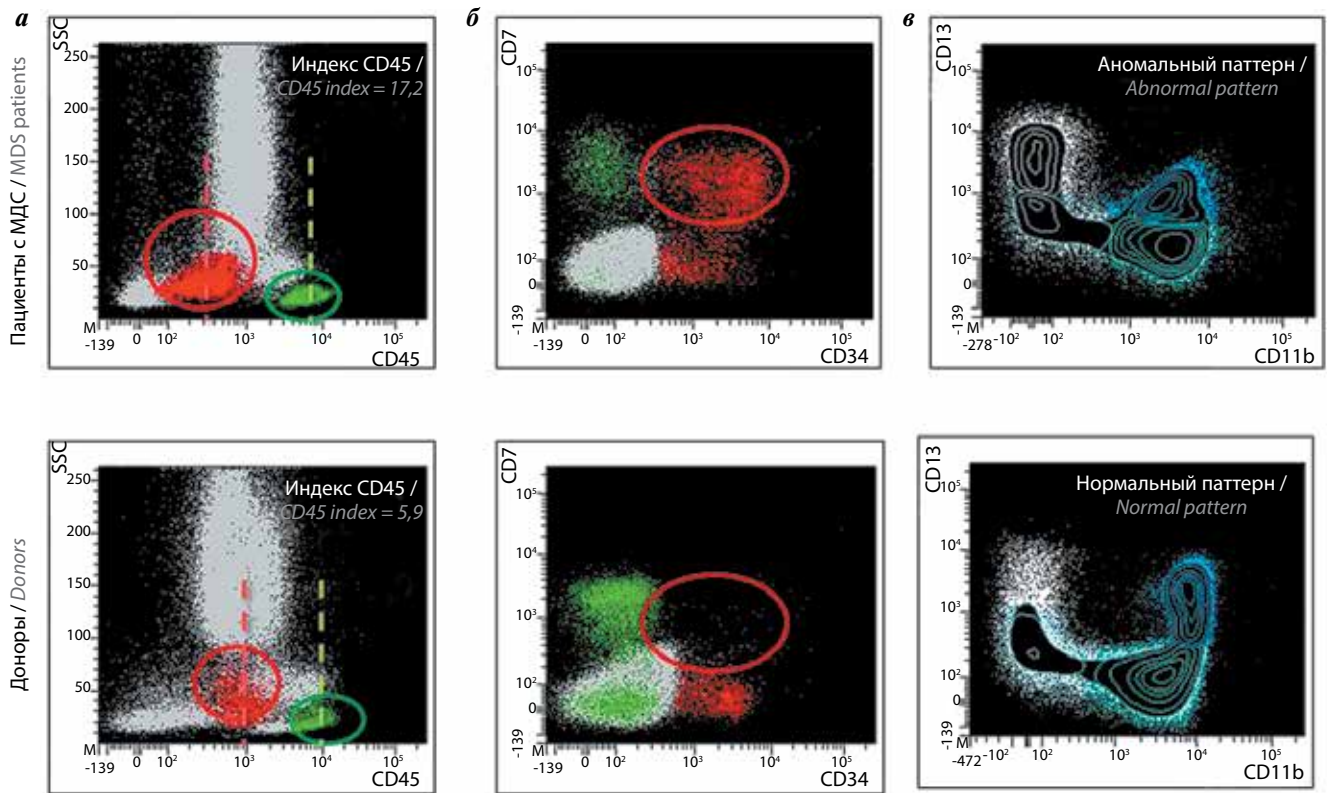


Рис. 1. Примеры аномальных цитометрических параметров у пациентов с МДС: а – повышенное отношение экспрессии CD45 на лимфоцитах (выделены зеленым) к экспрессии CD45 на CD34⁺ миелоидных клетках (выделены красным); б – повышенная доля CD7⁺CD34⁺ миелоидных клеток от всех CD34⁺ миелоидных клеток; в – аномальный паттерн CD13 против CD11b гранулоцитов. Ниже показаны те же параметры у здоровых доноров

Fig. 1. Examples of abnormal cytometric parameters in MDS patients: а – an increased ratio of CD45 expression on lymphocytes (green) to CD45 expression on CD34⁺ myeloid cells (red); б – increased proportion of CD7⁺CD34⁺ myeloid cells from all CD34⁺ myeloid cells; в – abnormal pattern of CD13 vs CD11b on granulocytes. The same parameters for healthy donors are shown below

Согласно рекомендациям Ogata К. и соавт. (2006), при отклонениях от нормальных значений по 2 и более параметрам шкалы Ogata score с высокой вероятностью предполагается наличие МДС [15].

Конечный балл по прогностической шкале Wells подсчитывали, как указано в табл. 4. Итоговый балл от 0 до 1 соответствовал минимальному, от 2 до 3 – среднему, более 4 – высокому [11].

С учетом всех параметров, указанных в табл. 2, в результате анализа КМ пациента давалось также заключение в буквенном эквиваленте по объединенной шкале Ogata–Wells (табл. 5).

Статистический анализ данных

Статистический анализ данных проводили с помощью GraphPad Prism 6. Значимость различий

Таблица 3. Параметры шкалы Ogata score

Table 3. The parameters of Ogata score scale

№	Параметр Parameter
1	Доля CD34 ⁺ CD19 ⁻ миелоидных клеток от CD45 ⁺ клеток The proportion of CD34 ⁺ CD19 ⁻ myeloid cells from CD45 ⁺ cells
2	Доля CD34 ⁺ CD19 ⁺ В-клеточных предшественников от CD34 ⁺ клеток The proportion of CD34 ⁺ CD19 ⁺ B-progenitor cells from CD34 ⁺ cells
3	Отношение средних интенсивностей флуоресценции (СИФ) анти-CD45 на лимфоцитах к СИФ анти-CD45 на CD34 ⁺ миелоидных клетках (индекс CD45) The ratio of the anti-CD45 mean fluorescence intensities (MFI) on lymphocytes to anti-CD45 MFI on CD34 ⁺ myeloid cells (CD45 index)
4	Отношение параметра бокового светорассеяния (SSC) на гранулоцитах к лимфоцитам (индекс гранулярности, ИГ) The ratio of side scattering (SSC) on granulocytes to lymphocytes (granularity index, GI)

Таблица 4. Цитометрическая шкала Wells
Table 4. Wells cytometric scale

Балл Score	Описание Description
Основной балл The main points	
0	Отсутствие цитометрических aberrаций Absence of cytometric aberrations
1	Одна aberrация или в гранулоцитах, или в моноцитах One aberration in either granulocytes or monocytes
2	Одна aberrация и в гранулоцитах, и в моноцитах либо ...; Две-три aberrации или в гранулоцитах, или в моноцитах One aberration in both granulocytes and monocytes either... Two or three aberrations in either granulocytes or monocytes
3	Четыре aberrации и более или в гранулоцитах, или в моноцитах Four or more aberrations, either in granulocytes or monocytes
4	Две или три aberrации и в гранулоцитах, и в моноцитах Two or three aberrations in both granulocytes and monocytes
Дополнительный балл Additional points	
+1	Сниженное миелоидно-лимфоидное соотношение (<1) Нормальное содержание миелобластов (<5 %) с цитометрическими aberrациями Reduced myeloid-lymphoid ratio (<1) Normal myeloblasts count (<5 %) with cytometric aberrations
+2	Повышенное содержание аномальных миелобластов (5–10 %) Increased number of abnormal myeloblasts (5–10 %)
+3	Повышенное содержание аномальных миелобластов (11–20 %) Increased number of abnormal myeloblasts (11–20 %)
+4	Повышенное содержание аномальных миелобластов (>20 %) Increased number of abnormal myeloblasts (>20 %)

Таблица 5. Объединенная шкала Ogata–Wells
Table 5. Combining scale Ogata–Wells

Параметр Parameter	Значение Value							
Шкала Ogata score Ogata score scale	<2				≥2			
Цитометрические аномалии в миелоидных предшественниках Cytometric anomalies in myeloid progenitors	–	–	+	+	–	–	+	+
Цитометрические аномалии: в гранулоцитах (сниженный индекс гранулярности или 2 другие аномалии и более; в моноцитах (экспрессия CD56 или 2 и более других аномалий) Cytometric anomalies: in granulocytes (a reduced granularity index or 2 or more other anomalies); in monocytes (CD56 expression or 2 or more other anomalies)	–	+	–	+	–	+	–	+
Оценка	A	A/B	A/B	C	A/B	B/C	B/C	C

Примечание. А – результаты цитометрического исследования не соответствуют миелодиспластическому синдрому; В – есть признаки, которые часто встречаются при миелодиспластическом синдроме; С – результаты цитометрического исследования соответствуют миелодиспластическому синдрому.
Note. А – cytometric examination results do not correspond to myelodysplastic syndrome; В – there are signs that are often found in myelodysplastic syndrome; С – cytometric examination results correspond to myelodysplastic syndrome.

частоты встречаемости аномальных признаков между группами пациентов с МДС определяли с помощью критерия Фишера. Значимыми признавались отличия при $p < 0,05$. Для сравнения значений баллов по шкалам Ogata score и Wells у пациентов с разными вариантами МДС применяли критерий Краскела–Уоллиса (для ненормальных распределений). Для множественных сравнений использовали поправку Данна. Проверку нормальности распределения проводили с помощью критерия Шапиро–Уилка.

Результаты

В статье Ogata K. и соавт. (2006) были опубликованы референсные интервалы для 4-параметровой шкалы Ogata score: доля $CD34^+$ миелобластных клеток в норме не превышала 2 %, доля $CD34^+$ В-клеточных предшественников от $CD34^+$ клеток была не ниже 5 %, индекс гранулярности гранулоцитов (ИГ) был выше 6, а отношение экспрессии $CD45$ лимфоцитов к $CD34^+$ миелобластам (индекс $CD45$) находилось в интервале от 4 до 7,5 [15]. В результате проведенного нами исследования у всех доноров доля $CD34^+$ миелобластных клеток была ниже 2 % (максимальное значение – 1,6 %), ИГ у всех доноров был выше 6. Однако у 3 из 35 доноров доля $CD34^+$ В-клеточных предшественников от $CD34^+$ клеток была ниже 5 %, а индекс $CD45$ находился в интервале 5,6–8,9, отличном от полученного в работе K. Ogata и соавт. [15], что, вероятно, связано с различиями в используемых реагентах. В качестве референсного значения мы использовали полученный нами интервал для индекса $CD45$.

Количество баллов по шкале Ogata score 2 и более было у 19 из 20 пациентов с МДС-ИБ-1, у 17 из 18 с МДС-ИБ-2. У пациентов с другими вариантами

МДС реже выявлялось 2 балла и более по шкале Ogata score (МДС с 5q- – 5 из 8; МДС-ЛД – 2 из 4; МДС-КС – 5 из 7; МДС-МД – 12 из 22). В среднем достоверно более высокий балл был у пациентов с МДС с ИБ-1 и ИБ-2 по сравнению с пациентами с МДС с МД (рис. 2а).

Минимальный балл (0–1) по прогностической шкале Wells был только у 1 (25 %) из 4 пациентов группы МДС с ЛД, ни у одного пациента из других групп МДС не было минимального балла. Средний балл (2–3) по шкале Wells был у 4 (50 %) из 8 пациентов с МДС с 5q-, у 2 (50 %) из 4 пациентов МДС с ЛД, у 2 (28,6 %) из 7 МДС с КС, у 6 (27,3 %) из 22 МДС с МД и у 2 (10 %) из 20 МДС-ИБ-1. Высокий балл (4–9) по шкале Wells был у 4 (50 %) из 8 пациентов с МДС с 5q-, у 1 (25 %) из 4 пациентов МДС с ЛД, у 5 (71,4 %) из 7 МДС с КС, у 16 (72,7 %) из 22 МДС с МД, у 18 (90 %) из 20 МДС-ИБ-1 и у всех (100 %) пациентов с МДС-ИБ-2. В среднем достоверно более высокий балл был у пациентов МДС с ИБ-1 по сравнению с пациентами с МДС с 5q- и МДС-ЛД, а также у пациентов с МДС с ИБ-2 по сравнению с пациентами групп МДС с 5q-, МДС с ЛД, КС и ИД (рис. 2б).

По объединенной шкале Ogata–Wells оценка «С» была у 100 % пациентов групп МДС-ИБ-1 и МДС-ИБ-2. Отсутствие признаков МДС (оценка «А») выявили у 1 из 8 пациентов с МДС с 5q-, у 2 из 4 МДС с ЛД, у 1 из 7 МДС с КС и у 5 из 22 МДС с МД (рис. 3).

У 2 пациентов с МДС-ИБ-1 и ИБ-2 на аномальных миелобластных клетках экспрессия $CD34$ отсутствовала. В этих случаях подсчет количества бластных клеток методом МПЦ проводили по маркеру $CD117$.

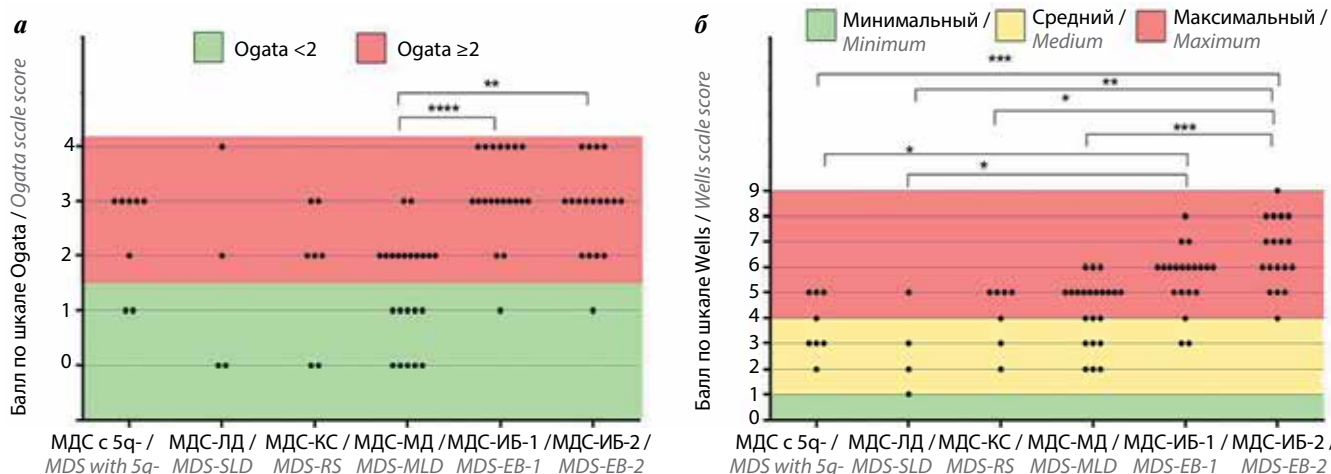


Рис. 2. Баллы, полученные при анализе костного мозга пациентов с миелодиспластическим синдромом по шкалам Ogata score (а) и Wells (б). Звездочками указано наличие достоверных отличий между группами пациентов (**** $p \leq 0,0001$; *** $p \leq 0,001$; ** $p \leq 0,01$; * $p < 0,05$). МДС – миелодиспластический синдром; МДС-ЛД – МДС с линейной дисплазией; МДС-КС – МДС с кольцевыми сидеробластами; МДС-МД – МДС с мультилинейной дисплазией; МДС-ИБ-1 – МДС с избытком бластов-1; МДС-ИБ-2 – МДС с избытком бластов-2

Fig. 2. Scores obtained from bone marrow analysis of myelodysplastic syndrome patients by Ogata score (a) and Wells (b) scales. Asterisks indicate the presence of significant differences between groups of patients (**** $p \leq 0,0001$; *** $p \leq 0,001$; ** $p \leq 0,01$; * $p < 0,05$). MDS – myelodysplastic syndrome; MDS-SLD – MDS with single linear dysplasia; MDS-RS – MDS with ring sideroblasts; MDS-MLD – MDS with multilineage dysplasia; MDS-EB-1 – MDS with an excess of blasts-1; MDS-EB-2 – MDS with an excess of blasts-2

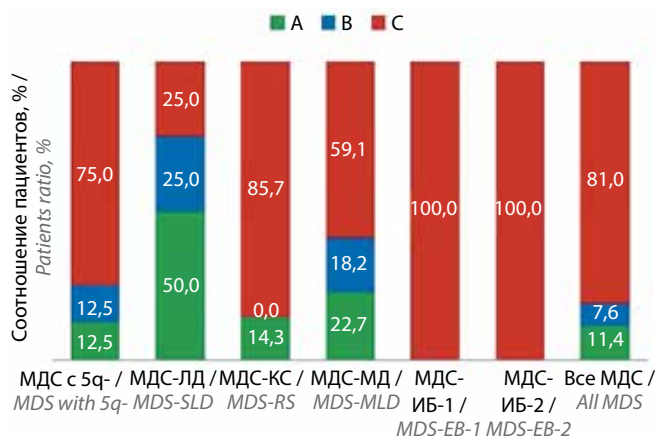


Рис. 3. Баллы, полученные при анализе костного мозга пациентов с миелодиспластическим синдромом по объединенной шкале Ogata–Wells. МДС – миелодиспластический синдром; МДС-ЛД – МДС с линейной дисплазией; МДС-КС – МДС с кольцевыми сидеробластами; МДС-МД – МДС с мультилинейной дисплазией; МДС-ИБ-1 – МДС с избытком бластов-1; МДС-ИБ-2 – МДС с избытком бластов-2
 Fig. 3. Scores obtained from bone marrow analysis of myelodysplastic syndrome patients by combined Ogata–Wells scale. MDS – myelodysplastic syndrome; MDS-SLD – MDS with single lineage dysplasia; MDS-RS – MDS with ring sideroblasts; MDS-MLD – MDS with multilineage dysplasia; MDS-EB-1 – MDS with an excess of blasts-1; MDS-EB-2 – MDS with an excess of blasts-2

Мы разделили пациентов МДС на группы с учетом наличия делеции 5q и количества бластных клеток:

- I. МДС с 5q-;
- II. МДС без избытка бластных клеток (МДС-КС, МДС-ЛД, МДС-МД);
- III. МДС с избытком бластных клеток (МДС-ИБ-1, МДС-ИБ-2). В каждой из этих групп была определена частота встречаемости аномальных цитометрических признаков и выполнено их сравнение с помощью критерия Фишера (табл. 6).

У пациентов с МДС с избытком бластных клеток частота встречаемости CD34⁺ миелобластных клеток более 2 % была выше, но при этом доля пациентов с повышенным количеством CD34⁺CD7⁺ миелобластных клеток была меньше, чем у пациентов с МДС с 5q- и МДС без избытка бластных клеток. Частота встречаемости сниженного количества В-клеточных предшественников и аномального индекса CD45 у пациентов с МДС без избытка бластных клеток была ниже, чем у пациентов с МДС с избытком бластов. Повышенная доля CD117⁺ клеток не встречалась у пациентов с МДС с 5q-, однако чаще обнаруживалась у пациентов группы III, чем у пациентов группы II (см. табл. 6).

Частота выявления сниженного индекса гранулярности была выше у пациентов МДС с 5q-, чем у пациентов группы II (МДС без избытка бластных клеток). Сниженная доля CD10⁺ гранулоцитов обнаруживалась с более высокой частотой у пациентов с МДС с избытком бластов, чем у пациентов с МДС без избытка бластных клеток. Аномальные паттерны гранулоцитов CD13 против CD11b и CD11b против CD16, а также повышенная экспрессия CD14 на гранулоцитах встречались

в более высокой пропорции в группе пациентов с МДС с избытком бластных клеток. Доля пациентов со сниженным относительным количеством моноцитов была выше в группе II, чем в группе III. Отличий по другим параметрам компартмента моноцитов в группах пациентов с МДС не выявлено (см. табл. 6).

Обсуждение

С учетом полученных данных и результатов работы Ogata K. и соавт. (2006) в скрининговых целях возможно применять «мини-панель» моноклональных антител, позволяющую произвести расчет оценки по 4-параметровой шкале Ogata score. При отклонении 2 параметров и более от нормальных значений авторы этой шкалы предполагали с большей вероятностью наличие МДС.

По нашим данным, 2 балла и более по шкале Ogata score определялись среди пациентов с МДС-ИБ-1 в 95 % и МДС-ИБ-2 в 94,4 % случаев. Доля пациентов с МДС без избытка бластных клеток с 2 и более баллами по шкале Ogata score составила только 57,6 % (МДС-КС – 71,4 %, МДС-ЛД – 50 % и МДС-МД – 54,5 %). Всего 2 балла и более выявлено у 60 (75,9 %) из 79 пациентов с МДС. У 2 пациентов с МДС обнаружили аномальное отсутствие CD34 на миелобластных клетках, что могло бы привести к неправильному подсчету бластных клеток без включения в анализ CD117. В исследовании, посвященном изучению возможности использования шкалы Ogata score в диагностических целях, диагноз МДС (т. е. наличие 2 и более баллов) подтверждался методом МПЦ у 65 % пациентов с МДС в Японии и у 89 % пациентов с МДС в Италии [15].

Расширенная панель моноклональных антител позволила более подробно изучить компартмент ранних предшественников, популяции гранулоцитов и моноцитов и обнаружить цитометрические аномалии у пациентов с МДС с количеством баллов по Ogata score менее 2. Так, при анализе по шкале Wells наиболее высокий средний балл был у пациентов с МДС-ИБ-1 и МДС-ИБ-2. Высокие баллы (4–9) по шкале Wells получены у 94,7 % пациентов с избытком бластных клеток (МДС-ИБ-1–90 %, МДС-ИБ-2–100 %), у 66,7 % пациентов без избытка бластных клеток (МДС-КС – 71,4 %, МДС-ЛД – 25 % и МДС-МД – 72,7 %) и у 50 % пациентов с МДС с 5q-. Шкала Wells имеет прогностическую ценность: баллы по данной шкале коррелируют с IPSS и WPSS, а также с продолжительностью жизни пациентов. Так, в исследовании Chu S.C. и соавт. (2011) медиана выживаемости у пациентов с минимальным баллом по шкале Wells (0–1) не была достигнута в течение 57 мес наблюдения, со средним баллом (2–3) составляла 19 мес, с высоким баллом (4–9) – 6 мес [17]. В исследовании Wells D.A. и соавт. (2003) показано, что баллы по шкале Wells были ассоциированы с прогнозом у пациентов с МДС, которым проводилась трансплантация

Таблица 6. Частота встречаемости аномальных цитометрических признаков у пациентов с МДС в группах I, II и III, а также оценки по шкалам Ogata и Ogata—Wells
Table 6. Frequency of abnormal cytometric signs in MDS patients in groups I, II and III, as well as Ogata and Ogata—Wells scales scores

Параметр Parameter	Группа МДС MDS group			p		
	I. МДС с 5q- (n = 8) I. MDS with 5q- (n = 8)	II. МДС без избытка бластных клеток (n = 33) II. MDS without excess of blasts (n = 33)	III. МДС с избытком бластных клеток (n = 38) III. MDS with excess of blasts (n = 38)	I против II I vs II	II против III II vs III	I против III I vs III
Ogata score ≥2 баллов, % Ogata score ≥2, %	62,5	57,6	94,7	Н. д. N. s. d.	0,0004	0,0307
Высокий балл (4–9) по шкале Wells, % High score (4–9) on the Wells scale, %	50	66,7	94,7	Н. д. N. s. d.	0,0042	0,0055
	12,5	24,2	0	Н. д. N. s. d.	0,0001	0,007
	12,5	15,2	0			
С по Ogata–Wells, % C by Ogata–Wells, %	75	60,6	100			
Анализ компартамента предшественников Analysis of precursors compartment						
CD34+ миелобластных клеток ≥2 % от CD45+ клеток, % CD34+ myeloblasts ≥2 % from CD45+ cells, %	12,5	30,3	94,7	Н. д. N. s. d.	<0,0001	<0,001
CD19+CD34+ <5 % от CD34+ клеток, % CD19+CD34+ <5 % from CD34+ cells, %	87,5	66,7	94,7	Н. д. N. s. d.	0,0042	Н. д. N. s. d.
Аномальный индекс CD45, % Abnormal CD45 index, %	50	24,2	65,8	Н. д. N. s. d.	0,007	Н. д. N. s. d.
Повышенная доля CD7+ миелобластных клеток, % An increased proportion of CD7+ myeloblast, %	87,5	57,6	15,8	Н. д. N. s. d.	0,0004	0,0002
Повышенная доля CD56+ миелобластных клеток, % An increased proportion of CD56+ myeloblast, %	28,6	48,5	31,6	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Аномальная экспрессия CD117, % CD117 abnormal expression, %	25,0	42,4	57,9	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Аномальная экспрессия CD34, % CD34 abnormal expression, %	37,5	24,3	26,3	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.

Продолжение табл. 6
Continuation of table 6

Параметр Parameter	Группа МДС MDS group			p		
	I. МДС с 5q- (n = 8) I. MDS with 5q- (n = 8)	II. МДС без избытка бластных клеток (n = 33) II. MDS without excess of blasts (n = 33)	III. МДС с избытком бластных клеток (n = 38) III. MDS with excess of blasts (n = 38)	I против II I vs II	II против III II vs III	I против III I vs III
Повышенная доля CD117 ⁺ клеток от CD45 ⁺ клеток, % An increased proportion of CD117 ⁺ cells from CD45 ⁺ cells, %	0	18,2	84,2	0,0353	0,0004	<0,0001
Анализ компартмента гранулоцитов Analysis of granulocyte compartment						
Сниженная доля гранулоцитов, % Reduced granulocytes proportion, %	62,5	66,7	78,9	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Сниженный индекс гранулярности, % Reduced granularity index, %	75,0	27,3	47,4	0,0352	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Повышенная доля CD56 ⁺ клеток, % Increased proportion of CD56 ⁺ cells, %	25,0	45,5	55,3	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Сниженная доля CD10 ⁺ клеток, % Reduced CD10 ⁺ cells proportion, %	12,5	9,1	34,2	Н. д. N. s. d.	0,0209	Н. д. N. s. d.
Аномальный CD13 против CD16, % Abnormal CD13 vs CD16, %	28,6	42,4	65,8	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Аномальный CD11b против CD16, % Abnormal CD11b vs CD16, %	14,3	39,4	68,4	Н. д. N. s. d.	0,018	0,0117
Аномальный CD13 против CD11b, % Abnormal CD13 vs CD11b, %	14,3	39,4	68,4	Н. д. N. s. d.	0,018	0,0117
Повышенная доля CD14 ⁺ клеток, % Increased proportion of CD14 ⁺ cells, %	0	36,4	57,9	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	0,004
Анализ компартмента моноцитов Analysis of monocyte compartment						
Повышенная доля моноцитов, % Increased proportion of monocytes, %	12,5	66,7	23,7	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Сниженная доля моноцитов, % Reduced monocytes proportion, %	0	33,3	15,8	Н. д. N. s. d.	0,027	Н. д. N. s. d.

Окончание табл. 6
End of table 6

Параметр Parameter	Группа МДС MDS group				p		
	I. МДС с 5q- (n = 8) I. MDS with 5q- (n = 8)	II. МДС без избытка бластных клеток (n = 33) II. MDS without excess of blasts (n = 33)	III. МДС с избытком бластных клеток (n = 38) III. MDS with excess of blasts (n = 38)		I против II I vs II	II против III II vs III	I против III I vs III
Аномальный CD13 против CD11b, % Abnormal CD13 vs CD11b, %	28,6	27,3	36,1		Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Аномальный CD36 против CD14, % Abnormal CD36 vs CD14, %	14,3	23,1	34,3		Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Аномальный CD11b против HLA-DR, % Abnormal CD11b vs HLA-DR, %	42,9	33,3	61,1		Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Повышенная доля CD56+ клеток, % Increased proportion of CD56+ cells, %	25,0	33,3	23,7		Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Повышенная экспрессия CD64, % Increased CD64 expression, %	12,5	9,1	18,4		Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.
Сниженная экспрессия CD64, % Reduced CD64 expression, %	0	6,1	2,6		Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.	Н. д. N. s. d.

Примечание. Н. д. – нет достоверных отличий; МДС – миелодиспластический синдром.

Note. N. s. d. – no significant differences; MDS – myelodysplastic syndrome.

аллогенных стволовых клеток крови. Вероятность развития рецидива после трансплантации составляла 3, 15 и 33 % ($p < 0,01$), а общая выживаемость — 74, 40 и 36 % ($p < 0,01$) в группах пациентов с минимальным, средним и высоким баллами соответственно [11].

Согласно рекомендациям по применению МПЦ в диагностике МДС 2014 г. шкалу Wells не рекомендуют использовать в целях верификации МДС [14]. Однако в исследовании Wells D.A. и соавт. (2003) продемонстрировано, что использование порога 3 балла и более позволило дифференцировать больных МДС и пациентов контрольной группы (не МДС) с чувствительностью 55 % и специфичностью 100 % [11]. В нашем исследовании 3 балла и более по шкале Wells было у 72 (91,1 %) из 79 пациентов с МДС: у 7 (87,5 %) из 8 МДС с 5q-, у 2 (50 %) из 4 с МДС-ЛД, у 6 (85,7 %) из 7 с МДС-КС, у 19 (86,4 %) из 22 с МДС-МД и у всех (100 %) пациентов с МДС-ИБ-1 и МДС-ИБ-2. Однако в нашем исследовании не была определена специфичность порога 3 балла и более Wells в связи с отсутствием контрольной группы пациентов (не МДС), что делает невозможным применять этот порог для верификации диагноза МДС. Нами оценивались и другие цитометрические параметры, которые не анализировались в работе Wells D.A. et al. (2003) (например, паттерны CD11b против CD16 и CD13 против CD11b, экспрессия CD10 и CD14 в компартменте гранулоцитов, паттерн CD36 против CD14 и экспрессия CD64 в компартменте моноцитов), поэтому порог дискриминации МДС может быть не 3 балла, а больше, что требует дальнейшего исследования.

Наиболее значимой для верификации диагноза МДС, согласно рекомендациям 2014 г., признана объединенная шкала Ogata–Wells, которая учитывает как балл по шкале Ogata score, так и более глубокий цитометрический анализ клеток основных линий миелопоэза [14]. В результате проведенного нами исследования применение шкалы Ogata–Wells позволило повысить диагностическую чувствительность метода по сравнению со скрининговой шкалой Ogata score. Оценки В и С были у 70 (88,6 %) из 79 пациентов с МДС. У всех пациентов с МДС-ИБ-1 и МДС-ИБ-2 вычислена оценка С. Из группы пациентов без избытка бластных клеток ($n = 33$) оценка А была у 14,3 % пациентов с МДС-КС, у 50 % пациентов с МДС-ЛД и у 22,7 % пациентов МДС-МД. Только у 1 пациента из группы МДС с 5q- не было цитометрических признаков МДС (оценка А). В исследовании Cremers E.M.P. и соавт. (2016) среди пациентов МДС суммарные оценки В и С были вычислены в 85 % случаев, что сопоставимо с нашими данными. Минимальные признаки дисмиелопоэза, оцененные методом МПЦ, были выявлены у пациентов с МДС с изолиро-

ванными дизэритропоэзом и/или дисмегакариопоэзом [18], что также обнаружено и в нашем исследовании.

При анализе частоты встречаемости аномальных цитометрических признаков было обнаружено, что аномалии экспрессии CD56, CD34 и CD117 на CD34⁺ клетках у пациентов с МДС без избытка бластных клеток (48,5, 24,3 и 42,4 % соответственно) и с МДС с 5q- (28,6, 37,5 и 25,0 % соответственно) встречались так же часто, как и у пациентов с МДС с избытком бластных клеток (31,6, 26,3 и 57,9 % соответственно). Однако частота повышенной доли CD34⁺CD7⁺ клеток была меньше у пациентов с избытком бластных клеток, чем при МДС с 5q- и МДС без избытка бластных клеток (15,8 против 87,5 %, $p = 0,0002$ и 15,8 % против 57,6 %, $p = 0,0004$ соответственно). У пациентов МДС с избытком бластных клеток чаще выявлялись аномальные паттерны гранулоцитов, а также сниженная доля CD10⁺ гранулоцитов. У пациентов с МДС с 5q- чаще выявлялся сниженный индекс гранулярности гранулоцитов по сравнению с МДС без бластных клеток (75,0 % против 27,3 %, $p = 0,0352$). При анализе компартмента моноцитов выявлено, что у пациентов с МДС без избытка бластных клеток чаще можно обнаружить сниженную долю моноцитов от всех клеток по сравнению с пациентами с МДС с избытком бластных клеток (33,3 % против 15,8 %, $p = 0,027$).

Заключение

У пациентов с МДС часто определяются цитометрические аномальные признаки дисмиелопоэза, но не существует одного универсального цитометрического параметра, который позволил бы достоверно подтверждать наличие диагноза МДС. Сокращенную панель Ogata score не рекомендуется применять в клинико-диагностических целях, так как чувствительность этого подхода невелика. Более глубокий анализ основных компартментов костного мозга (ранних предшественников миелопоэза, популяции гранулоцитов и моноцитов) позволяет повысить диагностическую чувствительность данного метода исследования при применении объединенной шкалы Ogata–Wells. Однако у пациентов с изолированным дизэритропоэзом и/или дисмегакариопоэзом возможно получение ложнонегативных результатов. Введение в цитометрический анализ исследования эритрокариоцитов, вероятно, будет способствовать повышению чувствительности метода. Следует иметь в виду, что МДС — это крайне гетерогенная группа заболеваний, требующая комплексного подхода в верификации диагноза, и введение в алгоритм обследования пациентов метода многоцветной проточной цитофлуориметрии может улучшить качество диагностики.

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

1. Swerdlow S.H. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th edition, revised. International Agency for research on Cancer, 2017.
2. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Кохно А.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению миелодиспластических синдромов взрослых (2015 г.). Гематология и трансфузиология 2016; 61(1S(4)):1–32. [Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Kokhno A.V. et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of myelodysplastic syndromes in adults (2015). *Gematologiya i transfuziologiya* = Hematology and Transfusiology 2016; 61(1S(4)):1–32. (In Russ.)].
3. Bowen D., Culligan D., Jowitt S. et al. Guidelines for the diagnosis and therapy of adult myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 2003;120(2):187–200. PMID: 12542475.
4. Matsuda A., Germing U., Jinnai I., et al. Improvement of criteria for refractory cytopenia with multilineage dysplasia according to the WHO classification based on prognostic significance of morphological features in patients with refractory anemia according to the FAB classification. *Leukemia* 2007;21(4):678–86. DOI: 10.1038/sj.leu.2404571. PMID: 17268513.
5. Двирнык В.Н., Кузьмина Л.А., Кохно А.В. и др. Особенности дисмиелопоэза у больных миелодиспластическими синдромами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Гематология и трансфузиология 2014;59(S1):91–2. [Dvirnyk V.N., Kuzmina L.A., Kokhno A.V. et al. Dismyelopoiesis features in patients with myelodysplastic syndromes after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. *Gematologiya i transfuziologiya* = Hematology and Transfusiology 2014;59(S1):91–2. (In Russ.)].
6. Ковригина А.М., Глинкина С.А., Байков В.В. Принципы патоморфологической дифференциальной диагностики миелодиспластических синдромов. Клиническая онкогематология 2015;8(1):62–8. [Kovrigina A.M., Glinkina S.A., Baikov V.V. Principles of pathomorphological differential diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Klinicheskaya onkogematologiya* = Clinical oncohematology 2015;8(1):62–8 (In Russ.)].
7. Soligo D., Delia D., Oriani A. et al. Identification of CD34+ cells in normal and pathological bone marrow biopsies by QBEND10 monoclonal antibody. *Leukemia* 1991;5(12):1026–30. PMID: 1723130.
8. Rogers H.J., Vardiman J.W., Anastasi J. et al. Complex or monosomal karyotype and not blast percentage is associated with poor survival in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome patients with inv(3)(q21q26.2)/t(3;3)(q21;q26.2): a Bone Marrow Pathology Group study. *Haematologica* 2014;99(5):821–9. DOI: 10.3324/haematol.2013.096420. PMID: 24463215.
9. Паровичникова Е.Н., Пименова М.А., Кохно А.В. и др. Хромосомные аномалии в кроветворных и стромальных клетках-предшественниках при миелодиспластическом синдроме. Гематология и трансфузиология 2013;58(4):33–40. [Parovichnikova E.N., Pimenova M.A., Kokhno A.V. et al. Chromosomal abnormalities in hematopoietic and stromal progenitor cells in myelodysplastic syndrome. *Gematologiya i transfuziologiya* = Hematology and Transfusiology 2013;58(4):33–40. (In Russ.)].
10. Давыдова Ю.О., Гальцева И.В., Кохно А.В., Паровичникова Е.Н. Роль многоцветной проточной цитофлуориметрии в диагностике миелодиспластических синдромов. Онкогематология 2018;13(1):63–72. [Davydova Yu.O., Galtseva I.V., Kokhno A.V., Parovichnikova E.N. Multicolor flow cytometry as a diagnostic tool in myelodysplastic syndromes. *Onkogematologiya* = Oncohematology 2018;13(1):63–72 (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-63-72.
11. Wells D.A., Benesch M., Loken M.R. et al. Myeloid and monocytic dyspoiesis as determined by flow cytometric scoring in myelodysplastic syndrome correlates with the IPSS and with outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2003;102(1):394–403. DOI: 10.1182/blood-2002-09-2768. PMID: 12649150.
12. van de Loosdrecht A.A., Alhan C., Bene M.C. et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2009;94(8):1124–34. DOI: 10.3324/haematol.2009.005801. PMID: 19546437.
13. Westers T.M., Ireland R., Kern W. et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group. *Leukemia* 2012;26(7):1730–41. DOI: 10.1038/leu.2012.30. PMID: 22307178.
14. Porwit A., van de Loosdrecht A.A., Bettelheim P. et al. Revisiting guidelines for integration of flow cytometry results in the WHO classification of myelodysplastic syndromes-proposal from the International/European LeukemiaNet Working Group for Flow Cytometry in MDS. *Leukemia* 2014;28(9):1793–8. DOI: 10.1038/leu.2014.191. PMID: 24919805.
15. Ogata K., Kishikawa Y., Satoh C. et al. Diagnostic application of flow cytometric characteristics of CD34+ cells in low-grade myelodysplastic syndromes. *Blood* 2006;108(3):1037–44. DOI: 10.1182/blood-2005-12-4916. PMID: 16574954.
16. van de Loosdrecht A.A., Westers T.M. Cutting edge: flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *J Natl Compr Canc Netw* 2013;11(7):892–902. PMID: 23847222.
17. Chu S.C., Wang T.F., Li C.C. et al. Flow cytometric scoring system as a diagnostic and prognostic tool in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2011;35(7):868–73. DOI: 10.1016/j.leukres.2011.02.016. PMID: 23847222.
18. Cremers E.M.P., Westers T.M., Alhan C. et al. Multiparameter flow cytometry is instrumental to distinguish myelodysplastic syndromes from non-neoplastic cytopenias. *Eur J Cancer* 2016;54:49–56. DOI: 10.1016/j.ejca.2015.11.013. PMID: 26720403

Вклад авторов

Ю.О. Давыдова: написание текста рукописи, получение и сбор данных для анализа, проведение статистического анализа;
 И.В. Гальцева, Е.Н. Паровичникова, А.В. Кохно, Н.М. Капранов: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи, сбор и интерпретация данных;
 В.В. Троицкая, Е.А. Михайлова, З.Т. Фидарова, Т.Н. Моисеева, Л.А. Кузьмина, Е.А. Лукина: ведение больных, предоставление материалов;
 Т.Н. Обухова, Л.А. Гребенюк: проведение цитогенетических исследований, верификация диагноза;
 А.М. Ковригина: гистологическое исследование трепанобиоптатов, верификация диагноза;
 В.Н. Двирнык: цитологическое и цитохимическое исследования пунктатов костного мозга, верификация диагноза;
 В.Г. Савченко: концепция и дизайн исследования.

Authors' contributions

Yu.O. Davydova: article writing, data collection, statistical analysis;
 I.V. Galtseva, E.N. Parovichnikova, A.V. Kokhno, N.M. Kapranov: study design, article writing, data collection, interpretation of data;
 V.V. Troitskaya, E.A. Mikhailova, Z.T. Fidarova, T.N. Moiseeva, L.A. Kuzmina, E.A. Lukina: management of patients, provision of materials;
 A.M. Kovrigina: histological examination of trephine biopsy materials, diagnosis verification;
 T.N. Obukhova, L.A. Grebenyuk: performance of cytogenetic study, diagnosis verification;
 V.N. Dvirnyk: performance of cytological and cytochemical examination of bone marrow, diagnosis verification;
 V.G. Savchenko: study concept and design.

ORCID авторов / ORCID of authors

Ю.О. Давыдова / Yu.O. Davydova: <https://orcid.org/0000-0001-5932-0285>
 И.В. Гальцева / I.V. Galtseva: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>
 Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>
 А.В. Кохно / A.V. Kokhno: <https://orcid.org/0000-0003-0261-5941>
 Н.М. Капранов / N.M. Kapranov: <https://orcid.org/0000-0002-6512-910X>
 В.В. Троицкая / V.V. Troitskaya: <https://orcid.org/0000-0002-4827-8947>
 Е.А. Михайлова / E.A. Mikhailova: <https://orcid.org/0000-0002-2449-2682>
 З.Т. Фидарова / Z.T. Fidarova: <https://orcid.org/0000-0003-0934-6094>
 Л.А. Кузьмина / L.A. Kuzmina: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>
 Е.А. Лукина / E.A. Lukina: <https://orcid.org/0000-0002-8774-850X>
 А.М. Ковригина / A.M. Kovrigina: <https://orcid.org/0000-0002-1082-8659>
 В.Н. Двирнык / V.N. Dvirnyk: <https://orcid.org/0000-0002-9877-0796>
 В.Г. Савченко / V.G. Savchenko: <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 13.07.2018. **Принята к публикации:** 14.08.2018.

Article received: 13.07.2018. **Accepted for publication:** 14.08.2018.

Исследования, инициированные исследователями: современные тенденции

А.Г. Торубарова, М.Б. Насонова

АО «Алмедис»; Россия, 119435 Москва, ул. Малая Пироговская, 5

Контакты: Анна Геннадиевна Торубарова anna.torubarova@almedis.ru

В последнее время в мире вырос интерес к исследованиям, инициированным исследователями (Investigator Initiated Trials (ИИТ), или Investigator Initiated Studies (ИИС)), в области фармацевтики и медицины. Актуальность таких исследований обусловлена, с одной стороны, сложившейся ситуацией в медицине и фармацевтике, в том числе ростом знаний о механизмах развития заболеваний, потенциальных мишенях для воздействия лекарственных препаратов, а с другой — развитием технологий, прежде всего Интернета и компьютерных методов, которые создают возможности для организации совместной работы исследователей, сбора и обработки информации. Практически все участники процесса создания новых препаратов и методов лечения — фармацевтические компании, регуляторные органы, ассоциации врачей и пациентов — осознают важность ИИТ и занимаются разработкой и усовершенствованием механизмов поддержки этих исследований.

Цель данной статьи — обзор новых тенденций в ИИТ в мире и возможностей проведения их в России, а также обмен опытом в разработке, одобрении и проведении международных ИИТ в нашей стране.

Ключевые слова: исследования, инициированные исследователями, клинические исследования, Investigator Initiated Trials (ИИТ), Investigator Initiated Studies (ИИС), Investigator Initiated-Sponsored Research

Для цитирования: Торубарова А.Г., Насонова М.Б. Исследования, инициированные исследователями: современные тенденции. Онкогематология 2018;13(4):89–94.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-89-94

Investigator Initiated Trials: modern trends

A.G. Torubarova, M.B. Nasonova

Almedis; 5 Malaya Pirogovskaya St., Moscow 119435, Russia

Recently, interest in Investigator Initiated Trials (ИИТ)/Investigator Initiated Studies (ИИС) in pharmaceuticals and medicine has increased. The relevance of such trials is due, on the one hand, to increased knowledge of diseases pathogenesis, potential targets for drug exposure, and on the other, the development of technologies, primarily the Internet and computer methods that create opportunities for organizing collaboration, the collection and processing of information. Almost all participants in the process of creating new drugs and treatments — pharmaceutical companies, regulatory authorities, associations of doctors and patients — have realized the importance of supporting ИИТ and developed mechanisms for this.

The purpose of this article is to review new trends in ИИТ in the world and the possibilities for conducting them in Russia, and also exchange of experience in the development, approval and implementation of international ИИТ in our country.

Key words: clinical trials, Investigator Initiated Trials (ИИТ), Investigator Initiated Studies (ИИС), investigator initiated-sponsored research

For citation: Torubarova A.G., Nasonova M.B. Investigator initiated trials: modern trends. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(4): 89–94.

Введение

В последнее время в мире вырос интерес к исследованиям в области фармацевтики и медицины, инициированным самими исследователями, так называемым Investigator Initiated Trials (ИИТ), или Investigator Initiated Studies (ИИС) [1, 2]. До этого в течение более 10 лет число таких исследований было невелико. В Европе количество ИИТ уменьшилось после введения в действие директив, более жестко регламентирующих исследования у людей [3]. В других странах также внедрялись требования к ИИТ, как со стороны регуля-

торных органов, так и со стороны фармацевтических компаний-спонсоров. Однако за последние годы интерес к клиническим ИИТ повсеместно повысился.

Причин для роста интереса к ИИТ несколько.

За последние десятилетия понимание патогенеза различных заболеваний поднялось на качественно новый уровень, а количество зарегистрированных редких заболеваний превысило несколько тысяч. Были выявлены новые потенциальные мишени воздействия лекарственных препаратов, и в настоящий момент их насчитывают сотни [4, 5]. В условиях, когда

потенциальных целей для исследований стало много, необходимы привлечение и координация усилий всех участников процесса — академических институтов, врачебных ассоциаций, фармацевтических компаний, регуляторных органов.

Исследования фармацевтических компаний направлены, прежде всего, на регуляторное одобрение препаратов в целях вывода их на рынок. Протоколы исследований фармацевтических компаний-спонсоров подвергаются критике из-за сужения популяции пациентов в соответствии с критериями включения/исключения, других ограничений дизайна, которые не дают возможности получить цельную картину лечения исследуемым препаратом в реальных условиях. ИТ дополняют исследования фармацевтических компаний, оценивая лечение в условиях реальной практики, изучая новые ниши и даже дополняя показания для лечения препаратом.

Современные средства связи — Интернет, социальные сети и компьютерные технологии — вывели на новый уровень возможности взаимодействия и информированность врачей, позволили организовать совместную работу многих географически удаленных участников, улучшили логистику и инструменты сбора информации. Это позволяет успешно координировать усилия и проводить ИТ с широким охватом центров в разных странах, например, в области редких болезней и орфанных препаратов [6, 7].

В настоящее время в поиске новых возможностей лечения в мире активно участвуют ассоциации пациентов по различным нозологическим формам, это происходит и в нашей стране. Пациентские организации проводят просветительскую работу среди пациентов и членов их семей, организуют взаимодействие пациентов между собой, с фармацевтическими компаниями и медицинскими учреждениями, активно участвуют в привлечении новых спонсоров для финансирования ИТ. Эффективной формой поддержки исследований, направленных на лечение определенной болезни, стали также специализированные фонды (disease-focused foundations) [5].

Фармацевтические компании в последние годы выражают серьезную заинтересованность в ИТ, так как они предоставляют большие возможности для научной, экономически эффективной поддержки исследований произведенных компаниями препаратов. Все чаще проводятся клинические исследования ранних фаз, например, в целях изучения новых показаний для назначения препаратов в онкологии. Практически все международные компании разработали свои внутренние правила утверждения ИТ, требования к их проведению и сделали процесс подачи заявки максимально дружественным для потенциального исследователя [8–10]. Конечно, компании имеют приоритеты среди областей исследования, направленные, прежде всего, на расширение рынка сбыта препаратов компании, их дальнейшее продвижение. Нередко и вне этих

приоритетов врачам и научным медицинским ассоциациям удастся получить поддержку компаний для проведения наукоемких и имеющих большой практический интерес исследований, а компаний-спонсоров в таких исследованиях может быть несколько.

Таким образом, роль исследований лекарственных препаратов, инициированных исследователями, возрастает. Однако методологическая оснащенность их проведения не всегда соответствует современным требованиям, как за рубежом, так и в России. Не всегда врачи-исследователи владеют специальными знаниями по методологии работы, инструментами сбора данных. Насущным является вопрос участия грамотных специалистов-биостатистиков на этапах планирования, выполнения проекта и анализа полученных данных. Современные требования ко всем аспектам проведения научных медицинских исследований обуславливают необходимость привлечения мультидисциплинарных команд исполнителей с хорошим уровнем понимания проблем и взаимодействия [11].

Научная работа медицинских институтов и клиник в области исследований лекарственных препаратов и других методов лечения ранее регламентировалась не столь строго, как это всегда было в фармацевтической индустрии. Многие академические центры и сейчас не имеют адекватных правил, стандартных операционных процедур и системы контроля за исследованиями. В настоящее время в разных странах ведется активная работа по разработке и внедрению регламентирующих документов по подготовке и проведению ИТ.

В нашей стране также повышается интерес к ИТ, поэтому в данной статье мы хотим отразить современные тенденции и имеющийся опыт в этой области. Мы рассмотрим регуляторные рамки и возможности проведения ИТ в России, поделимся нашим опытом сотрудничества в разработке ИТ, одобрения и проведения международных ИТ в нашей стране.

Виды исследований, инициированных исследователями

Теоретически ограничений в видах ИТ нет, однако в реальной практике примеров вывода на рынок новых молекул или лекарственных форм на основании данных ИТ не существует. Очевидно, что это прерогатива фармацевтических компаний — производителей лекарственных препаратов, имеющих лаборатории и производственные площадки и проводящих большую работу по доклиническим исследованиям и исследованиям ранних фаз. Проведение регистрационных исследований III фазы обычно требует очень внушительного финансирования и больших организационных усилий.

В большинстве случаев ИТ являются не столь масштабными, как клинические исследования III фазы, и имеют менее «сложный» дизайн. Нередко в рамках ИТ проводят исследования для доказательства адекватности концепции лечения или эксплораторные исследования [12]. Часто ИТ выполняют для расширения

показаний уже доступного на рынке препарата [1]. Подобного рода проекты наиболее распространены в таких областях, как онкология, онкогематология, где актуальны проблемы новых альтернативных вариантов лечения [6, 13], а также в дерматологии, где имеются множество нозологических форм и разнообразные (в том числе топические) лекарственные препараты.

В последние годы растет также количество многоцентровых исследований IV фазы по сравнению разных видов терапии и алгоритмов лечения, а также неинтервенционных исследований использования препаратов в реальной практике. Эти ИТ в большинстве случаев организуются профессиональными ассоциациями врачей с привлечением различных источников финансирования и могут иметь как национальный, так и международный формат [4, 6, 11]. ИТ редких болезней довольно часто инициируются в последние годы. Они требуют вовлечения множества исследовательских центров, в ряде случаев проводятся под патронажем специально созданных организаций и фондов с широкой поддержкой со стороны ассоциаций пациентов [5].

Регуляторная практика исследований, инициированных исследователями

В практике проведения исследований лекарственных препаратов фармацевтическими компаниями-спонсорами и врачами, научными медицинскими организациями существовали и продолжают существовать большие отличия. Первые работали в условиях жесткого регламентирования, а вторые — в условиях исторически сложившихся подходов различных институтов и научных школ.

В последние годы страны-лидеры в разработке новых методов лечения предприняли шаги по повышению стандартов ИТ. Регуляторные органы этих стран поддерживают рост ИТ и видят свою задачу в том, чтобы внедрить высокие стандарты качества их проведения и помочь в разработке методологической базы.

Согласно регуляциям Европейского союза (ЕС), относящимся к компетенции Европейского агентства лекарственных средств (ЕМА), ИТ входят в категорию некоммерческих [14, 15]. Существуют документы по согласованию административных процессов в странах-членах ЕС, оптимизации исследований и повышению надежности результатов. Многие врачи и исследовательские группы разных стран ЕС изначально критически отнеслись к требованиям принятых директив. Действительно, административное бремя при подготовке и проведении исследований выросло, а бюджеты на них увеличились из-за введения специального вида страхования и других обязательных затрат. Различия в национальных законодательствах разных стран затрудняли и продолжают затруднять внедрение общих правил ИТ в странах ЕС. Однако сейчас можно сделать вывод о том, что права пациентов в ИТ, проводимых

в ЕС, стали защищены лучше, а качество полученных в них результатов растет. На смену спаду ИТ после принятия директив и до адаптации к их требованиям пришел подъем, особенно в странах, которые приняли системные меры по их поддержке, — Дании, Германии, Франции [16].

США были и остаются лидером в регламентации исследований в области медицины, разработке методологии их проведения и стандартизации различных аспектов деятельности. В 2015 г. Управление по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (FDA) выпустило предварительную версию руководства по проведению клинических исследований для исследователей, выступающих в роли спонсора (Investigational New Drug Applications Prepared and Submitted by Sponsor-Investigators). Целью этого руководства является помощь спонсорам-исследователям в подготовке и представлении заявок на исследуемые лекарственные средства (Investigational New Drug, IND), так как исследователи, желающие проводить клинические исследования, часто не имеют экспертных знаний или ресурсов для подготовки и подачи заявки. В руководстве изложены также обязанности спонсоров-исследователей в процессе проведения исследования [17]. Крупные медицинские центры США и ассоциации врачей ведут большую работу по внедрению правил ИТ и поддержке своих исследователей при их проведении — методической, технической, финансовой [18].

Страны Азии ориентируются на лучшую практику проведения ИТ. Среди азиатских стран развита кооперация и обмен опытом в регламентации и методологии проведения ИТ [19, 20]. В Японии специалисты из Министерства здравоохранения, труда и благосостояния в течение последних лет предприняли комплексные меры по обеспечению их качества [21].

В Австралии и Канаде существует широкая практика проведения ИТ, в том числе медицинскими сообществами, которая также имеет развитую регуляторную поддержку [11, 22, 23].

Экономическая эффективность исследований, инициированных исследователями

Помимо научных результатов, улучшающих возможности лечения пациентов и их безопасность, ИТ имеют экономическую эффективность. Например, в Австралии был рассчитан экономический эффект от ряда многоцентровых ИТ, проведенных в области лечения инсульта, интенсивной терапии неотложных состояний и перинатальной помощи. Полученные в них результаты позволили снизить расходы на лечение в этих областях за счет внедрения оптимальных схем терапии [12, 23].

В целом стоимость ИТ ниже стоимости похожих по целям и масштабу исследований, проводимых фармацевтическими компаниями. Аналитическая работа инициаторов этих исследований не подлежит оплате,

стоимость работы центров ниже, а гранты некоммерческих фондов не облагаются налогами (или облагаются в меньшей степени).

Фармацевтическая индустрия и исследования, инициированные исследователями

В условиях жесткой конкуренции и увеличения затрат на разработку лекарственных препаратов фармацевтические компании рассматривают ИТ как весомую поддержку жизненного цикла и информационной базы своих препаратов. Практически все международные компании ведут политику активного привлечения ИТ, для этого выделены бюджеты, созданы рабочие группы, регламенты и инструменты. В большинстве компаний заявители на потенциальное ИТ из разных стран могут подать электронные заявки на исследование, получая подробные инструкции и дистанционное консультирование [8–10]. Если исследование будет одобрено, помимо возможного финансирования и предоставления препарата, исследователь сможет получать методическую помощь от специалистов компании или контрактной исследовательской организации. Фармацевтическая компания должна убедиться в этической чистоте ИТ, обеспечить и проконтролировать соответствие его проведения всем локальным законам, нормативным требованиям и собственным стандартам для ИТ. Важно понимать, что рассмотрение заявки на ИТ в связи с этим может занять в компании много времени.

Нередко компании публикуют приоритетные области проведения ИТ. Вполне объяснимо, что на практике компании чаще одобряют заявки из стран, где их препараты имеют наибольший рынок, а также заявки, поданные самыми авторитетными врачебными ассоциациями. Однако, в случае интересной концепции предложенного ИТ и предоставления убедительных свидетельств компетенции заявителя, могут быть удовлетворены также заявки менее известных групп и отдельных исследователей.

Оценивая риски ИТ, компании в качестве основного риска чаще всего выдвигают получение искаженных результатов, что возможно в случае привлечения недостаточно опытных исследователей. Поэтому соответствующая квалификация потенциальных участников ИТ является основным требованием для одобрения заявки.

Исследования, инициированные исследователями, в России

В России в соответствии с действующим законодательством научно-исследовательские организации и образовательные учреждения высшего или дополнительного профессионального образования могут выступать организаторами проведения клинических исследований. Поэтому, несмотря на то, что у нас нет юридического определения ИТ и, соответственно, нет специального законодательства, регламентирующего

их проведение, в большинстве случаев все же есть возможность «вписать» эти исследования в рамки российского регулирования и получить одобрение на их выполнение. Нужно также иметь в виду, что, в отличие, например, от США, в России исследователь как физическое лицо не может выступать спонсором ИТ.

В случае проведения международных ИТ могут потребоваться локальные поправки к протоколу, уточняющие роли участников исследования в соответствии с определениями российских законов. Иногда приходится «переквалифицировать» исследование, например из наблюдательного в клиническое. В российском законодательстве, в отличие от европейского, пока нет категории низкоинтервенционного исследования (Low Interventional Study). Протокол наблюдательного ИТ, единственным вмешательством в котором является рандомизация пациента в ту или иную группу лечения, приходится перерабатывать в протокол клинического исследования IV фазы, а само исследование проводить по правилам клинического, что означает страхование пациентов и соблюдение ряда прочих требований. Однако, даже имея большой опыт в адаптации международных ИТ для проведения в России, мы столкнулись с единичными исследованиями, которые оказалось невозможным выполнить, так как их основная задача не согласовалась с регуляторными требованиями. Примером служит ИТ для оценки влияния прекращения терапии определенными препаратами на исход лечения.

Также, поскольку для проведения ИТ требуется полный комплект документов (как и для исследований, инициированных компанией-спонсором), а часть из них находится в распоряжении фармацевтической компании, инициаторам ИТ нужно поддерживать взаимодействие с ней, чтобы получить нужные документы. Так, в России для проведения клинических исследований препаратов, уже доступных на рынке, требуется брошюра исследователя. Для препаратов, выпущенных давно, брошюры исследователя может вообще не существовать, а требование ее наличия закреплено в законе.

При этом со стороны как врачей, так и фармацевтических компаний есть большой интерес к проведению ИТ в России. Для того чтобы обеспечить выполнение необходимых требований к ИТ, нужно улучшать информированность врачей, привлекать специалистов требуемой квалификации, повышать готовность академических институтов и медицинских учреждений к такой работе.

Заключение

Фармацевтическая индустрия и исследователи могут иметь разные ожидания от ИТ. Однако понятно, что они и, главное, пациенты выигрывают от проведения методически грамотных исследований. Даже в случае, когда результат ИТ окажется отрицательным, полученные знания и опыт помогут корректировать

лечение и предотвратить неудачи терапии в повседневной практике.

Таким образом, ИТ являются важным востребованным элементом улучшения качества лечения, поскольку они предоставляют независимые доказательства эффективности лечения или его экономической целесообразности, а также помогают найти новые показате-

ния для уже существующих или даже находящихся на этапе исследования препаратов.

В целях увеличения количества и повышения качества таких ИТ в России следует проводить специализированное образование врачей, работать над улучшением нормативной базы и привлекать к их выполнению высококвалифицированных специалистов.

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

1. PI-Initiated vs. Industry-Initiated Clinical Trials Reference Guide. University of California, San Diego, Last Updated. February 7, 2018. Available at: <https://blink.ucsd.edu/research/preparing-proposals/clinical-research-trials/pi-vs-industry.html>.
2. Fourman J. Investigator Initiated Trials. BIRS Center Purdue 2017. Available at: <https://www.purdue.edu/discoverypark/birs/presentations/Investigator%20Initiated%20Trials%20Ppt.pdf>.
3. Gökbüget N. The Situation of Investigator Initiated Trials in Europe, 2009. Available at: https://www.leukemia-net.org/content/international_trials/workshops/2supnd_sup_workshop_09/e7613/infoboxContent7614/InternationalIITs_Overview_ELN_Gkbüget_2009.pdf.
4. Moscicki R. CDER 2016 Update for Rare Diseases. Available at: <https://www.fda.gov/downloads/aboutfda/centersoffices/officeofmedicalproductsandtobacco/cder/ucm542141.pdf>.
5. Field M.J., Boat T.F. Rare disease and orphan products Accelerating Research and Development, Committee on Accelerating Rare Diseases Research and Orphan Product Development, Institute of Medicine of the National Academies, the National Academies Press. Available at: <https://www.nap.edu/read/12953/chapter/1>.
6. Attal M., Lauwers-Cances V., Hulin C. et al. Lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone with transplantation for myeloma. *N Engl J Med* 2017;376(14):1311–20. DOI: 10.1056/NEJMoa1611750. PMID: 28379796.
7. Ramsey B.W., Nepom G.T., Lonial S. Academic, foundation, and industry collaboration in finding new therapies. *N Engl J Med* 2017;376(18):1762–9. DOI: 10.1056/NEJMra1612575. PMID: 28467868.
8. Novartis Investigator Initiated Trials (IITs) Guidelines, 2014. Available at: <https://www.novartis.com/sites/www.novartis.com/files/novartis-investigator-initiated-trials.pdf>.
9. Investigator Initiated Studies (IIS) Creating and Submitting an Application, external user role. Abbvie, 2017. Available at: www.abbvie.com/content/dam/abbvie-dotcom/uploads/PDFs/SPIRIT_External_Submitter_Guide.pdf.
10. Investigator Initiated Studies. Roche, 2018. Available at: www.roche.com/research_and_development/who_we_are_how_we_work/investigator-initiated-studies-portal.htm.
11. Беденков А. Поддержка исследовательских инициатив научных лидеров. *Ремедиум* 2012;5:51–2. [Bedenkov A. Supporting research initiatives of scientific leaders. *Remedium* = *Remedium* 2012;5:51–2. (In Russ.)].
12. National breast cancer foundation investigator initiated research scheme guidelines. Australia. Available at: <https://nbcf.org.au/research/information-for-researchers/grants-information/nbcf-grants-scheme/>.
13. A Randomized Phase III Study Comparing Conventional Dose Treatment Using a Combination of Lenalidomide, Bortezomib and Dexamethasone (RVD) to High-Dose Treatment with Peripheral Stem Cell Transplant in the Initial Management of Myeloma in Patients up to 65 Years of Age (IFM/DFCI 2009). Trial Protocol, EudraCT Number: 2009-016871-32.
14. Clinical trials in human medicines, EMA. Available at: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/special_topics/general/general_content_000489.jsp.
15. Hartmann M. Impact of the new legislative framework within the European Union on non-commercial clinical research and investigator-initiated trials: a cross-European analysis with focus on oncology. *Wissenschaftliche Pfungsarbeit zur Erlangung des Titels "Master of Drug Regulatory Affairs". Der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, 2005.*
16. Madeira C., Pais A., Kubiak C. Investigator-initiated clinical trials conducted by the Portuguese Clinical Research Infrastructure Network (PtCRIN), 2016. Elsevier Inc. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.conctc.2016.08.002>.
17. Investigational New Drug Applications Prepared and Submitted by Sponsor-Investigators. Guidance for Industry. FDA, Draft guidance, 2015. Available at: <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM446695.pdf>.
18. Hartman K.A. Creating Infrastructure Support for Investigator Initiated Research. Research Compliance, Mayo Clinic HCCA Research Compliance Conference, 2017. Available at: https://www.hcca-info.org/Portals/0/PDFs/Resources/Conference_Handouts/Research_Compliance/2017/V1_ses_R501_3slides.pdf.
19. Bang Y.J., Chan K.A., Tan S. et al. IIT Made Easy Investigator Initiated Trials Made Easy, Sponsored by Quintiles, 2015. Available at: <https://www.iqvia.com/-/media/iqvia/pdfs/ap-location-site/iit-made-easy.pdf>.
20. Trimble E.L., Ledermann J., Law K. et al. International models of investigator-initiated trials: implications for Japan. *Ann Oncol* 2012;23(12):3151–5. DOI: 10.1093/annonc/mds168. PMID: 22843420.
21. Yasuyuki Sahara. MHLW's Measures to Ensure the Reliability of Investigator-Initiated Clinical Trials. Ministry of Health, Labour and Welfare. Japan, 2013. Available at: https://www.wma.net/wp-content/uploads/2017/01/Yasuyuki_Sahara.pdf.
22. Thurlow J. Introduction to Investigator-Initiated Research, Presentation to Division of Cardiology. January 26, 2011, Canada Rm. 121, 5790 University Ave. 473–4841. Available at: www.cdha.nshealth.ca/system/files/sites/391/documents/introduction-investigator-initiated-research-presentation.pdf.
23. Economic evaluation of investigator-initiated clinical trials conducted by networks. Final report. The Australian Clinical Trials Alliance, in association with Quantum Health Outcomes. Australian Commission on Safety and Quality in Health Care 2017. Available at: <https://www.safetyandquality.gov.au/wp-content/uploads/2017/07/Economic-evaluation-of-investigator-initiated-clinical-trials-conducted-by-networks.pdf>.

Вклад авторов

А.Г. Торубарова: написание текста рукописи;
М.Б. Насонова: обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contributions

A.G. Torubarova: article writing;
M.B. Nasonova: reviewing of publications on the article's topic.

ORCID авторов/ORCID of authors

А.Г. Торубарова/A.G. Torubarova: <https://orcid.org/0000-0002-0632-0959>
М.Б. Насонова/M.B. Nasonova: <https://orcid.org/0000-0003-2827-7354>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 17.10.2018. **Принята к публикации:** 28.11.2018.

Article received: 17.10.2018. **Accepted for publication:** 28.11.2018.

Особенности иммунофенотипа опухолевых клеток у детей с острым лимфобластным лейкозом и наличием транслокации t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1

Ж.В. Пермикин^{1,2}, А.М. Попов³, Т.Ю. Вержбицкая^{2,4}, Т.О. Ригер^{2,4}, О.Р. Аракаев^{2,4}, А.А. Власова², Ю.В. Олышанская³, А.Н. Казакова³, С.В. Цвиренко^{1,2}, Л.И. Савельев^{1,2,4}, Г.А. Цаур^{1,2,4,5}, Л.Г. Фечина^{2,4}

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Россия, 620028 Екатеринбург, ул. Репина, 3;

²ГАОУ СО «Областная детская клиническая больница»; Россия, 620149 Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

⁴ГАОУ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026 Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

⁵ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН»; Россия, 620049 Екатеринбург, ул. Первомайская, 106

Контакты: Александр Михайлович Попов uralcytometry@gmail.com

Цель исследования — поиск иммунофенотипических маркеров для прогнозирования наличия транслокации t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1.

Результаты. Транслокация t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 была обнаружена у 118 (22,4 %) из 526 обследованных пациентов с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников. Опухолевые бласты пациентов с транслокацией t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 достоверно чаще имели высокую экспрессию CD10, а также коэкспрессию миелоидных маркеров CD13, CD33 и CD117. Для них также было типично отсутствие экспрессии CD20. В то же время полученные нами результаты не позволили найти отдельный иммунофенотипический маркер, который с высокой долей достоверности мог бы предсказывать наличие t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1.

Заключение. Таким образом, применение стандартного перечня иммунологических маркеров не позволяет уверенно выделить данную группу пациентов. Однако расширение диагностической панели, высокий уровень стандартизации проточной цитометрии и дополнительные методы анализа цитометрических данных могут позволить достаточно точное выявление пациентов, относящихся к этой клинически значимой подгруппе.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, иммунофенотипирование, транслокация t(12;21)(p13;q22)

Для цитирования: Пермикин Ж.В., Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю. и др. Особенности иммунофенотипа опухолевых клеток у детей с острым лимфобластным лейкозом и наличием транслокации t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1. Онкогематология 2018;13(4): 95–103.

DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-4-95-103

Flow cytometric analysis of leukemic blast cells in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with translocation t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1

Zh. V. Permikin^{1,2}, A. M. Popov³, T. Yu. Verzhbitskaya^{2,4}, T. O. Riger^{2,4}, O. R. Arakayev^{2,4}, A. A. Vlasova², Yu. V. Olshanskaya³, A. N. Kazakova³, S. V. Tsvirenko^{1,2}, L. I. Savelyev^{1,2,4}, G. A. Tsaur^{1,2,4,5}, L. G. Fechina^{2,4}

¹Ural State Medical University; 3 Repina St., Ekaterinburg 620030, Russia;

²Regional Children's Hospital; 32 Serafimy Deryabinoy St., Ekaterinburg 620149, Russia;

³Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology; 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia;

⁴Research Institute of Medical Cell Technologies; 22a Karla Marksa St., Ekaterinburg 620026, Russia;

⁵Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 106 Pervomayskaya St., Ekaterinburg 620049, Russia

The objective of the study was searching for surface antigen expression that could predict presence of translocation t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia patients.

Results. ETV6-RUNX1 fusion gene transcript was revealed in 118 (22.4 %) out of 526 children with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. Leukemic blast cells in ETV6-RUNX1-positive patients more frequently had high CD10 expression, myeloid markers co-expression, including CD13, CD33, CD117, and absence of CD20 than in ETV6-RUNX1-negative ones. Nevertheless diagnostic test performance characteristics of each single parameter was not strong enough for predicting the presence of translocation t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1.

Conclusion. Thus application of conventional set of immunological markers does not allow reliable distinguishing this patients' subgroup.

However antibodies panel enlargement, high degree of flow cytometry standardization and additional analytical methods can potentially improve applicability of antigen profile analysis for separation of patients with translocation $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, immunophenotype, translocation $t(12;21)(p13;q22)$

For citation: Permikin Zh. V., Popov A. M., Verzhbitskaya T. Yu. et al. Flow cytometric analysis of leukemic blast cells in pediatric b-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with translocation $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2018;13(4): 95–103.

Введение

У детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) и повторяющимися генетическими aberrациями наиболее часто встречающейся структурной перестройкой является транслокация $t(12;21)(p13;q22)$, ведущая к образованию химерного гена *ETV6-RUNX1 (TEL-AML1)* [1–3]. Данная хромосомная aberrация считается криптической, т. е. ее невозможно выявить при стандартном цитогенетическом анализе [4]. Поэтому для ее определения необходимо использовать такие высокотехнологичные методы клинической лабораторной диагностики, как флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) и обратно-транскриптазная полимеразная цепная реакция (ОТ-ПЦР) [4–6]. К сожалению, в нашей стране эти методы используются только в ограниченном числе лабораторий. Важность выявления транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ связана с тем, что она ассоциирована с благоприятным прогнозом при ОЛЛ у детей [7–11], в том числе при существенном снижении продолжительности терапии [12].

Ранее неоднократно предпринимались попытки найти иммунофенотипические маркеры, ассоциированные с наличием данной транслокации для того, чтобы проводить прицельный поиск транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$. Наиболее убедительные данные получены для иммунофенотипа, соответствующего ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) с экспрессией CD27, отсутствием и/или слабой экспрессией CD44, а также с отсутствием экспрессии CD20, CD9, CD66c [13–19]. Однако вышеперечисленные маркеры, кроме CD20, редко используются на этапе первичного иммунофенотипирования при установлении диагноза ОЛЛ. Поэтому нами был принят поиск иммунофенотипических критериев, применяемых в общепринятой диагностической панели [20, 21], для прогнозирования наличия транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$.

Цель исследования — оценить особенности иммунофенотипа бластных клеток у детей с ВП-ОЛЛ и наличием транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$

Материалы и методы

Исследование проводилось в лаборатории молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии Отдела детской онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы г. Екатеринбург с марта 2008 г. по декабрь 2017 г. В исследуе-

мую группу были включены 526 пациентов с диагнозом ВП-ОЛЛ. Медиана возраста составила 3,4 года (1 мес–17 лет). Диагноз ОЛЛ устанавливали на основании стандартных цитологических критериев [22], дополненных результатами иммунофенотипирования согласно рекомендациям группы EGIL [23, 24]. Выявление транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ проводили методом двухстадийной («гнездной») ОТ-ПЦР по ранее описанной методике [25].

Иммунофенотипирование опухолевых клеток в костном мозге выполняли методом 4–8-цветной проточной цитометрии на приборе FACS Canto II (Becton & Dickinson (BD), США). Настройку прибора производили с использованием калибровочной системы Comp Beads (BD). Мониторинг стабильности работы прибора осуществляли с помощью калибровочных частиц Cytometer Setup and Tracking (BD). Диагностическая панель включала комбинацию антител, приведенных в табл. 1. Окрашивание первичномеченными моноклональными антителами проводили согласно инструкции производителя. После инкубации суспензии костномозговых клеток с первичномеченными моноклональными антителами взвесь обрабатывали лизирующим раствором (FACS Lysing solution, BD), а затем отмывали фосфатно-солевым буфером (Cell Wash, BD). Результаты иммунофенотипирования оценивали с помощью программного обеспечения FACS Diva 4.0–6.1 (BD). Объединение цитометрических данных разных пациентов проводили с использованием программы Kaluza 2.1 (Beckman Coulter (BC), США). Объединяли данные только тех пациентов, иммунофенотипирование которых было выполнено по идентичным протоколам работы, одинаковыми комбинациями антител и флуорохромов, а также при стабильных настройках проточного цитометра. Оценку и интерпретацию результатов иммунофенотипирования проводили в соответствии со стандартом российско-белорусской кооперативной группы «Москва–Берлин» [21]. Для сравнения уровня экспрессии антигенов использовали значения средней интенсивности флуоресценции (mean fluorescence intensity, MFI). Поскольку величина MFI напрямую зависит от используемых сочетаний антител с флуорохромами, а также от настроек проточного цитометра, прямое сопоставление MFI оказалось возможным для 103 пациентов.

Для статистической обработки результатов применяли программу Statistica 7.0. Статистическую значимость

Таблица 1. Моноклональные антитела, применявшиеся для диагностического иммунофенотипирования острого лейкоза

Table 1. Monoclonal antibodies used for diagnostic immunophenotyping of acute leukemia

Моноклональное антитело Monoclonal antibody	Флуорохром Fluorochrome	Производитель Manufacturer
CD7	FITC	BD
NG2	PE	BD
CD45	PerCP	BD
CD34	PE-Cy7	BD
CD19	PE-Cy7/APC	BD
CD3	APC-Cy7/APC-H7	BD
CD10	PE/BV421	BD
CD56	BV510	BD
CD15	FITC/BV510	BD
CD13	PE/PE-Cy7	BD
CD33	PerCP/PE-Cy7/APC	BD
CD11c	APC/BV510	BD
CD14	APC-Cy7/APC-H7	BD
CD117	PE/APC/BV421	BD
CD64	FITC/BV510	BD
iLysozyme	FITC	Invitrogen
iMPO	FITC/PE	BD/Invitrogen
iCD22	PE-Cy7/BV421	BD
iCD79a	APC	BC, BD
CD58	FITC	BD, BC
CD20	APC-Cy7	BD
CD38	BV510	BD
Anti-Lambda	FITC/PE	BD
Anti-Kappa	FITC/PE	BD
IgM	APC	BD
CD5	PE-Cy7	BD

Примечание. BD – Becton & Dickinson, США; BC – Beckman Coulter, США.

Note. BD – Becton & Dickinson, USA; BC – Beckman Coulter, USA.

различий определяли с помощью непараметрических критериев Манна–Уитни и χ^2 с поправкой Йетса. Достоверными считали различия при $p < 0,05$. Для оценки ассоциации между экспрессией отдельных иммунофенотипических маркеров и выявлением t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 проводили расчет диагностической чувствительности, специфичности, предска-

тельной ценности положительного и отрицательного результатов, диагностической эффективности теста [26].

Результаты

Транслокация t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 была обнаружена у 118 (22,4 %) из 526 обследованных пациентов. Иммунофенотип опухолевых клеток всех пациентов с транслокацией t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 соответствовал варианту ВП, в то время как при отсутствии данной генетической аберрации этот вариант был диагностирован достоверно реже – у 365 (89,5 %) из 408 пациентов ($p < 0,001$). Профиль экспрессии антигенов при ОЛЛ с наличием перестройки ETV6-RUNX1 и без нее существенно различался (табл. 2). Опухолевые бласты при наличии транслокации t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 достоверно чаще экспрессировали CD10, CD45 и CD34, но реже CD20 и внутриклеточную μ -цепь иммуноглобулина. Наиболее же существенным отличием стало крайне высокое число пациентов, у которых опухолевые клетки коэкспрессировали миелоидные антигены. У 76,3 % пациентов с t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 была выявлена экспрессия как минимум одного из исследованных миелоидных маркеров. Эти различия оказались значимыми для CD13, CD33 и CD117, проанализированных по отдельности. Даже CD117, ранее считавшийся достаточно специфичным признаком миелоидной дифференцировки [27], был обнаружен на опухолевых клетках в 37,2 % случаев при ОЛЛ с наличием транслокации t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1. Кроме того, почти у половины пациентов с данной генетической аберрацией было определено более одного миелоидного маркера, а 13,6 % детей по классификации EGIL [23] должны быть отнесены к категории острого бифенотипического лейкоза, поскольку у них опухолевые клетки коэкспрессировали все 3 перечисленных антигена.

Характеристики параметров диагностической эффективности определения отдельных антигенов для прогнозирования наличия перестройки t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 представлены в табл. 3. Как видно из представленных данных, наибольшей диагностической эффективностью обладала экспрессия CD117 (89,4 %), крайне редко определявшаяся у пациентов без этой транслокации. Однако данная высокая диагностическая эффективность была достигнута исключительно за счет высокой специфичности (97,1 %) при достаточно низкой чувствительности (37,3 %). Максимальной же специфичностью обладала экспрессия 3 миелоидных антигенов (99,3 %).

Среди исследованных маркеров только CD10 был экспрессирован в подавляющем большинстве случаев (более 90 % пациентов) в обеих исследованных группах, поэтому нами была предпринята попытка количественного сравнения экспрессии данного антигена при CD10-положительном ОЛЛ. Результаты сравнения представлены на рис. 1а. Несмотря на значимо более высокую MFI CD10 у пациентов с t(12;21)(p13;q22)/

Таблица 2. Число пациентов, бластные клетки которых экспрессируют различные антигены в зависимости от наличия транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$

Table 2. Number of patients whose blast cells express various antigens depending on the presence of translocation $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$

Маркер Marker	Пациенты с $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ ($n = 118$), n (%) Patients with $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ ($n = 118$), n (%)	Пациенты без $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ ($n = 408$), n (%) Patients without $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ ($n = 408$), n (%)	p
Экспрессия CD10 CD10 expression	118 (100)	387 (94,9)	0,025
Экспрессия CD20 CD20 expression	31 (26,3)	180 (44,1)	<0,001
Экспрессия CD45 CD45 expression	101 (85,6)	304 (74,5)	0,017
Экспрессия CD34 CD34 expression	108 (91,5)	337 (82,6)	0,008
Экспрессия CD33 CD33 expression	40 (33,9)	62 (15,2)	<0,001
Экспрессия CD117 CD117 expression	44 (37,2)	12 (2,9)	<0,001
Экспрессия CD13 CD13 expression	75 (63,6)	104 (25,5)	<0,001
Экспрессия как минимум одного миелоидного антигена Expression of at least one myeloid antigen	90 (76,3)	140 (34,3)	<0,001
Экспрессия не менее двух миелоидных антигенов Expression of two or more myeloid antigens	54 (45,8)	34 (8,3)	<0,001
Экспрессия трех миелоидных антигенов Expression of three myeloid antigens	16 (13,6)	3 (0,7)	<0,001
Внутриклеточная экспрессия IgM Intracellular IgM expression	0	24 (5,9)	0,014
Мембранная экспрессия IgM Membrane IgM expression	0	3 (0,7)	0,810

Примечание. Жирным шрифтом в таблице выделены показатели, имеющие статистически значимые различия ($p < 0,05$).
Note. In bold there are indicators that have statistically significant differences ($p < 0.05$).

ETV6-RUNX1, четкого разделения только по экспрессии данного антигена получить не удалось. Проведенный ROC-анализ (рис. 1б) также показал достоверную ассоциацию MFI и наличия $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$, однако полученный пороговый уровень, лучше всего разделяющий пациентов с наличием и отсутствием транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$, позволил получить диагностическую эффективность лишь в 80,6 % случаев.

Таким образом, несмотря на существенные различия в антигенном профиле между пациентами с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ и без нее, выявить какой-то отдельный маркер, точно разделяющий эти 2 подгруппы ОЛЛ, нам не удалось.

Такой результат, прежде всего, связан с биологической гетерогенностью *ETV6-RUNX1*-отрицательной группы, включающей пациентов как с известными

генетическими абберациями (в том числе высокая гипердиплоидия, гиподиплоидный кариотип, транслокации $t(9;22)(q34;q11)$, $t(1;19)(q23;p13)$, перестройки гена *MLL*), так и относящихся к группе «В-другие» ОЛЛ. В то же время случаи, ассоциированные с наличием транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$, по экспрессии антигенов оказались крайне похожими между собой. Одинаковыми были не только «формальные» иммунофенотипические признаки, такие как наличие или отсутствие того или иного маркера, но и распределения клеток на точечных бифлуоресцентных графиках. Так, при совмещении цитометрических данных 10 пациентов с $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ распределение клеток в объединенном массиве данных было практически идентичным распределениям у каждого из включенных в анализ пациентов (рис. 2).

Таблица 3. Диагностическая ценность иммунофенотипических маркеров для прогнозирования наличия транслокации $t(12;21)(p13.2;q22.1)/ETV6-RUNX1$ Table 3. The diagnostic test performance of immunophenotypic markers for predicting the presence of translocation $t(12;21)(p13.2;q22.1)/ETV6-RUNX1$

Маркер Marker	Чувствительность Sensitivity	Специфичность Specificity	Предсказательная ценность положительного результата Positive predictive value	Предсказательная ценность отрицательного результата Negative predictive value	Диагностическая эффективность Overall correct prediction
Экспрессия CD10 CD10 expression	100	5,1	23,4	100	26,4
Отсутствие экспрессии CD20 The absence of CD20 expression	73,7	44,1	27,6	85,3	50,8
Экспрессия CD45 CD45 expression	85,6	25,5	24,9	85,9	39,0
Экспрессия CD34 CD34 expression	91,5	17,4	24,3	87,7	33,8
Экспрессия CD33 CD33 expression	33,9	84,8	39,2	81,6	73,4
Экспрессия CD117 CD117 expression	37,3	97,1	78,6	84,3	89,4
Экспрессия CD13 CD13 expression	63,6	74,5	41,9	87,6	72,1
Экспрессия как минимум одного миелоидного антигена Expression of at least one myeloid antigen	76,3	65,7	39,1	90,5	68,1
Экспрессия не менее двух миелоидных антигенов Expression of two or more myeloid antigens	45,8	91,7	61,4	85,4	81,4
Экспрессия трех миелоидных антигенов Expression of three myeloid antigens	14,8	99,3	84,2	79,9	80,0
Отсутствие внутриклеточной экспрессии IgM Absence of intracellular IgM expression	100	5,9	23,5	100	27,0

Обсуждение

Иммунофенотипирование бластных клеток костного мозга является одним из широко распространенных методов диагностики ОЛЛ. Ранее было показано, что при ВП-ОЛЛ у детей существует корреляция антигенного профиля опухолевых клеток с наличием известных молекулярно-генетических aberrаций. По иммунофенотипу наиболее точное прогнозирование возможно для перестроек гена *KMT2A (MLL)* [28, 29], а также транслокации $t(9;22)(q34;q11)$ с образованием химерного гена *BCR-ABL1* [28, 30]. Кроме того, продолжают попытки определения типичного профиля экспрессии антигенов и для других клинически значимых генетических aberrаций, в том числе и $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$.

К наиболее типичным иммунофенотипическим маркерам, характеризующим группу пациентов с на-

личием транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$, чаще всего относят отсутствие экспрессии CD9, CD20, CD66c [13–17], несколько реже – высокую экспрессию CD10 [31], CD40 [32], CD135 [31] и HLA-DR [31, 32], а также низкую экспрессию CD20 [13] и CD86 [32], коэкспрессию миелоидных антигенов CD13, CD33, CDw65 [5]. В то же время наиболее убедительно выглядят результаты другого исследования, указывающие на то, что экспрессия CD27 и отсутствие/слабая экспрессия CD44 специфичны для случаев с наличием транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ [18, 19].

Однако далеко не все эти антигены используются для первичной диагностики острых лейкозов. Поэтому нами была предпринята попытка охарактеризовать иммунофенотип на основании имеющихся в нашем распоряжении сведений, полученных в ходе применения стандартной диагностической панели. Нами были

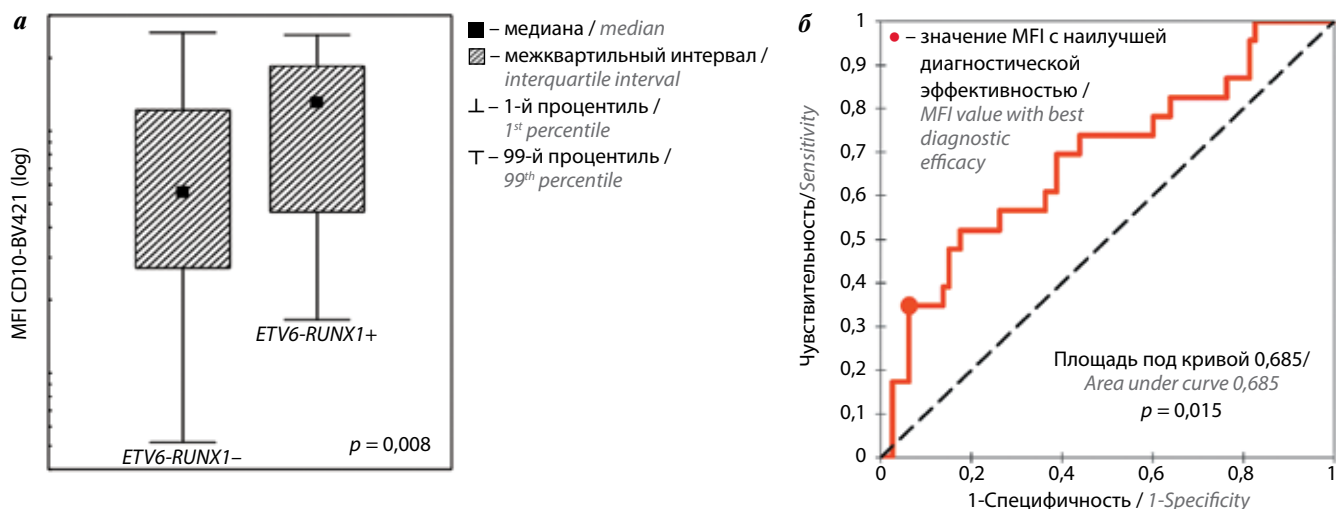


Рис. 1. Корреляция экспрессии CD10 с наличием $t(12;21)(p13;q22)$: а – сравнение средней интенсивности флуоресценции (MFI) CD10-BV421 между пациентами с данной перестройкой ($n = 23$) и без нее ($n = 79$); б – ROC-кривая оценки возможности прогнозирования наличия ETV6-RUNX1 в зависимости от экспрессии CD10

Fig. 1. Correlation of CD10 expression with presence of translocation $t(12;21)(p13;q22)$: а – comparison of mean fluorescence intensity (MFI) CD10-BV421 between patients with ($n = 23$) and without this aberration ($n = 79$); б – ROC-curve analysis for prediction of $t(12;21)(p13;q22)$ /ETV6-RUNX1 presence by CD10 expression

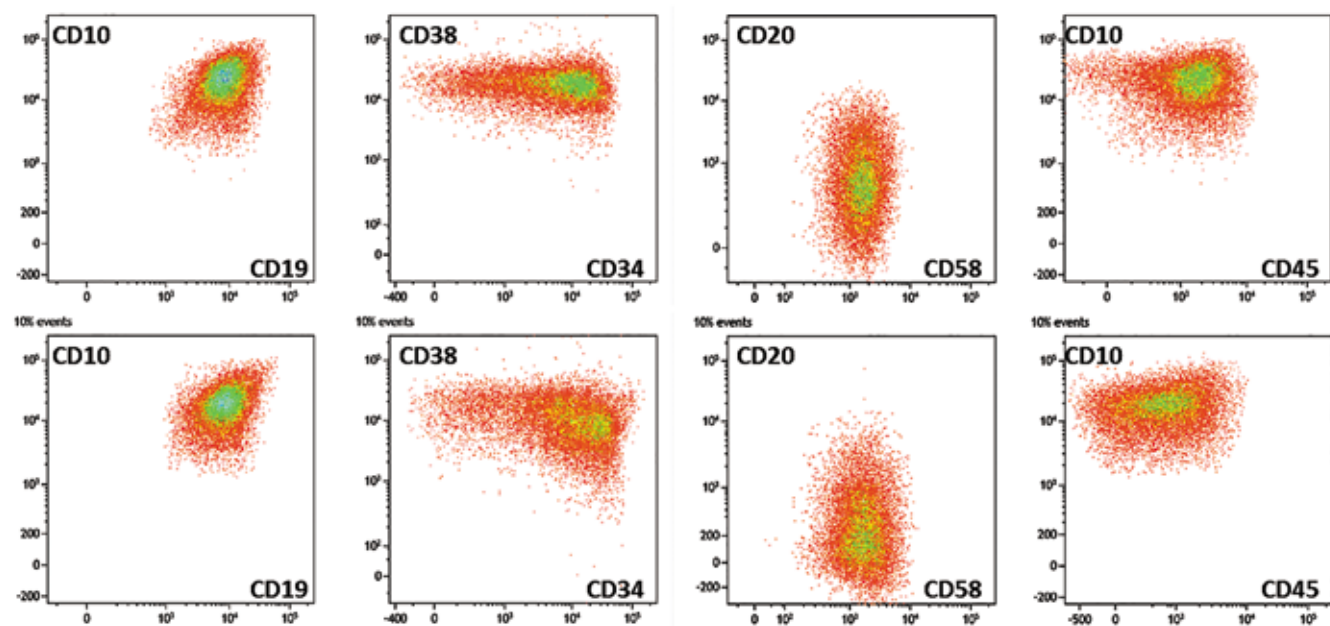


Рис. 2. Схожесть распределения клеток на точечных бифлуоресцентных графиках единичного пациента с ETV6-RUNX1 (верхний ряд) и 10 пациентов с данной генетической аберрацией (совмещенные цитометрические данные, нижний ряд)

Fig. 2. The similarity of cell distribution on bifuorescent dot-plots of a single patient with ETV6-RUNX1 (top row) and 10 patients with this genetic aberration (combined cytometric data, bottom row)

получены убедительные данные о том, что пациенты с ETV6-RUNX1 имеют достаточно специфический антигенный профиль, характеризующийся, прежде всего, высокой экспрессией CD10 и коэкспрессией CD13, CD33 и/или CD117. Кроме того, внутри данной группы ОЛЛ одинаковым было и распределение клеток на графиках цитометрических данных.

В то же время полученные нами результаты не позволили найти отдельный иммунофенотипический маркер, который с высокой долей достоверности мог бы

предсказывать наличие $t(12;21)(p13;q22)$ /ETV6-RUNX1. Каждый из исследованных маркеров отличался относительно высоким значением либо чувствительности, либо специфичности, что в итоге приводило к относительно низкой диагностической эффективности. Отсутствие же хотя бы двух параметров с высокими значениями обоих основных диагностических показателей не позволило применять для разделения пациентов какие-либо иммунофенотипические комбинации. В итоге наибольшей предсказательной ценностью

обладали антигены с высокой специфичностью, но не чувствительностью, что связано с существенно большим размером группы пациентов без транслокации t(12;21).

Ранее для прогнозирования наличия транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* у пациентов с ВП-ОЛЛ чаще всего сравнивали наличие/отсутствие экспрессии отдельных маркеров (чаще) или их комбинаций (реже) между группами с транслокацией t(12;21) и без нее. Оценку показателей диагностической ценности применяли гораздо реже [13, 14, 31]. Например, в работе М. Вогowitz и соавт. комбинация отсутствия или низкой экспрессии CD9 и CD20 обладала диагностической чувствительностью 0,88, специфичностью 0,71, предсказательной ценностью положительного результата 0,47, отрицательного результата 0,95 [13], что довольно близко к полученным нами значениям. Чуть более высокие показатели диагностической ценности были получены в работе V. Gandemer и соавт. при использовании комбинации низкой MFI CD9 (≤ 20) и доли CD10-положительных клеток ($>40\%$): чувствительность 0,812, специфичность 0,921, диагностическая эффективность теста 0,900 [14]. Однако использование значений MFI в рутинной диагностике требует крайне высокого уровня стандартизации исследований, что далеко не всегда достижимо в рамках рутинной диагностики ОЛЛ [16]. Отсутствие экспрессии CD66c, которую описывают как один из наиболее специфических изолированных маркеров t(12;21)-положительного ОЛЛ, также типично для ОЛЛ с перестройками гена *KMT2A* и ОЛЛ с наличием транслокации t(1;19)(q23;p13)/*TCF3-PBX1* [15].

Несмотря на вышеупомянутые недостатки, представляется интересным и важным расширить используемую диагностическую панель, включив в нее CD27, CD44, CD9 и, возможно, ряд других маркеров, а также применять не качественное, а количественное (оценка MFI) исследование экспрессии всех антигенов, в том числе и с использованием математических методов анализа [33]. Это даст более детальный ответ на вопрос, можно ли точно предсказывать наличие транслокации t(12;21)(p13;q22), однако потребует существенно большей стандартизации проведения проточной цитометрии. В случае успеха станет возможным выделение не только *ETV6-RUNX1*-положительных, но и *ETV6-RUNX1*-подобных пациентов [18].

Заключение

Таким образом, пациенты с ОЛЛ и наличием транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* имеют весьма специфический иммунофенотип, который существенно отличается от ОЛЛ без данной генетической аберрации. При t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* опухолевые клетки достоверно чаще имеют высокую экспрессию CD10 и коэкспрессию миелоидных антигенов. Тем не менее применение стандартного перечня иммунологических маркеров не позволяет уверенно выделить данную группу пациентов. Расширение диагностической панели, высокий уровень стандартизации проточной цитометрии и дополнительные методы анализа цитометрических данных могут позволить достаточно точно выявление пациентов, относящихся к этой клинически значимой подгруппе.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Romana S.P., Le Coniat M., Berger R. t(12;21): a new recurrent translocation in acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 1994;9(3):186–91. PMID: 7515661.
2. Golub T., Barker G., Bohlander S. et al. Fusion of the TEL gene on 12p13 to the *AML1* gene on 21q22 in acute lymphoblastic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92(11):4917–21. PMID: 7761424.
3. Romana S.P., Mauchauffe M., Le Coniat M. et al. The t(12;21) of acute lymphoblastic leukemia results in a *tel-AML1* gene fusion. *Blood* 1995;85(12):3662–70. PMID: 7780150.
4. Shurtleff S., Buijs A., Behm F. et al. TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis. *Leukemia* 1995;9(12):1985–9. PMID: 8609706.
5. Borkhardt A., Cazzaniga G., Viehmann S. et al. Incidence and clinical relevance of TEL/AML1 fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials. *Blood* 1997;90(2):571–7. PMID: 9226156.
6. Kobayashi H., Rowley J. Identification of cytogenetically undetected 12p13 translocations and associated deletions with fluorescence *in situ* hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 1995;12(1):66–9. PMID: 7534114.
7. Moricke A., Zimmermann M., Reiter A. et al. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia* 2010;24(2):265–84. DOI: 10.1038/leu.2009.257. PMID: 20010625.
8. Moorman A., Ensor H., Richards S. et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *Lancet Oncol* 2010;11(5):429–38. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70066–8. PMID: 20409752.
9. Loh M., Goldwasser M., Silverman L. et al. Prospective analysis of TEL/AML1-positive patients treated on Dana-Farber Cancer Institute Consortium Protocol 95–01. *Blood* 2006;107(11):4508–13. DOI: 10.1182/blood-2005-08-3451. PMID: 16493009.
10. Forestier E., Heyman M., Andersen M.K. et al. Outcome of *ETV6/RUNX1*-positive childhood acute lymphoblastic leukaemia in the NOPHO-ALL-1992 protocol: frequent late relapses but good overall survival. *Br J Haematol* 2008;140(6):665–72. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.06980.x. PMID: 18241254.
11. Bhojwani D., Pei D., Sandlund J. et al. *ETV6-RUNX1*-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: improved outcome with contemporary therapy. *Leukemia* 2012;26(2):265–70. DOI: 10.1038/leu.2011.227. PMID: 21869842.

12. Kato M., Ishimaru S., Seki M. et al. Long-term outcome of 6-month maintenance chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia in children. *Leukemia* 2017;31(3):580–4. DOI: 10.1038/leu.2016.274. PMID: 27698447.
13. Borowitz M., Rubnitz K., Nash M. et al. Surface antigen phenotype can predict TEL-AML1 rearrangement in childhood B-precursor ALL: a Pediatric Oncology Group study. *Leukemia* 1998;12(11):1764–70. PMID: 9823952.
14. Gandemer V., Aubry M., Roussel M. et al. CD9 expression can be used to predict childhood TEL/AML1-positive acute lymphoblastic leukemia: proposal for an accelerated diagnostic flowchart. *Leuk Res* 2010;34(4):430–7. DOI: 10.1016/j.leukres.2009.09.033. PMID: 19896186.
15. Kiyokawa N., Iijima K., Tomita O. et al. Significance of CD66c expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* 2014;38(1):42–8. DOI: 10.1016/j.leukres.2013.10.008. PMID: 24231528.
16. van Dongen J., Lhermitte L., Boettcher S. et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* 2012;26(9):1908–75. DOI: 10.1038/leu.2012.120. PMID: 22552007.
17. Kalina T., Vaskova M., Mejstrikova E. et al. Myeloid antigens in childhood lymphoblastic leukemia: clinical data point to regulation of CD66c distinct from other myeloid antigens. *BMC Cancer* 2005;5:38. DOI: 10.1186/1471-2407-5-38. PMID: 15826304.
18. Zaliouva M., Kotrova M., Bresolin S. et al. *ETV6/RUNX1*-like acute lymphoblastic leukemia: a novel B-cell precursor leukemia subtype associated with the CD27/CD44 immunophenotype. *Genes Chromosomes Cancer* 2017;56(8):608–16. DOI: 10.1002/gcc.22464. PMID: 28395118.
19. Vaskova M., Mejstrikova E., Kalina T. et al. Transfer of genomics information to flow cytometry: expression of CD27 and CD44 discriminates subtypes of acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2005;19(5):876–8. DOI: 10.1038/sj.leu.2403706. PMID: 15759032.
20. Dworzak M.N., Buldini B., Gaipa G. et al. AIEOP-BFM consensus guidelines 2016 for flow cytometric immunophenotyping of Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cytometry B Clin Cytom* 2018;94(1):82–93. DOI: 10.1002/cyto.b.21518. PMID: 28187514.
21. Новикова И.А., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В. и др. Стандарт российско-белорусской кооперативной группы по иммунофенотипированию острого лимфобластного лейкоза у детей. Онкогематология 2018;13(1):73–82. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-73-82. [Novikova I.A., Verzhbitskaya T.Y., Movchan L.V. et al. Russian-Belarusian multicenter group standard guidelines for childhood acute lymphoblastic leukemia flow cytometric diagnostics. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2018;13(1):73–82. (In Russ.)].
22. Bennett J., Catovsky D., Daniel M. et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976;33(4):451–8. PMID: 188440.
23. Bene M.C., Castoldi G., Knapp W. et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995;9(10):1783–6. PMID: 7564526.
24. Béné M.C., Nebe T., Bettelheim P. et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia* 2011;25(4):567–74. DOI: 10.1038/leu.2010.312. PMID: 21252983.
25. Harbott J., Viehmann S., Borkhardt A. et al. Incidence of TEL/AML1 fusion gene analyzed consecutively in children with acute lymphoblastic leukemia in relapse. *Blood* 1997;90(12):4933–7. PMID: 9389711.
26. ГОСТ Р 53022.3–2008. Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов. Доступно по: <http://docs.cntd.ru/document/1200072565>. Режим доступа: 16.08.2017. [GOST(State Standard) P 53022.3–2008. Clinical laboratory technologies. Quality requirements for clinical laboratory tests. Part 3. Rules for assessment the clinical informativity of laboratory tests. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200072565>. Access Mode 08/16/2017. (In Russ.)].
27. Bene M.C., Bernier M., Casasnovas R.O. et al. The reliability and specificity of c-kit for the diagnosis of acute myeloid leukemias and undifferentiated leukemias. The European Group for the Immunological Classification of Leukemias (EGIL). *Blood* 1998;92(2):596–9. PMID: 9657760.
28. Hrusák O., Porwit-MacDonald A. Antigen expression patterns reflecting genotype of acute leukemias. *Leukemia* 2002;16(7):1233–58. DOI: 10.1038/sj.leu.2402504. PMID: 12094248.
29. Попов А.М., Цаур Г.А., Вержбицкая Т.Ю. и др. Иммунофенотипическая характеристика острого лимфобластного лейкоза у детей первого года жизни. Онкогематология 2012;7(2):14–24. DOI: 10.17650/1818-8346-2012-7-2-14-24. [Popov A.M., Tsaur G.A., Verzhbitskaya T.Y. et al. Immunophenotypic investigation of infant acute lymphoblastic leukemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2012;7(2):14–24. (In Russ.)].
30. Buldini B., Zangrando A., Michielotto B. et al. Identification of immunophenotypic signatures by clustering analysis in pediatric patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Am J Hematol* 2010;85(2):138–41. DOI: 10.1002/ajh.21595. PMID: 20095033.
31. De Zen L., Orfao A., Cazzaniga G. et al. Quantitative multiparametric immunophenotyping in acute lymphoblastic leukemia: correlation with specific genotype. I. ETV6/AML1 ALLs identification. *Leukemia* 2000;14(7):1225–31. PMID: 10914546.
32. Alessandri A., Reid G., Bader S. et al. *ETV6(TEL)–AML1* pre-B acute lymphoblastic leukaemia cells are associated with a distinct antigen-presenting phenotype. *Br J Haematol* 2002;116(2):266–72. PMID: 11841426.
33. Saeys Y., Van Gassen S., Lambrecht B.N. Computational flow cytometry: helping to make sense of high-dimensional immunology data. *Nat Rev Immunol* 2016;16(7):449–62. DOI: 10.1038/nri.2016.56. PMID: 27320317.

Вклад авторов

Ж.В. Пермикин: разработка дизайна исследования, анализ цитометрических данных, обзор публикаций, написание текста статьи;
 А.М. Попов, Г.А. Цаур: разработка дизайна исследования, анализ данных, написание и редактирование текста статьи;
 Т.Ю. Вержбицкая: анализ данных иммунофенотипирования;
 Т.О. Ригер: анализ молекулярно-генетических данных;
 О.Р. Аракаев, А.А. Власова, С.В. Цвиренко, Л.И. Савельев: написание и редактирование статьи;
 Ю.В. Ольшанская, А.Н. Казакова: получение цитогенетических данных;
 Л.Г. Фечина: общее руководство исследованием, редактирование статьи, обзор публикаций.

Authors' contributions

Zh.V. Permikin: study design development, cytometric data analysis, reviewing of publications, article writing;
A.M. Popov, G.A. Tsauro: study design development, analysis of data, article writing and editing;
T.Yu. Verzhbitskaya: immunophenotyping data analysis;
T.O. Riger: analysis of molecular genetic data;
O.R. Arakae, A.A. Vlasova, S.V. Tsvirenko, L.I. Saveliev: article writing and editing;
Yu.V. Olshanskaya, A.N. Kazakova: obtaining cytogenetic data;
L.G. Fechina: general research leadership, article editing, reviewing of publications.

ORCID авторов/ORCID of authors

Ж.В. Пермикин/Zh.V. Permikin: <https://orcid.org/0000-0003-1904-4989>
А.М. Попов/A.M. Popov: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>
Т.Ю. Вержицкая/T.Yu. Verzhbitskaya: <https://orcid.org/0000-0001-9329-1828>
Ю.В. Ольшанская/Yu.V. Olshanskaya: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>
А.Н. Казакова/A.N. Kazakova: <https://orcid.org/0000-0002-1085-4646>
С.В. Цвиренко/S.V. Tsvirenko: <http://orcid.org/0000-0003-0185-0050>
Л.И. Савельев/L.I. Saveliev: <https://orcid.org/0000-0002-5180-6560>
Г.А. Цаур/G.A. Tsauro: <https://orcid.org/0000-0002-9881-6221>
Л.Г. Фечина/L.G. Fechina: <https://orcid.org/0000-0002-1885-3912>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Родители пациентов подписали информированное согласие на участие детей в исследовании.

Informed consent. There is given the parental informed consent to the children's participation in the study.

Статья поступила: 01.11.2018. **Принята к публикации:** 03.12.2018.

Article received: 01.11.2018. **Accepted for publication:** 03.12.2018.

ПРЕСС - РЕЛИЗ

Москва, 18 декабря 2018 г.

Компания AbbVie представляет новые данные, полученные в ходе III фазы исследования MURANO по применению препарата венеклекста (венетоклакс) в комбинации с ритуксимабом для лечения пациентов с рецидивирующим/рефрактерным хроническим лимфоцитарным лейкозом, которые завершили курс терапии фиксированной продолжительности

- Полученные данные (медиана наблюдения 3 года) показывают, что применение препарата венеклекста (венетоклакс) в комбинации с ритуксимабом снижает риск прогрессирования заболевания или летального исхода по сравнению со стандартной схемой лечения, включающей бендамустин и ритуксимаб (BR) [1].
- У 130 пациентов, завершивших лечение ритуксимабом в сочетании с 24-месячным фиксированным курсом венетоклакса и не получавших дальнейшего лечения в течение 9,9 мес (медиана), расчетный показатель выживаемости без прогрессирования (ВБП) заболевания в течение 6 и 12 мес составил 92 и 87 % соответственно.
- Расчетная 3-летняя общая выживаемость (ОВ) составила 87,9 % у пациентов, получавших лечение комбинацией венеклекста и ритуксимаба, и 79,5 % у пациентов, получавших лечение комбинацией BR [1]. Полные данные исследования были представлены на 60-й Ежегодной выставке и конференции Американского общества гематологов.

Глобальная биофармацевтическая компания AbbVie сегодня представила обновленные данные по применению венетоклакса в комбинации с ритуксимабом, полученные в III фазе исследования MURANO. Результаты наблюдения (медиана 36 мес) показывают, что у большинства пациентов с рецидивирующим/рефрактерным хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ), завершивших период фиксированной терапии венетоклаксом в комбинации с ритуксимабом, не отмечалось прогрессирования заболевания или летального исхода (оценивались следующие показатели: ВБП, время без прогрессирования заболевания или летального исхода) [1]. Расчетный показатель ВБП за 36 мес составил 71,4 % (95 % доверительный интервал (ДИ) 0,64–0,78) у пациентов, получавших комбинированную терапию венетоклаксом и ритуксимабом, по сравнению с 15,2 % (95 % ДИ 0,09–0,21) у пациентов, которые получили лечение по стандартной схеме BR (отношение рисков (ОР) 0,16; 95 % ДИ 0,12–0,23) [1].

Данные были представлены на 60-й Ежегодной выставке и конференции Американского общества гематологов.

У 130 пациентов, завершивших 2-летний период терапии венетоклаксом и не получавших дальнейшего лечения в течение 9,9 мес (1,4–22,5 мес), расчетные показатели ВБП заболевания в течение 6 и 12 мес составили 92 % (95 % ДИ 0,87–0,96) и 87 % (95 % ДИ 0,81–0,93) соответственно [1]. На момент анализа данных 3-летняя ОВ была выше приблизительно на 10 % в группе пациентов, получавших терапию венетоклаксом в комбинации с ритуксимабом (87,9 %), чем в группе со схемой лечения, включающей бендамустин и ритуксимаб (79,5 %) (ОР 0,50; 95 % ДИ 0,30–0,85) [1].

«Существует необходимость в методе лечения с фиксированной продолжительностью и без химиотерапии, который теоретически может увеличить показатели ВБП наряду с обеспечением негативного статуса минимальной остаточной болезни у пациентов с рецидивирующим/рефрактерным ХЛЛ, — сказал профессор John Seymour, MBBS, Ph. D., ведущий исследователь клинического исследования MURANO и руководитель отделения гематологии в онкологическом центре Питера Маккаллума (Peter MacCallum Cancer Centre) и клинике Royal Melbourne в Австралии. — Результаты проведенного анализа показывают, что высокий процент пациентов с рецидивирующим/рефрактерным ХЛЛ, которые получали лечение венетоклаксом в комбинации с ритуксимабом, сохраняют негативный статус минимальной остаточной болезни и отсутствие прогрессирования заболевания после завершения фиксированного по длительности курса лечения».

В клиническом исследовании MURANO у 78 % пациентов, получивших 2-летний курс комбинированной терапии венетоклаксом и ритуксимабом без прогрессирования заболевания ($n = 114$), также отмечался негативный статус минимальной остаточной болезни (МОБ-негативность) в периферической крови [1]. МОБ-негативность оценивалась как вторичная конечная точка по окончании комбинированной терапии (оценка через 9 мес [1–3]). МОБ-негативность (также

называемая неопределяемой МОБ) — объективный критерий, определяемый как наличие менее одной клетки ХЛЛ на 10 тыс. лейкоцитов в крови или костном мозге после лечения [4]. В проведенных ранее проспективных клинических исследованиях было доказано, что достижение МОБ-негативности у пациентов с ХЛЛ связано с улучшением клинических исходов [4].

«Данный анализ результатов клинического исследования MURANO показывает, что у значительного числа пациентов с рецидивирующим/рефрактерным ХЛЛ после завершения курса лечения ритуксимабом и 2-летнего курса терапии венетоклаком, не получавших далее лечения в течение 9,9 мес (медиана), не наблюдалось прогрессирования заболевания, а у некоторых из этих пациентов признаки заболевания не определялись в периферической крови, — заявил Neil Gallagher, M. D., Ph. D., руководитель международного отдела развития в области онкологии компании AbbVie. — Полученные результаты исследования подтверждают эффективность и безопасность применения венетоклакса в комбинации с ритуксимабом в качестве терапии с фиксированной продолжительностью у пациентов с рецидивирующим/рефрактерным ХЛЛ. Эти результаты обнадеживают, поскольку мы продолжаем двигаться вперед в исследовании и разработке революционного лечения онкологических заболеваний крови».

Показатели безопасности соответствовали существующему профилю безопасности каждого препарата в отдельности. Во время фазы монотерапии венетоклаком ($n = 171$) у 10 % пациентов наблюдались нежелательные реакции (НР), требующие отмены препарата, у 4 % — НР, требующие уменьшения дозы, у 26 % — НР, требующие временного прекращения терапии, и у 4 % проявились НР, ставшие причиной летального исхода (4 случая другого онкологического заболевания, 2 сердечно-сосудистых события, 1 пневмония). НР 3/4 степени тяжести выявлены у 35 % пациентов. Наиболее частыми НР 3/4 степени тяжести были нейтропения (12 %), анемия (3 %) и тромбоцитопения (2 %). У 7 % пациентов наблюдалось инфекционное заболевание 3/4 степени тяжести во время фазы монотерапии [1].

Дизайн и результаты III фазы исследования MURANO

В международном многоцентровом открытом рандомизированном исследовании MURANO III фазы приняли участие 389 пациентов с рецидивирующим/рефрактерным ХЛЛ, которые ранее получили хотя бы 1 курс терапии. В исследовании оценивались эффективность и безопасность комбинированной терапии венетоклаком с ритуксимабом ($n = 194$) по сравнению с терапией бендамустином в сочетании с ритуксимабом ($n = 195$). Медиана возраста больных составила 65 лет (22–85 лет) [5].

Первичной конечной точкой эффективности лечения являлась ВБП по оценке исследователя. Меди-

ана ВБП в группе пациентов, получавших венетоклакс в сочетании с ритуксимабом, не была достигнута, в группе бендамустина и ритуксимаба она составила 17 мес (ОР 0,17; 95 % ДИ 0,11–0,25; $p < 0,0001$). При анализе первичной конечной точки эффективности медиана продолжительности наблюдения ВБП составила 23,8 мес (0–37,4 мес). Дополнительные конечные точки для оценки эффективности включали: ВБП по оценке Независимого наблюдательного комитета (IRC), оценку исследователем и частоты общего ответа (определяется как доля пациентов, достигших полной ремиссии + полной ремиссии с неполным восстановлением костного мозга + частичной нодулярной ремиссии + частичной ремиссии), ОВ и долю пациентов, достигших МОБ-негативности [5].

О препарате венклекста (венетоклакс)

Венклекста (венетоклакс) — первый в своем классе пероральный препарат, который селективно связывает и ингибирует белок В-клеточной лимфомы BCL-2 (регулятор апоптоза BCL-2). При некоторых лейкозах и других злокачественных опухолях BCL-2 препятствует естественной смерти опухолевых клеток или процессу саморазрушения (апоптозу). Препарат венклекста блокирует белок BCL-2 и тем самым способствует процессу апоптоза.

Венклекста разрабатывается компаниями AbbVie и Roche. Коммерческими вопросами в США занимаются совместно AbbVie и Genentech, входящая в группу Roche, а за пределами США — AbbVie. Компании совместно занимаются исследованиями BCL-2 и клиническими исследованиями венетоклакса при некоторых лейкозах и других злокачественных заболеваниях.

Препарат венклекста разрешен к применению более чем в 50 странах, включая Россию и США. Компании AbbVie и Roche в настоящее время работают с регуляторными органами по всему миру, чтобы препарат стал доступен всем пациентам, которые в нем нуждаются и которым он показан.

Резюме профиля безопасности. Общий профиль безопасности препарата венклекста основывается на данных клинических исследований с участием 490 пациентов с ХЛЛ, в которых сравнивали лечение венетоклаком в сочетании с ритуксимабом или в качестве монотерапии. Анализ безопасности включал пациентов из 1 исследования III фазы, 2 исследований II фазы и 1 исследования I фазы. В ходе контролируемого рандомизированного исследования с участием 194 пациентов, которые раньше получали лечение ХЛЛ, оценивались эффективность и безопасность применения венетоклакса в сочетании с ритуксимабом. Монотерапия венетоклаком изучалась в исследованиях II и I фаз с участием 296 пациентов, ранее получавших лечение ХЛЛ, в том числе 188 пациентов с делецией 17p и 92 пациента, не имеющих ответ на терапию ингибиторами сигнального пути В-клеточного рецептора.

Наиболее распространенными НР ($\geq 20\%$) любой степени тяжести у пациентов, получавших препарат венклекста в сочетании с ритуксимабом, были нейтропения, диарея и инфекции верхних дыхательных путей. В исследованиях монотерапии наиболее часто наблюдались следующие НР: нейтропения/снижение числа нейтрофилов, диарея, тошнота, анемия, утомляемость и инфекции верхних дыхательных путей.

Наиболее частыми серьезными НР ($\geq 2\%$) у пациентов, получавших препарат венклекста, были пневмония, фебрильная нейтропения и синдром лизиса опухоли.

О деятельности компании AbbVie в онкологии

В партнерстве с учеными, врачами, другими фармацевтическими компаниями и пациентскими организациями AbbVie стремится победить рак с помощью открытий и разработок новых подходов к терапии. Наша цель — предоставить лекарственные препараты, обеспечивающие кардинальные улучшения в лечении рака и результатах терапии онкологических больных. AbbVie открывает новые возможности в лечении некоторых наиболее распространенных и трудно поддающихся лечению онкологических заболеваний за счет поиска инновационных подходов и развития технологий. Мы также ищем решения, помогающие пациентам получить доступ к онкологическим препаратам компании. С приобретением Pharmacyclics в 2015 г. и Stemcentrx в 2016 г., а также благодаря проектам, реализуемым совместно с другими фармацевтическими компаниями, в портфель онкологических разработок AbbVie входят как широко представленные на рынке лекарственные средства, так и новые препараты для лечения 20 различных форм рака, которые проходят проверку примерно в 200 клинических исследованиях. Дополнительная информация об онкологическом направлении в работе AbbVie доступна на сайте <http://abbvieoncology.com>.

Об AbbVie

AbbVie — глобальная научно-исследовательская биофармацевтическая компания, приверженная раз-

работке инновационной терапии для лечения некоторых из самых сложных заболеваний в мире. Миссия компании — использовать экспертизу, опыт преданных делу сотрудников и уникальный подход к инновациям для развития и вывода на рынок передовых методов лечения, в первую очередь в области иммунологии, онкологии, вирусологии и неврологии. Сотрудники компании AbbVie ежедневно работают в 75 странах мира для совершенствования решений для здравоохранения.

Прогнозные заявления

Некоторые заявления в этом новостном релизе являются или могут рассматриваться как прогнозные с учетом целей Закона «О реформе судебных разбирательств по частным ценным бумагам» 1995 г. Слова «верим», «ожидаем», «предполагаем», «составляем план» и подобные выражения среди других обычно относятся к прогнозным заявлениям. AbbVie предупреждает, что эти прогнозные заявления подвержены рискам и неопределенностям, которые могут привести к фактическим результатам, существенно отличающимся от тех, которые указаны в прогнозных заявлениях. Такие риски и неопределенности включают, но не ограничиваются проблемами интеллектуальной собственности, конкуренцией с другими продуктами, трудностями, связанными с процессом исследований и разработок, неблагоприятными судебными разбирательствами или действиями правительства, а также изменениями в законах и правилах, применимых к нашей отрасли. Дополнительная информация об экономических, конкурентных, правительственных, технологических и других факторах, которые могут повлиять на деятельность AbbVie, изложена в пункте 1А «факторы риска» ежегодного отчета AbbVie за 2017 г. по форме 10-K, который был подан в Комиссию по ценным бумагам и обмену. AbbVie не берет на себя никаких обязательств публиковать какие-либо изменения в заявлениях о перспективах в результате последующих событий или разработок, за исключением случаев, предусмотренных законом.

Литература

1. Seymour J. MURANO trial establishes feasibility of time-limited venetoclax-rituximab (VenR) combination therapy in relapsed/refractory (R/R) chronic lymphocytic leukemia (CLL). Presented at the 2018 American Society of Hematology Annual Meeting & Exposition: December 1, 2018; San Diego.
2. Инструкция по медицинскому применению препарата Венклекста. Доступно по: <https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> (дата обращения: 05.12.2018). [Instructions for medical use of the drug Venclexta. Available at: <https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> (date of the application: 05.12.2018) (In Russ.)].
3. VENCLYXTO Summary of Product Characteristics EMA. Available at: https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/venclyxto-epar-product-information_en.pdf (05.12.2018).
4. Hallek M., Cheson B. D., Catovsky D. et al. Guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment and supportive management of chronic lymphocytic leukemia. Blood 2018;131(25):2745–60. DOI: 10.1182/blood-2017-09-806398. PMID: 29540348.
5. Seymour J. F., Kipps T. J., Eichhorst B. et al. Venetoclax-rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med. 2018; 378(12):1107–20. DOI: 10.1056/NEJMoa1713976. PMID: 29562156.

Информация для авторов

При направлении статьи в редакцию журнала «Онкогематология» авторам необходимо руководствоваться следующими правилами:

1. Общие правила

Статья в обязательном порядке должна сопровождаться официальным разрешением на публикацию, заверенным печатью учреждения, в котором работает первый в списке автор. При первичном направлении рукописи в редакцию в копии электронного письма должны быть указаны все авторы данной статьи. Обратную связь с редакцией будет поддерживать ответственный автор, обозначенный в статье (см. пункт 2).

Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

2. Оформление данных о статье и авторах

Первая страница должна содержать:

- название статьи,
- инициалы и фамилии всех авторов,
- ученые степени, звания, должности, место работы каждого из авторов, а также их ORCID (при наличии),
- полное название учреждения (учреждений), в котором (которых) выполнена работа,
- адрес учреждения (учреждений) с указанием индекса.

Последняя страница должна содержать:

- Сведения об авторе, ответственном за связь с редакцией:
 - фамилия, имя, отчество полностью,
 - занимаемая должность,
 - ученая степень, ученое звание,
 - персональный международный идентификатор ORCID (подробнее: <http://orcid.org/>),
 - персональный идентификатор в РИНЦ (подробнее: http://elibrary.ru/projects/science_index/author_tutorial.asp),
 - контактный телефон,
 - рабочий адрес с указанием индекса,
 - адрес электронной почты.
- Скан подписей всех авторов статьи.

3. Оформление текста

Статьи принимаются в форматах doc, docx, rtf.

Шрифт – Times New Roman, кегль 14, межстрочный интервал 1,5. Все страницы должны быть пронумерованы. Текст статьи начинается со второй страницы.

4. Объем статей (без учета иллюстраций и списка литературы)

Оригинальная статья – не более 12 страниц (больший объем допускается в индивидуальном порядке, по решению редакции).

Описание клинических случаев – не более 8 страниц.

Обзор литературы – не более 20 страниц.

Краткие сообщения и письма в редакцию – 3 страницы.

5. Резюме

Ко всем видам статей на отдельной странице должно быть приложено резюме на русском и английском (по возможности) языках. Резюме должно кратко повторять структуру статьи, независимо от ее тематики.

Объем резюме – не более 2500 знаков, включая пробелы. Резюме не должно содержать ссылки на источники литературы и иллюстративный материал.

На этой же странице помещаются ключевые слова на русском и английском (по возможности) языках в количестве от 3 до 10.

6. Структура статей

Оригинальная статья должна содержать следующие разделы:

- введение,
- цель,
- материалы и методы,
- результаты,
- обсуждение,
- заключение (выводы),
- вклад всех авторов в работу,
- конфликт интересов для всех авторов (в случае его отсутствия необходимо указать: «Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов»),
- информированное согласие пациентов (для статей с авторскими исследованиями и описаниями клинических случаев),

– при наличии финансирования исследования – указать его источник (грант и т. д.),

– благодарности (раздел не является обязательным).

7. Иллюстративный материал

Иллюстративный материал должен быть представлен в виде отдельных файлов и не фигурировать в тексте статьи. Данные таблиц не должны повторять данные рисунков и текста и наоборот.

Фотографии представляются в форматах TIFF, JPG, CMYK с разрешением не менее 300 dpi (точек на дюйм).

Рисунки, графики, схемы, диаграммы должны быть редактируемыми, выполненными средствами Microsoft Office Excel или Office Word.

Все **рисунки** должны быть пронумерованы и снабжены подрисуночными подписями. Фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита – «а», «б» и т. д. Все сокращения, обозначения в виде кривых, букв, цифр и т. д., использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подрисуночной подписи. Подписи к рисункам даются на отдельном листе после текста статьи в одном с ней файле.

Таблицы должны быть наглядными, иметь название и порядковый номер. Заголовки граф должны соответствовать их содержанию. Все сокращения расшифровываются в примечании к таблице.

8. Единицы измерения и сокращения

Единицы измерения даются в Международной системе единиц (СИ).

Сокращения слов не допускаются, кроме общепринятых. Все аббревиатуры в тексте статьи должны быть полностью расшифрованы при первом упоминании (например, онкогематология (ОГ)).

9. Список литературы

На следующей после текста странице статьи должен располагаться список цитируемой литературы.

Все источники должны быть пронумерованы, нумерация осуществляется строго по порядку цитирования в тексте статьи, не в алфавитном порядке. Все ссылки на источники литературы в тексте статьи обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках начиная с 1 (например, [5]). Количество цитируемых работ: в оригинальных статьях – не более 20–25, в обзорах литературы – не более 60.

Ссылки должны даваться на первоисточники, цитирование одного автора по работе другого недопустимо.

Включение в список литературы тезисов возможно исключительно при ссылке на иностранные (англоязычные) источники.

Ссылки на диссертации и авторефераты, неопубликованные работы, а также на данные, полученные из неофициальных интернет-источников, не допускаются.

Для каждого источника необходимо указать: фамилии и инициалы авторов (если авторов более 4, указываются первые 3 автора, затем ставится «и др.» в русском или «et al.» в английском в тексте). Авторы цитируемых источников должны быть указаны в том же порядке, что и в первоисточнике.

При ссылке на **статьи из журналов** после авторов указывают название статьи, название журнала, год, том, номер выпуска, страницы, PMID и DOI статьи (при наличии). При ссылке на **монографии** указывают также полное название книги, место издания, название издательства, год издания, число страниц.

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

Общие положения:

- Рассмотрение статьи на предмет публикации занимает не менее 8 недель.
- Все поступающие статьи рецензируются. Рецензия является анонимной.
- Редакция оставляет за собой право на редактирование статей, представленных к публикации.
- Редакция не предоставляет авторские экземпляры журнала. Номер журнала можно получить на общих основаниях (см. информацию на сайте).

Материалы для публикации принимаются по адресу j.roumiantseva@mail.ru с пометкой «Ответственному секретарю. Публикация в ОГ». С обязательным указанием названия журнала.

Полная версия требований представлена на сайте журнала.