

Жизнь, отданная медицине

К 110-летию со дня рождения И. А. Кассирского

16 апреля 2008 г. исполнилось 110 лет со дня рождения И. А. Кассирского, одного из самых ярких представителей отечественной медицины. Многим поколениям врачей И. А. Кассирский известен как крупнейший гематолог, создатель отечественной гематологической школы. Однако его вклад в медицинскую науку далеко не ограничивается гематологией. Ученик А. Н. Крюкова, под руководством которого он начинал свою медицинскую деятельность в Туркестанском университете в г. Ташкенте, И. А. Кассирский занимался изучением географической патологии внутренних болезней, инфекционных и обменных заболеваний, характерных для жаркого климата.

Уже через год после начала работы в клинике А. Н. Крюкова была опубликована первая работа И. А. Кассирского «К вопросу о роли гипофиза при несахарном мочеизнурении». Одним из самых распространенных и тяжелых протекавших заболеваний в Средней Азии в то время была малярия. В 1924 г. И. А. Кассирский публикует работу «К вопросу о систематическом лечении малярии с попыткой его биологического обоснования». Эта работа характерна для подхода Иосифа Абрамовича к лечебным проблемам: свойственное ему глубокое и всестороннее обдумывание биологических основ заболевания и отсутствие страха в нарушении сложившихся представлений о сути патологии и подходах к ее терапии. Позднее им написана монография «Тропические болезни Средней Азии», статьи «О лейшманиозе взрослых в Туркестане», «Язвенные колиты в Средней Азии», «Водный, хлорный и азотистый обмен у здоровых в период летней жары в Ташкенте», «Пеллагра в Средней Азии» и другие. В 1925 г. в Берлине на немецком языке была опубликована совместная работа учителя и ученика — «Об истинных и маскированных расстройствах желудочной

секреции, о пилороспазме и зиянии привратника».

Эта разносторонность интересов в медицине сохранилась у Иосифа Абрамовича на протяжении всей его жизни и работы. Им опубликованы монографии, посвященные самым разным лечебным проблемам: «Клиника и терапия малярии», «Болезни жарких стран», «Лекции о ревматизме», «Аускультативная симптоматика приобретенных пороков сердца», заслужившая очень высокую оценку ревматологов и кардиологов, и многие другие. Обширные знания в самых разных областях медицины, как и его личные качества — тонкая наблюдательность, умение заметить симптом и правильно оценить его значение, способность за симптомом увидеть закономерность, — делали И. А. Кассирского непревзойденным диагностом в самых трудных случаях. В сложных диагностических ситуациях он всегда выслушивал мнение коллег, но его собственное суждение основывалось только на его личном опыте, интуиции и знаниях. Он как-то произнес фразу, очень хорошо характеризующую особенность его клинического мышления: «Когда я вижу перед собой больного с неясным диагнозом, перед моим мысленным взором независимо от моей воли в течение нескольких минут проходят десятки больных, которых я наблюдал раньше, я вижу сходство и отбрасываю несхожесть и, в конце концов, прихожу к заключению».

Уже с первых лет работы в клинике, руководимой А. Н. Крюковым, И. А. Кассирский стал заниматься вопросами гематологии, которая стала страстью и главным делом его жизни. Ему чрезвычайно импонировал морфологический подход А. Н. Крюкова к изучению болезней крови. То знание морфологии, которое он получил в клинике А. Н. Крюкова, Иосиф Абрамович совершенствовал всю жизнь, став уни-



И. А. Кассирский

кальным морфологом. Любовь к изучению морфологии он прививал своим ученикам. Невозможно представить И. А. Кассирского, обсуждающего больного с гематологической патологией, без просмотра мазков его крови и костного мозга. Когда вспоминаешь Иосифа Абрамовича, прежде всего представляется его склоненная над микроскопом голова с прищуренным глазом.

Сейчас молодой ординатор, приходя в гематологическую клинику, первой из диагностических процедур осваивает метод пункции костного мозга. А между тем прижизненное получение костного мозга для исследования вначале было трудной и мучительной для больного процедурой — трепанирование трубчатой кости или обнажение грудины и трепанирование ее под местной анестезией. Только через 25 лет после первого прижизненного получения костного мозга человека М. И. Аринкин предложил простой и легко выполнимый метод стерильной пункции, прославивший его среди медиков мира. Однако при использовавшейся М. И. Аринкиным конструкции иглы сохранялась определенная опасность процедуры — возможность повреждения аорты или другого крупного сосуда.

И. А. Кассирский внес в эту конструкцию небольшую модификацию, которая полностью решила проблему безопасности стерильной пункции: он добавил к игле подвижный предохранительный щиток. С тех пор игла Кассирского стала первейшим инструментом

гематолога во всех клиниках мира. Но сейчас мало кто знает, что с помощью стерильной пункции иглой Кассирского впервые стал успешно диагностироваться висцеральный лейшманиоз. Этот метод диагностики, впервые примененный И. А. Кассирским и описанный им в статье «Пункция костного мозга и кроветворение при висцеральном лейшманиозе», стал широко применяться для диагностики этого заболевания во всех странах мира.

Замкнутый, суровый и чрезвычайно требовательный к своим сотрудникам, А. Н. Крюков вскоре оценил блестящие способности, огромный интерес к самым разным медицинским проблемам и поразительную работоспособность нового коллеги. Уже через два года после прихода в клинику И. А. Кассирский становится ассистентом, в 1930 г. избирается доцентом, а через год — профессором и заведующим кафедрой тропических болезней Ташкентского мединститута. В 1934 г. И. А. Кассирский, уже хорошо известный как один из ведущих ученых страны, был приглашен в Москву и стал научным руководителем терапевтического отделения железнодорожной больницы им. Н. А. Семашко, располагавшейся на окраине Москвы недалеко от притока Яузы реки Будайки в здании, построенном по проекту знаменитого архитектора Ф. О. Шехтеля. В этой небольшой больнице работали будущие известные ученые нашей страны В. Р. Брайцев, Н. В. Коновалов, Л. К. Богуш, А. Е. Рябухин, М. И. Певзнер. Иосиф Абрамович не раз называл эту больницу «Оксфорд на Будаике». Здесь была атмосфера научного интереса и высокого клиницизма.

С самого начала своей врачебной деятельности И. А. Кассирский был не только ученым, но и учителем. Уже через год после переезда в Москву он организовал при больнице курсы усовершенствования врачей, с 1936 г. преобразованные в кафедру терапии Центрального института усовершенствования врачей, заведующим которой Иосиф Абрамович оставался до конца жизни. На кафедре проводились циклы усовершенствования по кардиологии и гематологии. На циклах по гематологии курсанты прежде всего изучали морфологическую картину крови и костного мозга в норме и при различных видах патологии, слушали лекции о клинической картине, течении и лечении заболеваний крови. Именно здесь

в соавторстве с ближайшим учеником и сотрудником профессором Ю. А. Алексеевым Иосифом Абрамовичем было создано фундаментальное руководство «Клиническая гематология», выдержавшее 4 издания и ставшее настольной книгой гематологов на многие годы, а некоторых студентов побудившее заняться гематологией.

И. А. Кассирский очень внимательно относился к подбору кадров для своей кафедры. На кафедре работали люди с самыми разными характерами и темпераментами, но все были специалистами самого высокого класса. Каждый из сотрудников занимался определенной проблемой, в которой скоро становился одним из ведущих специалистов страны. На утренних конференциях и разборах больных сотрудники докладывали обо всем новом, что становилось известно по изучаемой каждой проблеме, поэтому знания каждого служили образованию всех.

Иосиф Абрамович был самой яркой фигурой на этих незабываемых конференциях. Внимательно выслушав доклад врача, он осматривал больного, а потом начинался разбор. Эти разборы были не только школой врачебного мышления, но и настоящим интеллектуальным праздником: Иосиф Абрамович, разбирая больного, вспоминал другие случаи из своей обширнейшей практики, обращался к художественной литературе, которую знал и любил, иногда — к музыкальным произведениям, театру. Тому, кто впервые сталкивался с такой манерой клинического разбора, могло показаться, что, рассуждая, профессор забыл о первоначальной отправной точке своих рассуждений, но вот наступал конечный поворот и разговор возвращался к конкретному больному, обогащенный примерами и сопоставлениями.

Постепенно на кафедре сложился уникальный коллектив, ядро той гематологической школы, которая была создана за годы работы И. А. Кассирского, — его ученики в клинике, аспиранты и докторанты, разрабатывавшие самые разные проблемы гематологии и защитившие диссертации под его руководством, внедрявшие затем в разных уголках страны те принципы, которые они усвоили на кафедре И. А. Кассирского: знание морфологии, точность в формулировках, точность в цитировании литературы, отсутствие страха в изложении новых и оригинальных взглядов, отсутствие боязни в спорах

и изложении своих сомнений. Иосиф Абрамович всегда очень поощрял своих сотрудников в их работе и не раз говорил, что он учится у них, что нуждается в их помощи и советах, хотя на самом деле он нуждался в благодарных учениках, во внимательных слушателях и восторженных почитателях. Не раз после особенно удачного выступления на заседании общества гематологов или на научной конференции он спрашивал, лукаво улыбаясь: «Ну, как ваш шеф справился с задачей?». Он любил своих учеников и хорошо чувствовал себя в атмосфере их любви и интереса к делу, которому он служил всю жизнь. Он любил литературу и музыку, живопись и театр, знал многих выдающихся людей и дружил со многими из них, но главная часть его жизни начиналась с той минуты, когда он открывал дверь своей клиники и входил в нее.

Каждого человека надо оценивать в рамках той эпохи, в которой он жил и работал. И. А. Кассирский жил в эпоху клиницизма, когда не было тех иммунологических и молекулярных методов, которые позволяют заглянуть в сущность патологии сейчас, когда в зачаточном состоянии была цитогенетика, когда в арсенале врача главным орудием были врачебная наблюдательность и умение сопоставлять. Иосиф Абрамович владел этим в совершенстве. Иногда говорят, что наука — это только точные данные, полученные в лаборатории или эксперименте, поскольку именно так добываются новые факты. Думается, что это неверно. Накопление наблюдений и клинических фактов при правильно сделанных из этих наблюдений выводах составили фундамент современной науки. Такие фигуры нашей клинической науки, как И. А. Кассирский, — это настоящие ученые, поскольку именно умный и умеющий видеть факты клиницист задает те вопросы, на которые отвечает биолог.

Невозможно передать то обаяние интеллекта и темперамента, которое было у Иосифа Абрамовича. Эмоциональная живая речь, покорявшая и убеждавшая слушателей, яркий отклик на все происходящие события, интерес к личным проблемам своих учеников, доступность и безотказность во внимании и советах, а когда нужно — помощь и поддержка... Не передать всего, что было в этом человеке, но и никогда не забыть.

*Редакция журнала
«Клиническая онкогематология»*

Лимфома Ходжкина: от Томаса Ходжкина до наших дней

Е. А. Демина

Hodgkin's lymphoma: since Thomas Hodgkin up to modern days

E. A. Demina

Keywords:

Hodgkin's lymphoma, history of treatment.

N. N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow

Принято в печать: 16 апреля 2008 г.



Томас Ходжкин



Дороти Рид

РЕФЕРАТ

Лимфома Ходжкина (синонимы: болезнь Ходжкина, лимфогранулематоз) составляет лишь 1 % всех онкологических заболеваний, регистрируемых ежегодно в развитых странах мира, но является одной из самых высококурабельных. По мнению профессора Н. Карпан, одного из крупнейших онкологов мира, руководителя отдела радиологии медицинского факультета Стэнфордского университета (США) и создателя радикальной лучевой терапии, «болезнь Ходжкина занимает особое место в истории понимания онкологических заболеваний, потому что многие принципы, важные для современной диагностики, стадирования и лечения были впервые использованы в управлении этой болезнью» [1]. Произнесенные в начале 70-х годов прошлого века, эти слова не потеряли своей актуальности и по сей день. Кроме высокой возможности излечения, доказанной в середине прошлого века и ставшей образцом для других онкологических заболеваний, интерес к лимфоме Ходжкина подогревался и существовавшей полтора века назад тайной происхождения клетки Березовского—Рид—Штернберга — опухолевого субстрата болезни. Только в середине 90-х годов XX в. было установлено, что клетка Березовского—Рид—Штернберга имеет лимфоидное происхождение. Она образуется в процессе созревания В-лимфоцитов из подлежащих выбраковке клеток герминального центра лимфатического узла.

Ключевые слова

лимфома Ходжкина, история лечения.

Заболевание впервые описал английский патологоанатом Томас Ходжкин в 1832 г. на основании анализа истории болезни и данных патологоанатомического исследования 7 наблюдений: 6 собственных и 1 случая, представленного его коллегой R. Carswell [2]. Заболевание сопровождалось лихорадкой, увеличением лимфатических узлов, селезенки и неизбежно приводило к кахексии и смерти. Заслуга Томаса Ходжкина в предположении, что выявленное им системное увеличение лимфатических узлов — не следствие воспаления и не метастазы солидной опухоли, а самостоятельное заболевание лимфатической системы. В 1926 г. Х. Фох при пересмотре гистологических препаратов 6 больных, описанных

Томасом Ходжкиным, установил, что только у 3 из них действительно была лимфома Ходжкина, но у одного — неходжкинская лимфома, а у 2 оставшихся — туберкулез и сифилис [3]. Тем не менее публикация Томаса Ходжкина дала сильный толчок для клинического и морфологического исследования лимфатической системы и положила начало учению о лимфомах.

Впервые предположение об опухолевой природе заболевания высказал R. Bright в 1838 г. [4], но до середины 70-х годов XX в. активно обсуждалась возможность инфекционной природы лимфомы Ходжкина. С этими спорами о природе заболевания связаны и изменения в названии болезни. В 1856 г. S. Wilks предложил название «болезнь

Ходжкина» [1, 3, 4]. В течение длительного времени, до конца XIX в., заболевание называлось «*lymphoma maligna*». В 1875 г. И. А. Кутырев описал своеобразную грануляционную ткань в прижизненно удаленном лимфатическом узле у больной с «*lymphoma maligna*», а в 1898 г. Н. Kundrat из большой сборной группы «*lymphoma maligna*» выделил два заболевания: лимфосаркома и «*granulema maligna*» — болезнь Ходжкина [4, 5].

Долгие годы многие исследовали, и в первую очередь К. Sternberg и D. Reed, расценивали болезнь Ходжкина как своеобразное туберкулезное или воспалительное поражение лимфатического аппарата [4, 5]. Эта точка зрения просуществовала до второй половины XX в. В 1904 г. на IV съезде патологов в Вене по предложению К. Sternberg, который стремился подчеркнуть в названии этого заболевания сходство с туберкулезом, было принято название «лимфогранулематоз» [5]. И только спустя 1,5 века после первого описания болезни, в последнем десятилетии XX в. была окончательно доказана опухолевая лимфоидная природа лимфомы Ходжкина: в 98–99 % случаев опухолевые клетки имеют моноклональную В-клеточную природу, а в 1–2 % — моноклональную Т-клеточную. В связи с этим в классификации Всемирной организации здравоохранения 2001 г. заболевание получило патогенетическое название «**лимфома Ходжкина**» как отражающее опухолевую природу клеток, составляющих субстрат болезни, и их происхождение из лимфоцитов [6].

Впервые о наличии крупных клеток в лимфатических узлах при лимфоме Ходжкина сообщили A. Ollivier и L. Ravié в 1867 г., но они не смогли предположить, что именно эти клетки являются субстратом болезни [7]. В 1890 г. ассистент госпитальной хирургической клиники Московского университета С. Я. Березовский в статье «К вопросу о строении и клиническом течении *lymphadenomae malignae*» дал подробную характеристику гигантских многоядерных клеток и предположил, что они являются субстратом болезни, имеют диагностическое значение и опухолевое происхождение [8]. Независимо от С. Я. Березовского венский ученый К. Sternberg в 1998 г. также описал гигантские многоядерные клетки и счел их диагностическими для лимфомы Ходжкина. Однако К. Sternberg в 8 из 13 случаев выявил в гистопрепаратах признаки туберкулеза, поэтому он заключил, что лимфома Ходжкина является своеобразной формой туберкулеза [8]. Самую подробную, ставшую классической, характеристику гигантским многоядерным клеткам при лимфоме Ходжкина дала английская исследовательница Dorothy Reed в 1902 г., которая отмечала, что, «хотя изменения и подобны злокачественному росту, но более напоминают воспалительный процесс» [4]. В зарубежной литературе эти клетки стали именоваться клетками Штернберга—Рид, а в отечественной — Березовского—Штернберга или Березовского—Рид—Штернберга.

Споры о **природе лимфомы Ходжкина** и происхождении клеток Березовского—Рид—Штернберга велись в течение всего XX в. На основании морфологического изучения ткани опухоли различные исследователи доказывали версии о туберкулезном, воспалительном, опухолевом, вирусном происхождении болезни, ее возникновение связывали с иммунной реакцией «трансплантат против хозяина» [4]. Вплоть до середины 90-х годов XX в. клетка Березовского—Рид—Штернберга оставалась самой загадочной из всех опухолевых клеток. На вопрос: «Кто ты, клетка Штернберга?», ответа по-прежнему не было.

Дело в том, что, в отличие от большинства других опухолей, у клетки Березовского—Рид—Штернберга нет аналога в нормальном гемопоэзе, поэтому на ее поверхности

не представлены характерные для В-лимфоидного ряда рецепторы. На роль предшественника клетки Березовского—Рид—Штернберга поочередно выдвигались ретикулярные клетки, макрофаги, В- и Т-лимфоциты. Прогресс в изучении природы клетки Березовского—Рид—Штернберга связан с развитием учения о нормальном лимфопоэзе, появлением техники микродиссекции для выделения отдельных клеток из образца ткани, взятой при биопсии, а также с возможностью применения метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления клональной реаранжировки гена иммуноглобулина в изолированной опухолевой клетке [9].

Самую значительную роль в создании теории патогенеза лимфомы Ходжкина сыграла группа исследователей из Германской группы по изучению лимфомы Ходжкина (GHSg — German Hodgkin lymphoma Study Group), возглавляемая в течение 30 лет проф. V. Diehl. К. Rajewsky и R. Küppers из GHSg в 1994 г. опубликовали данные, доказавшие, что клетка Березовского—Рид—Штернберга является моноклональной опухолевой и в большинстве случаев происходит из В-клеточной линии лимфоцитов, но иногда — из Т-клеточной линии [9]. В 2004 г. R. K. Thomas и соавт., тоже представители GHSg, показали, что клетка Березовского—Рид—Штернберга происходит из низкоаффинных (малоспецифичных) и потому выбракованных В-лимфоцитов герминального центра лимфатического узла, у которых заблокирован сигнал к апоптозу [9]. И наконец, эти же исследователи показали и роль вируса Эпштейна—Барр в патогенезе лимфомы Ходжкина, частицы которого блокируют апоптоз в выбракованных лимфоцитах герминального центра.

Первую морфологическую классификацию лимфомы Ходжкина опубликовали в 1947 г. H. Jakson и F. Parker [3]. На основании морфологии опухолевых клеток и клеточного состава микроокружения они выделили три морфологических типа болезни: парагранулема, гранулема, саркома. Однако выявить связь этих вариантов заболевания с его клиническим течением не удалось. Через 20 лет, в 1966 г., на 2-й Международной конференции по лимфоме Ходжкина в Райе — небольшом городке под Нью-Йорком — учеными из Западной Европы и Америки была принята новая морфологическая классификация, предложенная R. J. Lukes и J. J. Butler [10]. Эта классификация выделила четыре, ставших классическими, гистологических варианта заболевания: с лимфоидным преобладанием, нодулярный склероз, смешанно-клеточный вариант и лимфоидное истощение. Классификация просуществовала практически без изменений до середины 1990-х годов. Только в 1994 г., когда был сформулирован новый принцип классификации всех лимфом, основанный на постулате, что для каждого варианта лимфом существует нормальный (неопухолевый) клеточный аналог, были внесены некоторые изменения и в классификацию R. J. Lukes и J. J. Butler.

Новая классификация лимфом, названная REAL-классификацией (Revised European American Lymphoma Classification — пересмотренная Европейско-Американская классификация лимфом), была создана большим коллективом ведущих патологов Западной Европы и Америки с учетом морфологических, иммунофенотипических, генотипических и клинических характеристик лимфом [11]. Классификация R. J. Lukes и J. J. Butler практически полностью была включена в REAL-классификацию, только из варианта «с лимфоидным преобладанием» были выделены два варианта: «классический вариант, богатый лимфоцитами» и имеющий иные, чем у классической лимфомы Ходжкина, иммунофенотипические признаки, и вариант «с нодулярным лимфоидным преобладанием». В 2001 г. эти изменения вошли в клас-

сификацию опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей ВОЗ.

В течение XIX в. **лечение** лимфомы Ходжкина было исключительно симптоматическим. Кроме хирургического удаления увеличенных лимфатических узлов, как и при других опухолях, предпринимались попытки лечения препаратами мышьяка. В 1902 г. при лечении саркомы и лимфомы Ходжкина W. A. Pussey впервые применил X-излучение, открытое в 1896 г. Рентгеном [12]. Это было первое сообщение о нехирургическом лечении опухолевых заболеваний. Однако до 1925 г. лечение лимфомы Ходжкина не было системным. В 1925 г. швейцарский радиолог R. Gilbert заложил основы современной радикальной лучевой терапии (РЛТ). R. Gilbert предложил при лечении лимфомы Ходжкина облучать не только клинически пораженные лимфатические узлы, но и зоны сопредельных лимфатических коллекторов [13]. Только через 25 лет, в 1950 г., его ученица V. Peters, работавшая в Институте радиотерапии в Онтарио (Канада), опубликовала результаты применения этой методики у 113 больных с I стадией лимфомы Ходжкина. 10-летняя выживаемость в этой группе больных достигла 79 %, однако в группе больных с III стадией заболевания, получавших лечение по этой же программе, 10-летняя выживаемость по-прежнему оставалась равной нулю [14]. Окончательно программа РЛТ для больных с лимфомой Ходжкина была разработана и внедрена в мировую практику в 60-х годах прошлого века Н. Карпан, руководителем отдела радиологии медицинского факультета Стэнфордского университета (США) в соавторстве с V. Peters.

Поскольку **радикальная лучевая терапия** — метод местного воздействия, то для ее успешного проведения необходимо точное анатомическое знание всех имеющих очагов поражения. Эффективность этого метода лечения оказалась высокой только у больных с ограниченным распространением болезни — в лимфатических коллекторах по одну сторону диафрагмы (преимущественно, выше диафрагмы). При дальнейшем распространении заболевания по другую сторону диафрагмы (как правило, ниже диафрагмы) или при органном поражении эффективность РЛТ оказалась очень низкой. Таким образом, в 1960-х годах потребовались диагностические методы, позволяющие уточнить поражение внутрибрюшных и забрюшинных лимфатических узлов и органов брюшной полости. Использование РЛТ при лечении лимфомы Ходжкина потребовало выделения групп больных, не подлежащих лечению по этой программе. Таким образом, возникла необходимость в создании клинической классификации, отвечающей требованиям лучевой терапии.

В 1952 г. J. D. Kinmonth предложил **метод нижней лимфографии** (введение контрастного вещества в лимфатические сосуды нижних конечностей) для диагностики поражения лимфатических коллекторов ниже диафрагмы [15]. Однако этот метод не давал представления о состоянии селезенки и лимфатических узлов в воротах селезенки и печени. Следует напомнить, что ультразвуковой и компьютерной томографии тогда не существовало. В 1969 г. E. Gladstein и Н. Kaplan предложили диагностическую лапаротомию с биопсией забрюшинных лимфатических узлов и печени для морфологической верификации состояния этих органов перед составлением программы лечения [16]. На первом этапе, пока основным методом лечения лимфомы Ходжкина оставалась РЛТ, отдаленные результаты лечения больных после спленэктомии оказались значительно лучше. Однако появление новых, неинвазивных методов диагностики (компьютерная томография, ультразвуковая томография, в последние годы — позитронно-эмиссионная томография) и использование комбинированных химиолучевых программ

лечения, а также осложнения, связанные с оперативным вмешательством в брюшной полости, сделали эту диагностическую процедуру нецелесообразной.

Необходимость четкого выделения групп больных, подлежащих различным методам лечения, поставила задачу создания **клинической классификации** заболевания, позволяющей определять выбор терапии.

До 60-х годов прошлого столетия существовало две крупных школы в лечении лимфомы Ходжкина, различающиеся по своим идеологическим направлениям: европейская и американская. Девизом американской школы могло бы быть выражение «полная ремиссия любой ценой», а европейской — «осложнения настолько серьезны, что надо подумать, стоит ли платить такую цену за полную ремиссию». К концу 1960-х годов, когда стали очевидны как успехи в лечении лимфомы Ходжкина, так и его издержки, возникла необходимость в поиске общих подходов к лечению, его оценке и снижению числа осложнений. Необходимость четкого выделения групп больных, подлежащих различным методам лечения, поставила задачу создания клинической классификации заболевания, позволяющей определять выбор терапии.

С этого времени начинается путь поиска компромисса и объединения усилий ученых различных стран для выработки приоритетных направлений в диагностике и лечении лимфомы Ходжкина. Первые две международные конференции состоялись в 1965 г. в Париже и Райе; в 1971 г. — в Ann-Arbor, где была принята современная клиническая классификация, вошедшая впоследствии в Международную классификацию ВОЗ; затем в 1973 г. в Palo Alto и в 1988 г. в Cotswold, где были приняты последние дополнения к клинической классификации. С 1987 г. Международные конференции по лимфоме Ходжкина стали регулярно проводиться (1 раз в 2 года) в Кельне Германской группой по изучению лимфомы Ходжкина.

Успехи РЛТ при локализованной I–II стадии лимфомы Ходжкина позволили в середине 1970-х годов признать лимфому Ходжкина **потенциально излечимым заболеванием**. Однако эффективность РЛТ оставалась низкой при III стадии заболевания и не решала проблемы лечения больных с IV стадией — результаты лечения по-прежнему оставались невысокими.

В 40–50-х годах прошлого века были синтезированы и начали применяться для лечения онкологических больных **химиопрепараты с различным механизмом действия**: эмбихин (мустарген), хлорамбуцил, циклофосфамид, CCNU, винкристин, винбластин, прокарбазин, метотрексат и другие, а также синтетический стероидный гормон — преднизолон. Первый опыт применения у больных с лимфомой Ходжкина производного горчичного газа — нитрогена мустарда, получившего впоследствии название «мустарген», — относится к 1943 г. Однако опубликованы результаты лечения были только после окончания Второй мировой войны, в 1946 г. [17]. Попытки лечения больных с распространенными стадиями лимфомы Ходжкина с использованием 1, 2 или даже 4 химиопрепаратов поначалу не улучшили выживаемости больных. Удачной оказалась лишь комбинация из 4 химиопрепаратов: мустаргена, винкристина, прокарбазина и преднизолона, повторяющаяся с постоянными 2-недельными интервалами — схема МОРР.

Началом эры полихимиотерапии в лечении лимфомы Ходжкина следует считать публикацию в 1967 г. V. T. De Vita и A. A. Serpick из Национального института рака в США, которые представили результаты лечения 43 больных с распространенными стадиями лимфомы Ходжкина, получивших полихимиотерапию по схеме МОРР: впервые частота полных ремиссий в этой группе больных составила 81 % [18]. В

1980 г. был опубликован анализ отдаленных результатов лечения по этой схеме первых 198 больных: частота полных ремиссий осталась прежней — 80 %, и у 54 % из этих больных сохранялась полная ремиссия в течение 10–20 лет [19]. Однако подтвердить впоследствии столь высокую эффективность этой программы лечения не удалось ни в одном из 7 крупных многоцентровых исследований, проведенных в Европе и Америке. В этих 7 исследованиях частота полных ремиссий колебалась от 46 до 78 %, а число больных, длительно оставшихся в полной ремиссии, — от 16 до 37 % [20].

Хотя схема MOPP получила широчайшее распространение в мире, заявленные авторами результаты лечения оказались уникальными и неповторимыми как в условиях других клиник, так и в многоцентровых исследованиях [20, 21]. Кроме того, наряду с высокой эффективностью эта комбинация химиопрепаратов обладала высокой миело- и эматогенной токсичностью. Поэтому в последующее десятилетие появилась большое число схем, в которых вместо мустаргена использовались не менее эффективные, но обладавшие меньшей токсичностью химиопрепараты — хлорамбуцил, циклофосфамид, CCNU, а вместо винкристина — винбластин (схемы COPP, CVPP, CIVPP и др.) [20, 21].

Открытие новых **противоопухолевых антибиотиков** (антрациклины и блеомицин), а также синтез еще одного алкилирующего препарата — дакарбазина — позволили группе исследователей из Милана, руководимой G. Vonopona, создать новую эффективную комбинацию химиопрепаратов для лечения лимфомы Ходжкина — схему ABVD (адрибластин, блеомицин, винбластин, дакарбазин). Первые результаты лечения больных лимфомой Ходжкина по этой схеме были опубликованы в 1975 г. [22]. Несмотря на то что уже в первом рандомизированном исследовании было показано преимущество схемы ABVD перед схемой MOPP, потребовалось более 20 лет для подтверждения этого факта в нескольких больших многоцентровых исследованиях с длительными сроками наблюдения и признания этой схемы «золотым стандартом» для больных с локализованными стадиями лимфомы Ходжкина [21].

Новая концепция лечения — сочетание в одной программе двух методов лечения (лучевой и химиотерапии) — была предложена в середине 1970-х годов. В 1976 г. L. Prosnitz и соавт. опубликовали результаты исследования, показавшие, что для больных с распространенными стадиями лимфомы Ходжкина лучевая терапия в низких дозах (20 Гр) в середине курса полихимиотерапии, когда основная опухолевая масса сокращена на 50–80 %, позволяет повысить эффективность лечения [23]. Сочетание в одной программе двух методов сократило число рецидивов с 30–40 до 10–12 %, а уменьшение объема опухоли после полихимиотерапии позволило сократить поля лучевой терапии, что снизило число лучевых осложнений [23, 24]. Эта работа легла в основу современного направления в лечении лимфомы Ходжкина. **Комбинированная химиолучевая** терапия сегодня является приоритетным методом лечения для абсолютного большинства больных лимфомой Ходжкина с любой стадией заболевания.

1970–1980-е годы показали, что только кооперированные исследования, выполняемые большими коллективами исследователей одновременно в разных клиниках, в состоянии быстро решить проблему оценки эффективности каждой вновь предложенной программы лечения больных лимфомой Ходжкина.

В 80–90-х годах прошлого века было проведено и оценено несколько крупных рандомизированных исследований, которые выявили преимущество комбинированного химио-

лучевого лечения перед радикальной лучевой терапией для больных с локализованной I–II стадией лимфомы Ходжкина. Эти исследования доказали возможность излечения для большинства больных с локализованными стадиями заболевания: 20 лет без рецидива проживают 80 % из них.

Накопленный в крупных многоцентровых исследованиях опыт к началу 90-х годов XX в. позволил определить основные **клинические и лабораторные прогностические факторы** и выделить группу больных с неблагоприятным течением лимфомы Ходжкина. Выделение неблагоприятных прогностических факторов и принцип разделения больных на прогностические группы также можно отнести к концептуальным идеям в лечении лимфомы Ходжкина, несмотря на то что различные исследовательские центры используют разный комплекс прогностических факторов, что существенно влияет на формирование этих групп [21].

Теоретические работы, исследовавшие причины возникновения резистентного опухолевого клона, показали, что на его формирование оказывает влияние как увеличение интервала между циклами химиотерапии, так и снижение доз препаратов. Соответственно, преодолеть резистентность опухоли можно, как увеличивая дозы химиопрепаратов, так и уменьшая интервалы между повторными введениями [25, 26]. Основываясь на этих теоретических разработках, две группы исследователей — из Стэнфордского института в США и из Германии — независимо друг от друга в начале 1990-х годов предложили **новую концепцию для лечения больных с распространенными стадиями** заболевания и новые программы интенсифицированного лечения. Стэнфордская группа предложила программу Stanford V, а Германская группа по изучению лимфомы Ходжкина, в течение 30 лет возглавляемая проф. V. Diehl, — BEACOPP-21 эскалированный и BEACOPP-14 [27, 28]. Появлению этих программ способствовало внедрение в лечебную практику нового высокоэффективного противоопухолевого препарата — этопозида, а кроме того, гранулоцитарных колониестимулирующих факторов (G-CSF), которые позволили выполнять всю программу лечения без существенного удлинения интервалов и снижения доз. Такие интенсифицированные программы доказали возможность излечения у большинства больных неблагоприятной прогностической группы: 5-летняя выживаемость, свободная от неудач лечения, достигла 90 % [29].

Современный научный прогресс предоставил медицине новые диагностические возможности. **Позитронно-эмиссионная томография** (ПЭТ) позволяет определить активность опухолевой ткани с 98%-й достоверностью. И снова лимфома Ходжкина становится первой моделью, на которой отрабатывается прогностическое значение этого метода. По данным A. Gallamini и соавт., отрицательные результаты ПЭТ после второго цикла полихимиотерапии предсказывают возможность 5-летнего безрецидивного течения у 95 % больных, в то время как положительные результаты — лишь у 12,8 % [30].

Лимфома Ходжкина стала одним из первых заболеваний, при котором была доказана **возможность излечения абсолютного большинства больных**, но она первой же выявила и новую проблему — проблему осложнений лечения. Молодой возраст основного контингента больных и полученная возможность прожить столь же долгую жизнь, как и сверстники, заставили обратить внимание на качество жизни излеченных больных. Лимфома Ходжкина оказалась первым онкологическим заболеванием, при котором стала обсуждаться необходимость сохранения детородной функции и возможность беременности и родов. Длитель-

ные, 20–30-летние наблюдения за больными выявили такие грозные поздние осложнения лечения, как вторые опухоли, инфаркты миокарда, инфекции, приводящие к преждевременной гибели излеченных больных. Все эти осложнения заставляют, в свою очередь, исследователей искать новые варианты лечения лимфомы Ходжкина, высокоэффективные, но не повреждающие нормальные ткани.

Очень поэтично и очень емкую по своему содержанию характеристику истории этого заболевания дал один из крупнейших онкологов мира Gianni Bonadonna: «История болезни Ходжкина — одно из наиболее завораживающих событий в медицине. До настоящего времени клинические исследования, проводимые при болезни Ходжкина, остаются моделью для многих других онкологических заболеваний. В начале 70-х годов XX в. увеличение выживаемости этих больных было достигнуто при использовании сочетания нескольких химиопрепаратов и мультидисциплинарного подхода к диагностике и лечению. В то время предполагалось, что успех лечебной стратегии можно оценить при анализе 5-летней выживаемости больных. Сегодня известно, и это было показано на примере болезни Ходжкина, что необходимо дли-

тельное наблюдение, в течение 20–25 лет, потому что только такое наблюдение дает возможность оценить отсроченные эффекты лечения, включая его позднее влияние на нормальные ткани.

Болезнь Ходжкина, с ее комплексной терапевтической стратегией, стала инструментом, выявившим необходимость широкого медицинского образования, показавшим необходимость в проспективных контролируемых клинических испытаниях с гарантией качества и адекватной статистической обработки.

Полная победа над лимфомой Ходжкина уже не является слишком далекой целью. Ее достижение требует новых клинических исследований не только для группы больных с высоким риском, но и для обсуждения абсолютного и относительного риска заболеваемости, связанной с лечением. Пациенты с болезнью Ходжкина продолжают оставаться эталоном для ведущих исследовательских центров, в которых установление точного диагноза, правильной стадии, дисциплина в проведении контролируемых исследований и идентификация осложнений остаются неотъемлемой частью прогресса» [3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Kaplan H. S. Hodgkin's Disease, 2nd ed. — Cambridge: Harvard University Press, 1980.
2. Hodgkin T. On some morbid experiences of the absorbent glands and spleen. *Med. Chir. Trans.* 1932; 17: 69–97.
3. Bonadonna G. Historical review of Hodgkin's disease. *Br. J. Haematol.* 2000; 110: 504–11.
4. Bailliere's Clinical Haematology. International Practice and Research. Hodgkin's Disease / V. Diehl (ed.). — London, Philadelphia, Sydney: Bailliere Tindall, 1996.
5. Переслегин И. А., Филькова Е. М. Лимфогранулематоз. — М.: Медицина, 1976.
6. Jaffe E. S., Harris N., Stein H., Vardiman J. (eds.) World Health Organization Classification of Tumors: Pathology and genetics of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. — Lyon, France: IARC Press, 2001.
7. Ollivier A., Ranvier L. Observation pour servir à l'histoire de l'ad nite. In: *Memories lus à la société de biologie*, 1867: 99.
8. Лимфогранулематоз / Под ред. Л. П. Симбирцевой, Л. Холсти. — М.: Медицина, 1985.
9. 25 Years German Hodgkin Study Group / V. Diehl (ed.). — Medizin & Wissen, 2004.
10. Lukes R. J., Rappaport H. Report of the nomenclature committee. *Cancer* 1966; 26: 1311.
11. Harris N., Jaffe E. S., Stein H. et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84: 1361–2.
12. Pussey W. A. Cases of sarcoma and of Hodgkin's disease treated by exposures to X-rays: preliminary report. *JAMA* 1902; 98: 166–9.
13. Gilbert R. La roentherapie de la granulomatose maligne. *J. Radiol. Electrol.* 1925; 9: 509–14.
14. Peters M. V. A study of survivals in Hodgkin's disease treated radiologically. *Am. J. Roengenol.* 1950; 63: 299–311.
15. Kinmonth J. D. Lymphangiography in man. Method of outlining lymphatic trunks and operation. *Clin. Sci.* 1952; 11: 13–20.
16. Gladstein E., Guernsey J. M., Rosenberg S. A., Kaplan H. S. The value of laparotomy and splenectomy in the staging of Hodgkin's disease. *Cancer* 1969; 24: 709–18.
17. Goodman L. S., Wintrob N. N., Dameshek W. et al. Nitrogen mustard therapy. Use of methyl bis (B-chloroethyl) amine hydrochloride and tris (B-chloroethyl) amine hydrochloride for Hodgkin's disease lymphosarcoma, leukemia, certain allied and miscellaneous disorders. *JAMA* 1946; 132: 126–32.
18. De Vita V. T., Serpick A. A. Combination chemotherapy in the treatment of advanced Hodgkin's disease. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1967; 8: 13.
19. De Vita V. T., Simon R. M., Hubbard S. M. et al. Curability of advanced Hodgkin's disease with chemotherapy. Long-term follow up of MOPP treated patients at NCI. *Ann. Intern. Med.* 1980; 92: 587–95.
20. Cancer. Principles & Practice of Oncology, 3th ed. / Ed. by V. T. DeVita, S. Hellman, S. A. Rosenberg. — Philadelphia, 1989; 2. — P. 1696–739.
21. Hodgkin's disease / Ed. by P. V. Mauch, J. O. Armitage, V. Diehl et al. — Philadelphia, 1999.
22. Bonadonna G., Zucali R., Monfardini S. et al. Combination chemotherapy of Hodgkin's disease with Adriamycin, bleomycin, vinblastine and imidazole carboxamide versus MOPP. *Cancer* 1975; 36: 252–9.
23. Prosnitz L. R., Farber L. R., Fisher J. J. et al. Long term remissions with combined modality therapy for advanced Hodgkin's disease. *Cancer* 1976; 37: 2826–33.
24. Клиническая онкогематология / Под ред. М. А. Волковой. — М.: Медицина, 2001. — С. 314–35.
25. Goldie J. H., Coldman A. J. A mathematic model for relating the drug sensitivity of tumors to their spontaneous mutation rate. *Cancer Treat. Rep.* 1979; 63: 1727–33.
26. Coldman A. J., Goldie J. H. Impact of dose-intensive chemotherapy on the development of permanent drug resistance. *Sem. Oncol.* 1987; 14(Suppl. 4): 29–33.
27. Horning S. J., Rosenberg S. A., Hoppe R. T. Brief chemotherapy (Stanford V) and adjuvant radiotherapy for bulky or advanced Hodgkin's disease. *Ann. Oncol.* 1996; 7(Suppl. 4): 105–8.
28. Diehl V., Franklin J., Hansenclever D. et al. BEACOPP: A new regimen for advanced Hodgkin's disease. *Ann. Oncol.* 1998; 9(Suppl. 5): 67–71.
29. 25 Years German Hodgkin Study Group / Ed. by V. Diehl, A. Josting. — Munich: Medizin & Wissen, 2004.
30. Gallamini A., Hutchings M., Rigacci L. et al. Early interim FDG-PET overshadows the prognostic role of IPS in advanced stage Hodgkin lymphoma treated by conventional ABVD therapy. *Haematologica* 2007; 95(s5): 32, abstr. C022.
31. Bonadonna G. Historical review of Hodgkin's disease. *Br. J. Haematol.* 2000; 110: 504–11.

Унитарная вирусная гипотеза этиологии опухолей: возникновение, расцвет и самоубийство

А. Д. Альтштейн

**Unitary virus hypothesis of tumor
etiology: emergency, flowering and
suicide**

A. D. Altstein

Keywords:

oncogenic viruses, viral and cellular oncogenes, endogenous
retroviruses, suppressor genes.

Institute of Gene Biology RAS, Moscow

Контакты: altstein_anatoly@mail.ru

Принято в печать: 20 апреля 2008 г.

Ключевые слова

онкогенные вирусы, вирусные и клеточные онкогены, эндогенные ретровирусы, гены-супрессоры.

Конец XIX — начало XX в. был периодом возникновения и колоссальных успехов молодой науки — микробиологии (Л. Пастер, Р. Кох и их сотрудники). Была расшифрована этиология многих инфекционных заболеваний, разработаны научные принципы создания вакцин против некоторых из них. Естественным было стремление исследователей того времени выявлять инфекционную этиологию той или иной болезни, что открывало возможности для ее специфической профилактики. Особое внимание привлекали необычные инфекционные агенты — вирусы. По современному определению, вирусы — это мельчайшие инфекционные агенты неклеточной природы, содержащие один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) и являющиеся облигатными внутриклеточными паразитами, не способными размножаться на искусственных питательных средах. Первооткрывателем вирусов был российский ботаник **Д. И. Ивановский** [1], который в 1892 г. показал, что возбудитель мозаичной болезни табака способен проходить через фильтр, задерживающий самые мелкие бактерии, и не растет на искусственных питательных средах. В 1898 г. М. W. Beijerinck [2] установил, что этот фильтрующийся агент размножается в больных растениях и предположил принципиальное отличие этого возбудителя от бактерий. Вскоре были открыты другие вирусы человека, животных, растений, бактерий.

Идея вирусной этиологии опухолей возникла вскоре после открытия вирусов. Парадоксально, что одним

из первых эту идею в 1903 г. выдвинул французский исследователь А. Voguel [3], основываясь на способности неонкогенного вируса оспы кур вызывать продуктивную воспалительную реакцию у зараженных птиц, которая была принята за опухолевый рост. Позже были выявлены настоящие опухолеродные вирусы. В 1908 г. датчане V. Ellerman и O. Bang [4] показали вирусную этиологию эритробластоза кур. Впрочем, в то время лейкозы не считались опухолевыми заболеваниями, поэтому открытие датских исследователей прошло незаметно. В 1911 г. **П. Раус (P. Rous) выделил вирус саркомы кур**, сыгравший особую роль в изучении вирусного канцерогенеза [5]. 55 лет спустя (!) П. Раус был, наконец, удостоен Нобелевской премии.

В первой половине XX в. вирусология постепенно набирала обороты, ее методы совершенствовались. Были открыты вирусы — возбудители многих инфекционных заболеваний человека (желтой лихорадки, полиомиелита, гриппа, кори, герпеса и др.), животных, растений, грибов и бактерий. Объектом вирусологических исследований становились и опухолевые заболевания. К середине столетия был обнаружен ряд вирусных возбудителей опухолей человека и животных. Среди них были **вирусы доброкачественных опухолей** (папилломы человека, папилломы кролика, фибромы и миксомы кролика, контагиозного моллюска человека), а также **сарком и лейкозов кур, вирусы рака молочной железы мышей и рака почки лягушки** [6].

Следует отметить, что, несмотря на очевидные экспериментальные успехи, роль вирусов в этиологии реальных злокачественных опухолей долго игнорировалась научным и, особенно, медицинским сообществом. Так, вирус саркомы кур либо отказывались признавать вирусом, либо считали, что саркома Рауса — не настоящая опухоль. Лейкозы долгое время не признавались опухолевыми заболеваниями. Вирус рака молочной железы мышей, передающийся с молоком, обозначали как «фактор молока». Если же вирусная этиология опухоли признавалась, считалось, что это случайность, природный курьез. Такому скептическому отношению способствовала несовершенная техника вирусологических исследований, а также тот непреложный факт, что опухолевые болезни незаразны.

Как противоположная реакция возникло представление о роли вирусов как возбудителей всех опухолевых заболеваний — **унитарная гипотеза вирусной этиологии опухолей** — Л. А. Зильбер [7, 8], С. Н. Andrews [9], F. Duran-Reynals [10], L. Gross [6], R. Huebner, G. Todaro [11]. Эта гипотеза противостояла игнорированию роли вирусов в онкологии. Гипотеза стимулировала исследование роли вирусов в канцерогенезе и, в конечном итоге, привела к получению очень важных фундаментальных и практических результатов.

В 1951 г. Л. Гросс, заражая новорожденных животных, открыл **вирус лимфоидного лейкоза мышей**, положив начало выявлению вирусов, вызывающих лейкозы у различных млекопитающих [6].

Вскоре были открыты различные варианты вирусов лейкоза мышей, названные по имени их открывателей (вирусы лейкоза Мазуренко, Френд, Раушера, Молони, Абельсона и др.). В этот период в онковирусологию приходит ряд выдающихся исследователей, известных своими работами по обычным (неонкогенным) вирусам (Л. А. Зильбер, Р. Дулбекко, Р. Хюбнер, У. Роу, А. Сэбин и др.) и много талантливой молодежи (Г. Абелев, Д. Балтимор, Р. Вайнберг, Ф. Вижье, Г. Дейчман, П. Дьюсберг, Б. Лапин, Ф. Рапп, Г. Рубин, Г. Свет-Молдавский, Я. Свобода, Г. Темин, Д. Тодаро, П. Фогт, Х. Т. Ханафуза и многие другие). Идея, что все опухоли вызываются вирусами, получает все большую моральную и экспериментальную поддержку. Открытия в этой области идут сплошным потоком.

Важный вклад был сделан специальной американской программой по изучению опухолеродных вирусов (Virus Cancer Program), созданной в 1964 г. и функционировавшей в течение 14 лет. Ее главной целью было выявление вирусной этиологии опухолевых заболеваний человека, новых опухолеродных вирусов животных, изучение механизма вирусного канцерогенеза. В 50—60-х годах XX в. были открыты вирусы сарком мышей, крыс, кошек, обезьян, различных лейкозов мышей, кошек, обезьян, крупного рогатого скота. Обнаружение вирусов, высокоонкогенных для лабораторных животных (вирус полиомы мышей и вирус SV40 обезьян), наряду с известным ранее вирусом саркомы Рауса дало в руки исследователей замечательные модели для изучения вирусного канцерогенеза. Интерес к опухолеродным вирусам значительно возрос, когда стало ясно, что существует реальная возможность заражения человека известными опухолеродными вирусами животных. Отечественными исследователями (Л. А. Зильбер, Г. Я. Свет-Молдавский и их сотрудники) было показано, что считавшийся ранее видоспецифическим вирус саркомы Рауса способен вызывать неопластические заболевания не только у кур, но и у млекопитающих [12, 13].

Поскольку вирусные вакцины против различных инфекций изготавливались на куриных эмбрионах и в клеточных

культурах, в которых могли присутствовать латентные опухолеродные вирусы животных, возникла опасность загрязнения таких вакцин этими вирусами и их попадания в организм человека при вакцинации [14]. Если учесть, что главные потребители вакцин — дети, можно понять, какую тревогу вызвала такая возможность в начале 1960-х годов. Было показано, что в полиомиелитной вакцине, изготовлявшейся в культуре клеток почки макаки-резуса, обнаруживается вирус SV40, способный вызывать опухоли при введении новорожденным сирийским хомякам, и стало ясно, что миллионы детей получили этот вирус в процессе вакцинации. Были предприняты специальные усилия, чтобы избавиться от этого вируса и приготовить вакцину, свободную от него.

В вакцинах, изготовлявшихся на куриных эмбрионах, был обнаружен вирус лимфоидного лейкоза кур, что также потребовало принятия специальных мер. Много волнений вызвало обнаружение опухолеродной активности у аденовирусов, широко распространенных в популяции человека и вызывающих, в основном, респираторные заболевания и конъюнктивиты. Некоторые аденовирусы обуславливают опухоли при введении новорожденным хомякам, мышам и крысам [15]. Эти истории окончились благополучно: ни SV40, ни вирусы лейкоза кур, ни аденовирусы, по-видимому, не имеют отношения к этиологии естественных опухолей человека. Однако они явились важным стимулом для развития онковирусологических исследований и для разработки мер по предотвращению контаминации вакцин онкогенными вирусами животных.

В 1965 г. была установлена **вирусная этиология лимфомы Беркитта** человека [16] — своеобразного злокачественного опухолевого заболевания детей в определенных районах Африки. Возбудителем оказался вирус из семейства герпесвирусов, представители которого широко распространены среди позвоночных. Позже были найдены новые герпесвирусы, вызывавшие Т-клеточные лейкозы у обезьян.

Таким образом, к концу 1960-х годов стало ясно, что многие вирусы обладают способностью вызывать опухоли *in vivo* и/или индуцировать неопластическую трансформацию клеток *in vitro*. Такие вирусы считаются опухолеродными. Они принадлежат к нескольким группам ДНК-содержащих (папова-, адено-, герпес-, покс- и гепаднавирусы) и к одной группе РНК-содержащих вирусов (ретровирусы).

Для обоснования унитарной вирусной гипотезы большое значение имели идеи и исследования, направленные на изучение механизма, с помощью которого вирусы превращают нормальные клетки в опухолевые. Еще в 1946 г. Л. А. Зильбер [7] предположил, что онкогенные вирусы могут вызывать генетические изменения клеток, но отсутствовать в опухолевой ткани в инфекционной форме («мавр сделал свое дело, мавр может уйти»). Позже он назвал свою идею этиологии опухолей **вирусно-генетической теорией**. Он и другие исследователи (R. Dulbecco, A. Lwoff) предположили, что в опухолевых клетках имеет место интеграция вирусного генома в геном клетки. Такую форму инфекционного процесса Л. А. Зильбер обозначал как интеграционную инфекцию, ранее известную только для лизогенных фагов [8]. Вскоре было экспериментально показано, что генетический материал ДНК-содержащих опухолеродных полиомавирусов действительно физически и функционально способен объединяться (интегрировать) с клеточным геномом [17]. Позже это было продемонстрировано на разных экспериментальных моделях.

Оставалось неясным, как такая интеграция может иметь место в случае РНК-содержащих опухолеродных вирусов, которые относятся к семейству ретровирусов (вирус саркомы Рауса кур, другие ретровирусы птиц, мышей и прочих

животных): ведь геном, построенный из РНК, не может объединиться с ДНК-геномом клетки. Проблему разрешили работы Н. Темп и Д. Балтимора. Они показали, что в составе вирионов ретровирусов содержится вирусный фермент, получивший название **РНК-зависимой ДНК полимеразы**, или обратной транскриптазы [18, 19]. После проникновения вируса в клетку обратная транскриптаза синтезирует копию ДНК на матрице вирусной РНК, а эта ДНК, называемая ДНК-провирусом, включается в геном зараженной клетки и служит матрицей для образования новой вирусной РНК. За работы по интеграции вирусного и клеточного геномов и за открытие обратной транскрипции Р. Дюлбессо, Н. Темп и Д. Балтимора получили Нобелевскую премию в 1975 г.

Интеграционный тип взаимодействия опухолеродных вирусов с опухолевыми клетками мог бы объяснить, почему невозможно выделить эти вирусы из опухолевой ткани, используя обычные вирусологические и онковирусологические методы. Отрицательные результаты вирусологического и электронно-микроскопического исследования опухолей (особенно опухолей человека) перестали быть доводом против их вирусной этиологии.

При изучении ретровирусов было открыто удивительное явление, не характерное для любых других групп вирусов многоклеточных [20]: некоторые ретровирусы способны существовать в форме ДНК-провируса, который находится в геноме всех клеток организма, у всех особей вида и передается вертикально генетическим путем, подобно обычным клеточным генам. Такие ретровирусы называют **эндогенными**. Феномен эндогенных ретровирусов был впервые показан для вируса рака молочных желез [21], вирусов типа С мышей [22, 23] и кур [24]. ДНК-провирус эндогенного вируса может содержать все гены, необходимые для формирования инфекционных вирионов (полный провирус) или может иметь генетические дефекты (дефектный провирус). Предполагается, что эндогенные вирусы возникают из обычных экзогенных ретровирусов в результате заражения последними зародышевых клеток. Если присутствие эндогенного вируса в геноме всех клеток организма полезно хозяину, он приобретает селективное преимущество и становится родоначальником популяции, все особи которой содержат данный вирус. В чем заключается это преимущество, далеко не всегда ясно.

В случае эндогенного вируса кур показано, что он уменьшает вероятность гибели животных от экзогенной ретровирусной инфекции. Возникновение нового эндогенного ретровируса — сравнительно редкое эволюционное событие в истории данного вида. Эндогенные вирусы обнаружены у многих видов млекопитающих и птиц (мышь, крыса, кошка, свинья, приматы, включая человека, куры и другие птицы), а также у дрозофилы. У человека обнаружены дефектные эндогенные провирусы. По-видимому, эндогенные ретровирусы имеются у всех многоклеточных животных. В процессе эволюции животного мира должны были сложиться защитные механизмы, ограничивающие неконтролируемое размножение собственного эндогенного вируса. И действительно, некоторые эндогенные вирусы вообще не могут проникать в клетки своего вида (ксенотропные вирусы) или плохо размножаются в клетках данной особи и гораздо лучше в клетках других особей данного вида (эотропные вирусы).

Описаны также амфотропные вирусы, объединяющие свойства тех и других. Вследствие своих особенностей эндогенные вирусы ограничены одним видом животного и эволюционируют вместе с ним. Накопление мутаций в вирусном геноме приводит к существованию в клетке дефектных провирусов, частично или полностью не способных осуществлять вирусоспецифические функции, поэтому эндогенные

вирусы лишь изредка существуют в форме полного провируса. Чаще клеточный геном служит «кладбищем» внедрившихся, но не сохранивших свою функциональную активность ретровирусных генов. Действительно, около 0,3 % ДНК мышинных клеток имеет ретровирусное происхождение.

Твердо доказана роль экзогенных ретровирусов в этиологии лейкозов кур, мышей, кошек, обезьян, крупного рогатого скота, а также при **Т-клеточном лейкозе взрослых** у человека [20]. Экзогенные ретровирусы кур являются возбудителями лимфоидного лейкоза кур. Они очень широко распространены в птицеводческих хозяйствах и причиняют им серьезный ущерб. Лимфоидный лейкоз кур имеет длительный (несколько месяцев) латентный период и возникает лишь у небольшой части зараженных птиц. Среди ретровирусов птиц имеются также высокоонкогенные возбудители, вызывающие опухоли через 3–20 дней после заражения практически у 100 % животных. Это вирус саркомы Рауса и другие вирусы сарком, вирус рака почки, миелобластоза, эритробластоза и миелоцитоматоза. Вирусы сарком способны вызывать очаги опухолевого роста на хорион-аллантаической оболочке куриного эмбриона.

Наряду с ретровирусами птиц вирусы мышей относятся к числу наиболее изученных. Известно много вариантов вирусов лейкоза мышей, которые вызывают лимфоидный лейкоз (вирусы лейкоза Гросса, Молони, Мазуренко и др.). Среди ретровирусов мышей много высокоонкогенных представителей. Это несколько вариантов вируса саркомы мышей (Молони, Харви, Кирстен, Газдар и др.), а также возбудители острого лейкоза с коротким инкубационным периодом (1–2 нед.): вирусы эритробластоза Раушера и Френд, вирус лимфоидного лейкоза Абельсона и др. Сходная ситуация наблюдается с ретровирусами кошек. Известно несколько вариантов вирусов лимфоидного лейкоза с длинным латентным периодом и несколько вариантов высокоонкогенных вирусов сарком кошек. У обезьян (гиббонов) обнаружен вирус лимфоидного лейкоза, а также высокоонкогенный вирус саркомы шерстистых обезьян.

Поскольку большинство известных ретровирусов обладает опухолеродными свойствами, стало казаться, что нормальные клетки, содержащие эндогенные ретровирусы, как бы «заминированы» вирусным онкогенным фактором, который должен быть первичен по отношению к другим пусковым факторам, вызывающим канцерогенез (химические канцерогены, радиация). Это выглядело как полное торжество унитарной гипотезы вирусной этиологии опухолей («**все опухоли вызываются вирусами**»). Несмотря на кажущуюся очевидность, **эта идеология была вскоре пересмотрена** благодаря дальнейшим успехам онковирусологии.

Следующий этап онковирусологии (1970–1980 гг.) ознаменовался значительным прорывом в понимании механизма вирусного канцерогенеза. В геноме ДНК- и РНК-содержащих вирусов были найдены специальные гены — **онкогены**, белковый продукт которых отвечает за превращение нормальной клетки в опухолевую. Уже в 1960-х годах было показано, что потенциальная способность опухолеродного вируса образовывать инфекционное потомство не нужна для трансформирующего и опухолеродного действия вирусов SV40 и полиомы; достаточно abortивной инфекции, при которой синтезируется «ранний» белок вируса — Т-антиген. Стало ясно, что в геноме онкогенных вирусов должны быть гены (онкогены), ответственные за его опухолеродное действие.

В 1970 г. первый вирусный онкоген был идентифицирован у вируса саркомы Рауса [25]. Этот онкоген был обозначен как *src*-ген. Позже были обнаружены онкогены других опухолеродных ретровирусов (*abl*, *myc*, *ras*, *sis*, *mos*

и др.) [20]. Были также идентифицированы онкогены ДНК-содержащих вирусов (полиома-, папиллома-, адено- и герпесвирусов) [26]. **Сейчас известно более 30 вирусных онкогенов.** Их продукты разнообразны как по молекулярной массе, так и по функции: тирозинкиназы, белки, связывающие гуанозинтрифосфат, факторы роста, факторы транскрипции и трансляции, факторы, связывающие клеточные регуляторные белки, белки с неизвестными функциями.

Казалось бы, как успешнейшая работа по механизму вирусного канцерогенеза может негативно повлиять на судьбу унитарной вирусной гипотезы опухолей? К 1972 г. стали известны экспериментальные данные, которые привели к появлению гипотезы о клеточном происхождении вирусных онкогенов.

Геномы вирусов лимфоидного лейкоза кур, мышей и кошек содержат три обычных (структурных) ретровирусных гена (*gag*, *pol*, *env*) [20]: ген *gag* отвечает за синтез внутренних белков вириона; ген *pol* кодирует вирусные ферменты; ген *env* кодирует белки оболочки вириона. Геномы высокоонкогенных вирусов содержат онкогены, наличие которых объясняет патогенность этих вирусов. Обычно онкогены расположены в ретровирусном геноме так, что замещают или повреждают один или более структурных вирусных генов. Известно лишь одно исключение — недефектный вирус саркомы Рауса, у которого наличие онкогена не повредило другие вирусные гены. Онкогены могут локализоваться в любой части генома. Общим принципом является сохранность концов вирионной РНК, приводящая к наличию правильно организованных длинных концевых повторов (LTR) нуклеотидных последовательностей в ДНК-провирусе и сохранению сигналов, необходимых для транскрипции, трансляции и упаковки образующейся вирусной РНК в вирионы. Если гены *gag*, *pol*, *env* абсолютно необходимы для репродукции вируса, то ген *onc* (онкоген) не нужен для его размножения и может легко утрачиваться.

Популяция любого высокоонкогенного ретровируса, содержащего онкоген, состоит из двух типов вирионов: 1) дефектные вирионы, геном которых содержит онкоген, замещающий вирусные гены; 2) вирус-помощник, который содержит нормальный ретровирусный геном (вирус лимфоидного лейкоза). Для размножения такого ретровируса необходима смешанная инфекция клетки обоими типами вирионов. Вирус-помощник предоставляет продукты вирусных генов, необходимые для упаковки дефектного генома в вирион. Из популяции высокоонкогенного вируса можно выделить вирус-помощник и получить его популяцию, свободную от дефектных высокоонкогенных вирионов. Выделить в чистом виде последние из смешанной популяции вирусологическими методами невозможно. Чистую популяцию дефектных вирионов можно, однако, получить с использованием методов генетической инженерии.

Анализируя данные, накопившиеся к 1972 г., автор настоящей статьи пришел к выводу, что **вирусные онкогены имеют клеточное происхождение и возникают в результате случайного включения клеточных генов, имеющих отношение к регуляции пролиферации клеток, в вирусный геном** [27]. В случае ретровирусов речь идет о недавнем захвате клеточных генов. Хотя высокоонкогенные ретровирусы животных выделены из спонтанных опухолей и лейкозов, они встречаются крайне редко, т. к. не способны сохраняться в естественных условиях из-за своей высокой патогенности. Предполагается, что такие вирусы изредка возникают из низкоонкогенных возбудителей лимфоидного лейкоза, которые в результате рекомбинационных событий захватывают из клетки нормальные

гены, имеющие отношение к регуляции клеточного деления. В составе вирусного генома такие гены экспрессируются под контролем сильных вирусных промоторов и не подчиняются клеточным регуляторным механизмам. Их нерегулируемая экспрессия ведет к неопластической трансформации клетки. При пассажах через организм чувствительных животных в лаборатории отбираются наиболее онкогенные варианты вируса с соответствующими мутационными изменениями в захваченном клеточном гене, который превращается в вирусный онкоген *v-onc*. По гипотезе клеточного происхождения вирусных онкогенов, эндогенные ретровирусы не должны содержать онкогены в своем геноме, поскольку наличие онкогена несовместимо с их мирным сосуществованием с клеткой.

В 1976 г. **идея клеточного происхождения ретровирусных онкогенов** получила полное экспериментальное подтверждение в работах D. Stehelin, H. E. Varmus, J. M. Bishop, P. K. Vogt [28], A. E. Frankel, P. Fischinger [29], выполненных в американских лабораториях. В 1989 г. H. E. Varmus и J. M. Bishop за эту работу получили Нобелевскую премию. Вскоре было показано клеточное происхождение и других онкогенов, обнаруженных в геномах высокоонкогенных ретровирусов, и отсутствие онкогенов в геноме эндогенных ретровирусов [20]. Высокоонкогенные ретровирусы, не имея большого практического значения как возбудители опухолей в природе, оказались незаменимыми моделями для изучения механизма канцерогенеза, идентификации онкогенов и поиска их клеточных предшественников. Нормальные клеточные гены, которые в составе вирусного генома превращаются в *v-onc*, обозначаются как **протоонкогены**. Следует отметить, что в результате мутаций, включая перестройку хромосом, протоонкогены могут превращаться в онкогены и без участия вируса. В этом случае говорят о клеточных онкогенах (*c-onc*). На основе изучения вирусных онкогенов разработаны подходы к выявлению клеточных онкогенов в невирусных опухолях [30].

Канцерогенез, вызываемый **низкоонкогенными (лейкемогенными) вирусами**, отличается по своему механизму от канцерогенеза, вызываемого **высокоонкогенными ретровирусами** [20, 30]. Вирусы лимфоидного лейкоза кур, мышей, кошек, обезьян не имеют онкогенов и должны создать их, по крайней мере, в некоторых зараженных клетках. На модели вируса лимфоидного лейкоза птиц было показано, что вызываемый этим вирусом лейкоз моноклонален, т. е. возникает из одной клетки, которая приобрела опухолевые свойства. В ДНК лейкемических клеток был выявлен ретровирусный ДНК-провирус, встроенный в клеточный геном рядом с протоонкогеном *myc*. Экспрессия этого гена осуществлялась с помощью сильного вирусного промотора, локализованного в длинных концевых повторах ретровирусного провируса, и в 50–100 раз превышала уровень его обычной экспрессии. При такой регуляции протоонкоген *myc* превращается в клеточный онкоген *c-myc*, ответственный за появление опухолевого фенотипа исходной клетки и ее потомства. Поскольку встройка провируса носит случайный характер и достаточно редка, этот феномен объясняет низкую онкогенность, моноклональность и длительный латентный период заболевания.

Особняком стоит род **дельта-ретровирусов**, к которому относятся два вируса Т-клеточного лейкоза человека (ВТЛЧ-1 и ВТЛЧ-2) и вирус бычьего лейкоза, вызывающий лимфоцитоз и В-клеточный лейкоз у крупного рогатого скота. Вирусы этой группы не имеют онкогена клеточного происхождения. В дополнение к обычным ретровирусным генам (*gag*, *pol*, *env*) эти вирусы имеют 4-й ген *X*, белок которого резко стимулирует транскрипцию ДНК-провируса этих

агентов. Возможно, с функцией этого белка (pX) связана активация определенных клеточных генов, превращающихся в онкогены.

Особое место среди ретровирусов занимает вирус рака молочной железы (ВРМЖ) мышей — один из немногих ретровирусов, вызывающих не лейкозы и саркомы, а эпителиальные опухоли. Известны эндогенные и экзогенные варианты этого вируса, отличающиеся по онкогенности. Эндогенный ВРМЖ встречается у всех мышей и является низкоонкогенным. Экзогенные вирусы обнаружены у некоторых линий мышей (СЗН, А, GR), которые являются высокоракочными: у 100 % самок, имевших беременность, возникает рак молочных желез. Вирус распространяется с молоком, а также генетическим путем. В геноме этого вируса не обнаружены онкогены. Механизм его опухолеродного действия неясен. Ведется поиск аналогичного вируса у человека.

Исключительно важным успехом в генетике опухолей явилось открытие клеточных **генов-супрессоров**, подавляющих опухолевое перерождение нормальной клетки [31]. Это гены, которые участвуют в негативном контроле клеточной пролиферации или индуцируют апоптоз в клетках с повреждением ДНК. Сейчас известно около двух десятков таких генов. Наиболее изучены гены белка p53, Rb (ген ретинобластомы), VHL (ген, связанный с синдромом Гиппеля—Линдау). В открытии белка p53 особую роль сыграло изучение опухолеродного вируса SV40: этот белок был обнаружен по способности связываться с Т-антигеном этого вируса, и его исходное название было «клеточный Т-антиген».

Появление в клетке функционирующего онкогена и инактивацию генов-супрессоров можно рассматривать как основной механизм превращения нормальной клетки в опухолевую. Опухолеродные вирусы в этом случае должны рассматриваться как частный конкретный фактор внесения в клетку онкогенов и инактивации генов-супрессоров, т. е. как один из возможных этиологических факторов канцерогенеза наряду со спонтанным и индуцированным мутагенезом, вызванным различными канцерогенными факторами, такими как химические канцерогены и радиация. Таким образом, развитие онковирусологии привело к отмене представления о всеобщей роли вирусов в этиологии опухолевых болезней. Онковирусология, однако, оказав огромную услугу молекулярной биологии и генетике рака, не потеряла своего значения для онкологии.

В течение длительного времени не удавалось установить вирусную этиологию каких-либо опухолевых заболеваний человека. В конце 1970-х годов была закрыта американская программа Virus Cancer Program, которая в первую очередь была направлена на открытие вирусной этиологии опухолей человека. И именно тогда, когда стало ясно, что **вирусы не могут быть единственной причиной опухолей**, появилась информация об их важной роли в онкологии.

В 80–90-х годах XX в. накопились данные об онкогенных инфекциях человека, ведущих к возникновению не только доброкачественных, но и злокачественных опухолей [32]: 1) папилломавирусные инфекции ведут к развитию доброкачественных опухолей кожи и слизистых оболочек (папилломы, кондиломы), а также злокачественных опухолей (рака) аногенитальной области, кожи и других органов; особенно важна роль папилломавирусов как возбудителей рака шейки матки — одного из самых распространенных онкологических заболеваний у женщин [33]; 2) инфекция, вызываемая вирусом гепатита В, ведет к хроническому гепатитам и является главной причиной рака печени; 3) вирус гепатита С вызывает инфекцию, ведущую к хроническому гепатиту и гепатоме; 4) вирус Т-клеточного лейкоза взрослых вызывает инфекцию, иногда заканчивающуюся развитием лейкоза;

5) ретровирус (лентивирус) иммунодефицита человека является причиной смертельного СПИДа, на фоне которого развиваются злокачественные опухоли (в первую очередь, лимфомы и саркома Капоши); 6) герпесвирус Эпштейна—Барр вызывает инфекцию, распространенную во всем мире и ведущую у части зараженных лиц к неопухоловому заболеванию — инфекционному мононуклеозу; однако в определенных районах Африки и Юго-Восточной Азии эта инфекция вызывает развитие злокачественной лимфомы Беркитта, назофарингеального рака и может рассматриваться как онкогенная инфекция; 7) герпесвирус саркомы Капоши (герпесвирус человека 8-го типа) приводит к инфекции, которая у людей с подавленным клеточным иммунитетом может спровоцировать развитие множественных опухолевых узлов в коже; 8) вирус контагиозного моллюска, относящийся к семейству вирусов оспы (поксвирусов), вызывает инфекцию, ведущую к появлению специфических доброкачественных кожных опухолей человека.

По основным закономерностям распространения онкогенные инфекции принципиально не отличаются от обычных неонкогенных инфекций. Подходы к их диагностике и профилактике также не имеют какой-либо онкологической специфики. Получены эффективные вакцины против вируса гепатита В, способные снизить частоту заболеваемости раком печени. Разработана вакцина против папилломавирусной инфекции, способная повлиять на заболеваемость женщин раком шейки матки. Проходят испытания вакцины против опухолевых заболеваний сельскохозяйственных животных.

Необходимо отметить, что основным инфекционным источником при онкогенных инфекциях являются здоровые вирусоносители, а не больные, страдающие опухолевыми заболеваниями в результате онкогенной инфекции. За редким исключением, возникшие опухоли не содержат вирус в инфекционной форме, способный заразить здоровых лиц в результате контакта с онкологическим больным и передать им опухолевое заболевание, поэтому существование онкогенных инфекций не отменяет формулу: «больные злокачественными опухолями незаразны».

Подведем итоги по эволюции унитарной вирусной гипотезы этиологии опухолей, признающей вирусы главным (если не единственным) этиопатогенетическим фактором опухолевых болезней. Ее возникновение относится к началу и первой половине XX в., когда были сформулированы основные идеи этой гипотезы и открыты первые опухолеродные вирусы. Максимального признания (расцвета) гипотеза достигла в 1950–1970-х годах, когда было открыто большое число ДНК- и РНК-содержащих опухолеродных вирусов, показана возможность интеграции между вирусными и клеточными геномами, а главное, были найдены эндогенные ретровирусы как нормальная составная часть клеток (ретровирусные провирусы интегрированы в клеточные геномы).

Дальнейшее изучение механизмов вирусного канцерогенеза привело к открытию вирусных онкогенов — генов, непосредственно отвечающих за превращение нормальной клетки в опухолевую. Было показано, что эндогенные ретровирусы не содержат онкогенов, а онкогены высокоонкогенных ретровирусов имеют клеточное происхождение; следовательно, в клетках есть протоонкогены, которые были открыты благодаря онковирусологическим исследованиям. Далее было показано, что протоонкогены могут превращаться в онкогены и без участия вирусов. Таким образом, онковирусологические исследования сыграли выдающуюся роль в открытии клеточных онкогенов, отвечающих за опухолевую трансформацию клетки, а затем и генов-супрессоров (антионкогенов). Открытие этих генов позволяет считать,

что причиной опухолевых заболеваний могут быть различные факторы, нарушающие регуляцию клеточного деления и дифференцировки. Другими словами, основные идеи об этиологии опухолей, высказанные в XX в. (спонтанные мутации, химические канцерогены, радиация, вирусы), оказались верными. Имеющиеся данные указывают на полиэтиологическую природу опухолевого роста и на роль весьма разнообразных генетических нарушений в опухолевой трансформации клетки.

Можно считать, что в своем развитии онковирусологические исследования сначала привели унитарную вирусную гипотезу этиологии опухолей к расцвету, а затем представили фундаментальные доказательства того, что вирусы — лишь один из этиологических факторов опухолевого роста. Поскольку унитарная вирусная гипотеза была мощным двигателем исследований по механизму вирусного канцерогенеза, такой итог можно рассматривать как «самоубийство» этой гипотезы, что и отражено в заглавии статьи. Естественно,

но, что отмена унитарной вирусной гипотезы и признание того, что опухоли могут иметь как вирусную, так и невирусную этиологию, не уменьшают важности дальнейших онковирусологических исследований.

Роль вирусов в этиологии определенных опухолевых заболеваний животных и человека давно уже не вызывает сомнения. Их значение как возбудителей опухолей неодинаково у разных видов животных. Так, у некоторых короткоживущих видов (куры, мыши) большинство опухолей вызывается вирусами. По-видимому, у человека и приматов доминируют опухоли невирусной этиологии. Задачей же современной онковирусологии, наряду с продолжением исследований по механизму вирусного канцерогенеза, является установление возможной вирусной этиологии той или иной конкретной опухолевой болезни человека и сельскохозяйственных животных, разработка методов ее специфической диагностики и профилактики, выяснение путей распространения возбудителя в естественных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивановский Д.И. О мозаичной болезни табака. Бюлл. Санкт-Петербургской императорской академии наук 1892; 35: 67–70.
2. Beijerinck M. W. Ueber ein Contagium vivum fluidum als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabaksblätter. Verhandl. Koninkl. Akad. Wetenschappen te Amsterdam 1898; 6: 3–22.
3. Borrel A. Epitheliomes infectieuses et epitheliomas. Ann. Inst. Pasteur 1903; 17: 81–122.
4. Ellerman V., Bang O. Experimentelle leukaemie bei hühnern. Centralbl. f. Bact. Abt. I 1908; 46: 595–609.
5. Rous P. A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from the tumor cells. J. Exp. Med. 1911; 13: 397–9.
6. Gross L. Oncogenic Viruses. — Oxford: Pergamon Press, 1970.
7. Зильбер Л.А. Вирусная теория происхождения опухолей. — М.: Медгиз, 1946.
8. Зильбер Л.А. Вирусно-генетическая теория возникновения опухолей. — М.: Наука, 1968.
9. Andrews C. H. Latent virus infections and their possible relevance to the cancer problem: President's address. Proc. Royal Soc. Med. 1939; 33: 75–86.
10. Duran-Reynals F. Virus-induced tumors and the virus theory the cancer. In: The Physiopathology of Cancer / P. B. Hoerber (ed.). — NY: Harper Bros. Inc., 1953: 98–337.
11. Huebner R. J., Todaro G. J. Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer. Proc. Nat. Acad. Sci. 1969; 64: 1087–94.
12. Зильбер Л.А., Крюкова И.Н. Геморрагическая болезнь крыс, вызванная вирусом саркомы Рауса. Вopr. вирусол. 1957; 2: 239–43.
13. Свет-Молдавский Г. Я., Скорикова А.С. Образование множественных кист у белых крыс после введения им вируса саркомы Рауса в эмбриональном периоде. Вopr. онкол. 1957; 3: 673–7.
14. Кравченко А.Т., Альтштейн А.Д. Проблема онкологической безопасности живых вирусных вакцин. Вopr. вирусол. 1965; 10(5): 527–32.
15. Trentin J. J., Yabe Y., Taylor G. The quest for human cancer viruses. Science 1962; 137: 835–49.
16. Epstein M., Achong B., Barr Y. Morphological and biological studies on a virus in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. J. Exp. Med. 1965; 121: 761–70.
17. Sambrook J., Westphal H., Srinivasan P. R., Dulbecco R. The integrated state of viral DNA in SV40-transformed cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1968; 60: 1288–95.
18. Temin H. M., Mizutani S. RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. Nature 1970; 226: 1211–3.
19. Baltimore C. RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses. Nature 1970; 226: 1209–22.
20. Weiss R., Teich N., Varmus H., Coffin J. RNA tumor viruses. — CSHL, USA, 1982.
21. Bentvelzen P., Daams J. H. Hereditary infections with mammary tumor viruses in mice. J. Nat. Cancer Inst. 1969; 43: 1025–35.
22. Huebner R. J., Kelloff G. J., Sarma P. S. et al. Group-specific antigen expression during embryogenesis of the genome of the C type RNA tumor virus: implication for ontogenesis and oncogenesis. Proc. Nat. Acad. Sci. 1970; 67: 366–76.
23. Abelev G. I., Elgort D. A. Group-specific antigen of murine leukemia viruses in mice of low leukemic strains. Inter. J. Cancer 1970; 6: 145–52.
24. Rosenthal P. N., Robinson H. L., Robinson W. S. et al. DNA in uninfected and virus-infected cells complementary to avian tumor virus RNA. Proc. Nat. Acad. Sci. 1971; 68: 2336–40.
25. Martin G. S. Rous sarcoma virus: a function required for the maintenance of the transformed state. Nature 1970; 227: 1021–3.
26. Татосян А. Г. Онкогены. В кн.: Канцерогенез / Под ред. Д. Г. Заридзе. — М.: Медицина, 2004. — С. 103–24.
27. Альтштейн А.Д. Онкогены опухолевых вирусов. Журн. Всесоюз. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева 1973; 18(6): 631–6.
28. Stehelin D., Varmus H. E., Bishop J. M., Vogt P. K. DNA related to transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. Nature 1976; 260: 170–3.
29. Frankel A. E., Fischinger P. J. Nucleotide sequences in mouse DNA and RNA specific for Moloney sarcoma virus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1976; 73: 3705–9.
30. Weinberg R. A. The biology of cancer. — LLC, NY, USA: Garland Science, Taylor & Francis Group, 2007: 91–117.
31. Копнин Б. П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены. В кн.: Канцерогенез / Под ред. Д. Г. Заридзе. — М.: Медицина, 2004. — С. 125–56.
32. Альтштейн А.Д. Общая характеристика онкогенных вирусов. В кн.: Канцерогенез / Под ред. Д. Г. Заридзе. — М.: Медицина, 2004. — С. 251–87.
33. Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nat. Rev. Cancer 2002; 2(5): 342–50.

Белки теплового шока: биологические функции и перспективы применения

К. Д. Никитин

Heat shock proteins: biological functions and perspectives for application

К. Д. Никитин

Keywords:

heat shock proteins, immunotherapy, non-Hodgkin lymphoma, chronic myeloid leukemia.

N. N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow

Контакты: Kirill.d.nikitin@mail.ru

Принято в печать: 15 апреля 2008 г.

Ключевые слова

белки теплового шока, иммунотерапия, неходжкинская лимфома, хронический миелоидный лейкоз.

ВВЕДЕНИЕ

Как и многие другие открытия, белки теплового шока были обнаружены во многом благодаря случайности, когда однажды вечером в одной из итальянских лабораторий кто-то случайно установил слишком высокую температуру в инкубаторе с плодовыми мушками *Drosophila*. На следующий день при исследовании хромосом из слюнных желез мушек были выявлены интересные изменения, свидетельствующие о необычном характере экспрессии генов [1]. Так было положено начало изучению группы белков, названных белками теплового шока (БТШ).

Название отражает некоторые свойства белков теплового шока, но далеко не все. Во-первых, БТШ синтезируются в некотором количестве постоянно в любых ядерных клетках, во множестве внутриклеточных структур (в цитоплазме, ядре, эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях и хлоропластах) у всех многоклеточных организмов, начиная с самых примитивных, как у растений, так и у животных, вне зависимости от воздействия стрессовых факторов [2]. Даже в покоящихся клетках до 2 % всех белков могут составлять представители этого семейства. Во-вторых, повышение внутриклеточного синтеза БТШ происходит отнюдь не только на тепловой шок, но и на любое стрессовое воздействие: внешнее (УФ, тепловой шок, тяжелые металлы, аминокислоты), патологическое (вирусные, бактериальные и паразитарные инфекции, лихорадка, воспаление,

злокачественная трансформация, аутоиммунные реакции) или даже физиологическое (ростовые факторы, клеточная дифференциация, гормональная стимуляция, тканевый рост) [3]. Синтез БТШ является универсальным неспецифическим ответом клетки на стресс, и, по современным данным, нет такого вида клеточного стресса, при котором не происходило бы синтеза БТШ [4]. В некоторых случаях содержание БТШ в клетках, подвергнутых шоку, может достигать 20 % всех растворимых цитоплазматических белков.

Выделяют **четыре основных семейства БТШ**: 1) *БТШ90* (HSP90) — группа высокомолекулярных БТШ, имеющих у млекопитающих молекулярную массу 90 кДа (у дрожжей — 104 кДа, у дрозофил — 83 кДа), наиболее изученным представителем семейства является Grp94 (от англ. *glucose-regulated protein* — белок, регулируемый глюкозой), или gr96 (от англ. *glycoprotein* — гликопротеид); 2) *БТШ70* (HSP70) — семейство белков с молекулярной массой около 70 кДа, наиболее широко распространенные и лучше всего изученные БТШ млекопитающих; 3) *малые БТШ*, молекулярная масса которых варьирует от 15 до 30 кДа [5]; 4) *высокомолекулярные БТШ*, представителем которых является gr110. Несмотря на общую задачу всех этих белков (обеспечение выживания клетки в условиях стресса), функции и тканеспецифичность БТШ варьируют от группы к группе как в нормальных условиях, так и при стрессе.

Функции белков теплового шока

Функции БТШ невероятно многообразны и, несмотря на 30-летнюю историю интенсивного изучения, до конца не расшифрованы.

Известно, что БТШ являются универсальными молекулярными шаперонами (от англ. *chaperon* — сопровождать), т. е. белками, связывающимися с другими молекулами и в таком комплексе выполняющими определенные функции [6].

Основной функцией БТШ считается связывание новообразующихся белков и контроль корректного формирования их третичной структуры (фолдинга): связываясь с растущими пептидными цепями еще на рибосоме, БТШ предотвращают их неспецифическую агрегацию, предохраняют их от преждевременного протеолитического распада и способствуют правильному и своевременному сворачиванию полипептида в трехмерную структуру. БТШ также связывают мутантные белки или белки, чья третичная структура уже сформировалась неверно, и защищают клетку от воздействия таких белков. Некоторые БТШ (представители семейства HSP70) обладают свойствами фермента, исправляющего неправильно сформировавшиеся белки за счет энергии АТФ [7, 8].

При воздействии любого стрессорного фактора из перечисленных выше активность БТШ резко возрастает. **БТШ в клетке, подвергнутой стрессу, интенсивно связываются с денатурирующими белками и поддерживают поврежденные белки в состоянии, способном к последующему восстановлению** [9, 10]. В норме БТШ присутствуют в цитоплазме в комплексе со специальным транскрипционным фактором HSF (от англ. *heat shock factor* — фактор теплового шока). При стрессорном воздействии HSF отделяется от БТШ, образует тримеры, приобретает ДНК-связывающую активность и накапливается в ядре, где активирует транскрипцию дополнительных шаперонов и подавляет транскрипцию других генов. По окончании стрессорного воздействия освобожденные БТШ связывают HSF и переходят в исходное состояние.

Далее, **БТШ участвуют в процессах транспортировки белковых молекул через мембраны митохондрий и ядерную оболочку** [11], в процессинге (деградации) белков до антигенных пептидов и связывании процессированных пептидов с молекулами МНС I класса [12, 13].

БТШ участвуют в защите клеток от стресс-индуцируемого апоптоза, блокируя пути его активации и стабилизируя клеточные структуры [14]. Известно, что опухолевые клетки синтезируют повышенное количество БТШ [15], что предохраняет их от запуска апоптоза в ответ на стрессорные воздействия [16], а снижение синтеза БТШ в опухолях облегчает индукцию апоптоза и понижает их способность к прогрессированию [17–19].

Предполагается участие БТШ также в процессах некроза и очищения организма от некротизированных клеток. БТШ являются широко распространенными растворимыми внутриклеточными белками, могут служить надежными вестниками некроза, участвовать в межклеточном сигналировании. В случае некроза клетки БТШ «сообщают» иммунной системе о необходимости утилизации некротических масс: высвобождение внутриклеточных БТШ происходит только в случае гибели клетки путем некроза, но не апоптоза [20].

При столь разнообразных функциях БТШ нет ничего удивительного, что они являются одними из самых консервативных и филогенетически древних белков организма: степень гомологии между БТШ эукариот и прокариот составляет более

50 %, а некоторые домены полностью идентичны [21]; структурное сходство БТШ человека и мыши достигает 95 %.

Иммуногенность белков теплового шока

Более 60 лет назад в экспериментах на животных было показано, что иммунизация сингенных мышей опухолевыми клетками делает их более устойчивыми к последующему повторному заражению этими клетками. Эти и другие эксперименты позволили сформулировать **два важнейших принципа онкоиммунологии:** 1) опухоли иммуногенны и 2) иммунитет против данной конкретной опухоли строго специфичен, т. е. каждая опухоль высоко индивидуальна по своему антигенному составу. Идентифицированы многочисленные молекулы, как мембранные, так и локализованные в клеточной цитоплазме, более или менее специфичные для различных видов новообразований [22]. Многие из них в настоящее время активно используются в клинической практике для диагностики злокачественных новообразований и определения их прогноза (α -фетопротеин, PSA, мембранные антигены лейкоцитов); попытки применения этих антигенов в качестве противоопухолевых вакцин пока что не увенчались успехом.

Одним из способов поиска опухоль-ассоциированных антигенов является разделение опухолевых гомогенатов на белковые фракции различными хроматографическими методами и иммунизация этими фракциями животных. Фракции, вызывающие протективный иммунитет против опухолевых клеток, из которых они получены, далее разделяются на еще более чистые составляющие и анализируются сходным путем до тех пор, пока не будет получен непосредственно тот белок, который и вызывает иммунитет. В 1980 г. в университете г. Хайдарабада (Индия) молодой ученый-биохимик Прамод Шривастава (Pranod Srivastava) исследовал иммуногенность химически индуцированных сарком у грызунов, используя описанный выше подход. В итоге был идентифицирован ряд высокоиммуногенных молекул, определенных как белки теплового шока gp96. Опубликованная в 1984 г. работа П. Шриваставы стала первым описанием иммуногенных свойств у БТШ.

Иммуногенность БТШ характеризуется рядом уникальных особенностей. Известно, что БТШ не специфичны для каких-либо видов опухолей или даже для злокачественных новообразований вообще — они могут быть выделены из почти всех нормальных тканей организма. В то же время иммунитет, вызываемый БТШ, строго специфичен и направлен только против той одной-единственной опухоли, из ткани которой они были выделены: БТШ, выделенные из опухоли А, вызывают иммунитет только против опухоли А, но не против опухоли Б, и наоборот. Долгое время механизм, посредством которого БТШ вызывают столь высокоспецифичный иммунитет, оставался неясным.

Предполагалось, что специфичность БТШ в зависимости от опухоли связана с тканевой гетерогенностью БТШ, т. е. их соматическим полиморфизмом: БТШ одного и того же организма отличаются от ткани к ткани, от нормальной ткани к опухолевой, от опухоли к опухоли. Однако изучение последовательности комплементарных ДНК как опухолевых, так и нормальных БТШ не подтвердило эту гипотезу [23].

Поскольку препараты БТШ, использовавшиеся для определения их иммуногенности, были одинаковы по всем критериям, предположили, что за специфическую иммуногенность разных образцов БТШ отвечает не собственно БТШ, а некие вещества, ассоциированные с БТШ, но не определяемые стандартными методами [24]. Это предположение получило неожиданное подтверждение. Было обнаружено большое количество пептидов, ассоциированных с

Hsp70 [25], а удаление их из препаратов Hsp70 лишило последних иммуногенных свойств [26]. Позднее была показана способность БТШ связывать фрагменты практически любых белков, как эндогенных, так и экзогенных, как природных, так и модельных. Получено множество убедительных доказательств того, что собственно иммунитет вызывают антигенные пептиды, комплексируемые с белками теплового шока.

Так, D. Arnold и соавт. [27] показали, что иммунизация белком gp96, полученным из клеток, трансфецированных геном β -галактозидазы, вызывает цитотоксический иммунитет против определенного эпитопа β -галактозидазы; аналогично иммунизация белком gp96 из клеток, экспрессирующих определенные антигены малого комплекса гистосовместимости, вызывает цитотоксический иммунитет против этих антигенов. T. J. Nieland и соавт. [28] идентифицировали вирусный эпитоп, ассоциированный с gp96, который был выделен из клеток, инфицированных этим вирусом; данный эпитоп не определялся с БТШ, выделенными из неинфицированных данным вирусом клеток. N. E. Blachere и соавт. [29] воспроизвели *in vitro* комплексы gp96-пептид и Hsp70-пептид и показали на примере широкого спектра пептидов, что БТШ и пептиды сами по себе не вызывают иммунного ответа, но их комплексы (БТШ-пептидные комплексы — БТШ-ПК) обуславливают пролиферацию цитотоксических CD8(+) -лимфоцитов. Сходные результаты были получены и в других исследованиях [30–32]. Способность БТШ к связыванию пептидов также подтверждается структурными исследованиями, в которых было показано наличие пептидсвязывающих карманов в молекулах Hsp70 и gp96 [33–35]. Предполагается, что наличие пептидсвязывающих структур в молекулах БТШ важно как для выполнения ими шаперонных внутриклеточных функций, так и для участия в процессах межклеточного взаимодействия при иммунных реакциях [36]. В то же время, несмотря на значительное число исследований, структурные требования для связывания пептидов с БТШ остаются не до конца понятными, поскольку первичные аминокислотные последовательности пептидов, элюированных из комплексов с БТШ, весьма различны.

Принципиально важным представляется тот факт, что из комплексов БТШ с пептидами, полученных из опухолевых клеток, выделяются и опухолевые антигены: Melan-A/MART-1 для меланомы, SEA и EpCAM в случае колоректального рака и некоторые другие [37–39].

Каков механизм развития иммунного ответа на БТШ-ПК? Показано, что макрофаги, фибробласты и другие антигенпрезентирующие клетки (АПК) захватывают БТШ-ПК, выделяют из них непосредственно антигенные пептиды и презентуют их на своей поверхности эффекторным клеткам иммунной системы в комплексе с молекулами МНС I и II классов [40–44]. АПК, активированные БТШ-ПК, инициируют клеточный и гуморальный иммунные ответы против антигенов опухолей, из которых эти БТШ-ПК выделены. Этот процесс «репрезентации» (т. е. выделения антигенных детерминант из комплексов с одними молекулами и презентация в комплексах с другими) включает в себя перемещение антигенных пептидов по определенным внутриклеточным структурам и сопровождается также синтезом широкого спектра цитокинов и костимулирующих молекул [45].

На сегодняшний день известно, что взаимодействие БТШ-ПК с АПК осуществляется посредством специфического рецептора (или рецепторов) на поверхности этих клеток. Свидетельства существования рецептора (или рецепторов) БТШ-ПК были получены независимо несколькими группами исследователей [46–49].

Первым из таких рецепторов был идентифицирован CD91, он же рецептор α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ) [50, 51], и взаимодействие БТШ-ПК с этим рецептором на сегодняшний день остается наиболее изученным. Связывание gp96-ПК с CD91 ведет к погружению (интернализации) комплекса в клетку и через последующие внутриклеточные события к презентации антигенного пептида в комплексе с молекулами МНС I и II классов. Моноклональные антитела к CD91 и α_2 -МГ ингибируют иммуногенные свойства gp96-ПК. Кроме того, экспрессия CD91 коррелирует со способностью АПК репрезентировать пептиды из gp96-ПК [52, 53]. В одном из исследований не было получено подтверждения роли CD91 как рецептора БТШ-ПК [54], однако это противоречие позднее было объяснено особенностями использованных экспериментальных методик.

В качестве рецепторов АПК к БТШ рассматриваются также молекулы LOX1 [55], TLR2 и TLR4 [56, 57], CD14 [58]. Возможно, взаимодействие БТШ происходит одновременно с множеством разных рецепторов на поверхности АПК, а разные рецепторы БТШ ответственны за развитие различных иммунных реакций. Например, с помощью CD91 и LOX1 происходит транспорт антигенных пептидов, находящихся в комплексе с БТШ, через межклеточное пространство и клеточные мембраны, а при связывании БТШ-ПК с CD14, TLR2 или TLR4 не происходит их интернализации, но запускается каскад внутриклеточного сигнализирования, в результате которого транскрипционный фактор NF- κ B перемещается в ядро и происходит синтез клеткой широкого спектра провоспалительных цитокинов и костимулирующих молекул, способствующих дальнейшему развитию иммунного ответа [59].

Другие детали механизмов активации иммунного ответа при иммунизации БТШ — природа структур макрофагов, участвующих в захвате БТШ-ПК, механизмы транспортировки БТШ-ПК в эндоплазматический ретикулум, зависимость этих процессов от протеасом и, наконец, дальнейшая судьба самого gp96 — по-прежнему остаются неясными. Также остаются не изученными иммуногенность и механизмы действия других БТШ-ПК, хотя в этом направлении ведутся интенсивные исследования.

Таким образом, БТШ являются повсеместно распространенными молекулярными шаперонами, выполняющими многочисленные внутриклеточные функции. БТШ образуют комплексы со всеми возможными пептидами, синтезирующимися в клетке, как нормальными, так и чужеродными, мутантными или патологически измененными. В случае гибели клетки, в особенности по некротическому механизму, комплексы БТШ и внутриклеточных пептидов (БТШ-ПК) попадают во внеклеточное пространство и становятся доступными для клеток иммунной системы. На поверхности АПК предполагается наличие нескольких типов специфических рецепторов БТШ-ПК. Одни из них (CD91 и, возможно, LOX-1) опосредуют погружение БТШ-ПК в эндоплазматический ретикулум АПК, где происходит диссоциация БТШ-ПК на БТШ и пептиды. Последние в дальнейшем связываются с молекулами МНС I и, возможно, II классов и репрезентируются на поверхности АПК для распознавания эффекторными клетками иммунной системы — Т-лимфоцитами. Другие рецепторы (предположительно TLR2, TLR4, CD14) связываются с БТШ-ПК, что ведет к запуску каскадов внутриклеточного сигнализирования, к активации АПК и синтезу ими широкого спектра цитокинов, преимущественно провоспалительных. В конечном итоге выход БТШ-ПК во внеклеточное пространство ведет к активации как врожденного (NK-клетки), так и адаптивного (цитотоксические лимфоциты) иммунитета.

Применение белков теплового шока в онкогематологии

Свойства и функции белков теплового шока открывают широкие перспективы для их применения в медицине для производства самых разнообразных вакцин.

В последние годы идентифицировано множество опухолеассоциированных антигенов [52]. Многие из них в настоящее время активно используются в клинической практике для диагностики злокачественных новообразований и определения их прогноза (α -фетопротейн, PSA, мембранные антигены лейкоцитов). Однако попытки применения этих антигенов в качестве противоопухолевых вакцин пока что не увенчались успехом по ряду причин. Общая иммуногенность опухоли определяется огромным числом антигенов, в то время как вклад одного антигена в общую иммуногенность опухоли незначителен. Кроме того, слишком мала вероятность обнаружения одного и того же антигенного пептида в большом количестве различных опухолей.

В то же время **БТШ, выделенные из опухолевых клеток, находятся в комплексе с широким спектром клеточных пептидов и теоретически могут нести в себе все антигены, присущие данной конкретной опухоли, весь ее антигенный репертуар.** Соответственно, становится весьма привлекательной попытка применения противоопухолевых вакцин на основе очищенных БТШ-ПК, в первую очередь аутологичных (когда противоопухолевая вакцина готовится из опухолевой ткани самого больного).

Компания Antigenics Inc. (США) разработала коммерческую форму **аутологичной противоопухолевой вакцины на основе БТШ-ПК**, получившую название Opso-phage. Приготовление вакцины организовано следующим образом: хирургически удаленные метастазы опухоли замораживаются в жидком азоте и отправляются в лабораторию. Желательно получить не менее 3 г для приготовления непосредственно вакцины и, как правило, еще 1–2 г для проведения дополнительных исследований. В лаборатории из полученных образцов выделяются и очищаются БТШ-ПК. После контроля качества вакцина упаковывается и отсылается обратно в клинику.

Первая попытка вакцинации аутологичными БТШ-ПК у людей была проведена S. Janetzki и соавт. [60] на примере небольшой группы различных опухолей. Отмечено клиническое улучшение и активация Т-клеточного противоопухолевого ответа у некоторых больных. Впоследствии проведено значительное количество рандомизированных клинических исследований II–III фазы, включавших больных с самыми разнообразными видами опухолей, однако основное внимание было уделено возможностям лечения меланомы [61, 62], рака почки (опухоли, наиболее чувствительные к иммунотерапии вообще) и колоректального рака (опухоль, экспрессирующая значительное число раково-эмбриональных антигенов).

Опыт применения противоопухолевых вакцин на основе аутологичных БТШ у больных с онкогематологическими заболеваниями ограничен. На сегодняшний день **опубликованы результаты двух клинических исследований I фазы: одно исследование вакцины на основе БТШ-ПК у больных неходжкинскими лимфомами и одно — у больных хроническим миелолейкозом.**

Y. Oki и соавт. [63] исследовали эффективность и безопасность применения аутологичной вакцины на основе gp96, приготовленной из опухолевых образцов больных неходжкинскими лимфомами. Вакцина вводилась внутривенно по 25 мкг еженедельно в течение 4 нед., а затем каждые 2 нед. до прогрессирования заболевания или до тех пор, пока запас вакцины не был исчерпан. В исследование было включено

20 больных, из которых 18 имели III или IV стадию заболевания. Приготовить вакцину удалось для 17 больных. Количество полученной вакцины варьировало от 1 до 21 дозы на больного, но в среднем составило 5 доз на больного. У 3 больных количество полученной вакцины оказалось недостаточным для проведения лечения. Среднее количество вакцинаций составило 4 на больного.

Лечение вакциной теплового шока практически нетоксично. В исследовании Y. Oki и соавт. у больных отмечались преимущественно реакции в месте введения вакцины: зуд II степени у двоих больных, эритема II степени — у троих и I степени — у одного. Во всех случаях реакции развивались только при первом введении вакцины, не потребовали никакого дополнительного лечения и самостоятельно исчезли в течение 24 ч после инъекции. Аналогичная картина наблюдалась и в других исследованиях вакцин на основе БТШ-ПК. Безопасность применения вакцин на основе БТШ-ПК тщательно изучалась в каждом исследовании в связи с теоретической возможностью развития аутоиммунных реакций, однако среди более 900 пролеченных на сегодняшний день больных не было серьезных клинических или лабораторных свидетельств аутоиммунных реакций. Вакцины на основе БТШ-ПК хорошо переносятся, и побочные эффекты от их введения обычно ограничиваются местными реакциями или незначительным повышением температуры тела.

Представляется возможным применение вакцин на основе БТШ-ПК у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ), т. к. при этом заболевании опухолевые клетки синтезируют опухолеспецифический антиген, продукт гена, образующегося при транслокации между длинными плечами хромосом 9 и 22. Z. Li и соавт. [64] провели исследование безопасности применения иматиниба мезилата в сочетании с аутологичной вакциной на основе белков теплового шока Hsp70, выделенных из лейкоцитов больных. Всего в рамках исследования лечение получили 20 больных ХМЛ в хронической фазе. С помощью лейкафереза было получено в среднем $16,7 \times 10^{10}$ лейкоцитов на больного (от 5 до $39,5 \times 10^{10}$ клеток). Их этих клеток удалось приготовить в среднем 950 мкг вакцины на больного (от 300 до 1900 мкг). Всего больным проведено 160 инъекций. Токсичность иммунотерапии оказалась сопоставима с наблюдавшейся в других исследованиях. Токсические явления ограничивались реакциями в месте введения и умеренными проявлениями гриппоподобного синдрома (у одного больного), которые не требовали никакого дополнительного лечения и самостоятельно исчезали в течение 24 ч после инъекции. Исследование было спланировано таким образом, чтобы оценить в первую очередь токсичность и безопасность применения БТШ-ПК у больных ХМЛ, однако удалось сделать некоторые интересные наблюдения относительно эффективности данного лечения.

В исследовании оценивался иммунный ответ на лечение методом ELISPOT (определение числа Т-лимфоцитов, реактивных в отношении опухолевых клеток). Показана значительная корреляция между иммунным ответом и наблюдавшимися клиническими улучшениями. Наличие такой корреляции и эффективность применения комбинации БТШ-ПК + иматиниба мезилата у больных с резистентностью к монотерапии иматиниба мезилатом свидетельствуют о некотором терапевтическом эффекте применения БТШ-ПК (а именно, Hsp70-ПК) у больных ХМЛ в хронической фазе, однако оценить его на основании результатов неконтролируемого исследования I фазы невозможно.

Следует признать, что практическая целесообразность применения иммунотерапии ХМЛ ограничена. На сегодняшний день иматиниба мезилат позволяет существен-

но повысить качество жизни и выживаемость при ХМЛ, а для лечения больных с резистентностью к иматинибу мезилату предложены препараты нилотиниб и дазатиниб. Тем не менее, результаты многочисленных исследований, включая и работу Z. Li и соавт., демонстрируют принципиальную возможность применения вакцин на основе БТШ-ПК, их высокую переносимость и низкую токсичность. Это создает предпосылку для дальнейшего исследования таких вакцин.

Клиническая эффективность вакцин на основе БТШ-ПК в большинстве проведенных на сегодняшний день исследований I–III фазы оказалась весьма умеренной: общая частота ответов (полные + частичные) у больных солидными опухолями не превышала 10 %. Однако необходимо учитывать, что практически все проведенные на сегодняшний день исследования вакцин на основе БТШ-ПК планировались для оценки в первую очередь безопасности этой новой медицинской технологии и включали больных с поздними стадиями злокачественных опухолей, во многих случаях получавших ранее по несколько различных режимов химиотерапии, т. е. резистентных к любому доступному на сегодняшний день лечению. Дальнейшие исследования помогут выявить группы больных, у которых данный иммунотерапевтический режим будет наиболее эффективен, и определить оптимальные дозы вакцины. **Возможно, такие вакцины будут наиболее эффективны на ранних стадиях онкологических заболеваний, в неадьювантном режиме, для первичной, вторичной или третичной профилактики опухолей.** Кроме того, широкие перспективы имеет применение БТШ в качестве адьювантов для создания вакцин против опасных инфекционных заболеваний. Ведутся работы по созданию вакцины против ВИЧ, основанной на БТШ [65]. Разрабатываются новые подходы, которые позволят преодолеть многие недостатки аутологичных вакцин на основе БТШ, например: получение рекомбинантных БТШ [66] или генетическая модификация опухолевых клеток [67], вакцинация БТШ, выделенными из бактериальных клеток или нормальных тканей и связанными с антигенными пептидами *in vitro*, создание химерных белков путем слияния БТШ и антигенных пептидов [68, 69].

Аутологичные вакцины на основе БТШ представляют огромный интерес для онкологии. Безусловно, они не лишены недостатков. Во-первых, для приготовления вакцины требуется достаточно большой образец опухоли, по меньшей мере 2 г опухолевой ткани. Однако такая масса ткани требуется в настоящее время, и не исключено, что в дальнейшем будет разработана технология получения вакцины из небольших опухолей или микроскопических образцов ткани (например, полученных при тонкоигольной биопсии). Кроме того, остается неизвестным, зависит ли эффективность лечения от дозы препарата; возможно, эффективными окажутся совершенно незначительные количества вакцины. Во-вторых, приготовление вакцины занимает 4–6 нед. (даже при условии быстрого и бесперебойного транспорта опухолевых образцов из клиники в лабораторию). Основные недостатки вакцин на основе БТШ-ПК могут быть преодолены при дальнейшем развитии технологии их изготовления. Главным же преимуществом такого подхода служит то, что вакцинация аутологичными БТШ-ПК может вести к развитию иммунного ответа против множества антигенных эпитопов опухоли, при этом идентификации каждого из них не требуется.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, белки теплового шока представляются уникальным биологическим явлением, естественным адьювантом, многократно повышающим иммуногенность любого связанного с ними пептида. БТШ-ПК, полученные из опухолей, содержат не только нормальные пептиды, присущие всем тканям данного больного, но и все уникальные опухолеспецифические антигены, присущие данной опухоли. Это служит предпосылкой для исследования возможности создания аутологичных противоопухолевых вакцин на основе комплексов БТШ и внутриклеточных пептидов (БТШ-ПК). Можно надеяться, что в течение ближайших лет будут разработаны новые методы лечения, основанные на иммунных свойствах белков теплового шока, что позволит увеличить выживаемость больных с различными злокачественными новообразованиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tissieres A., Mitchell H. K., Tracy U. M. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: Relation to chromosome puffs. *J. Mol. Biol.* 1974; 84: 389–98.
2. Craig E. A., Gross C. A. Trends. *Biochem. Sci.* 1991; 16: 135–40.
3. Lindquist S., Craig E. The heat-shock proteins. *Annu. Rev. Genet.* 1988; 22: 631–77.
4. Feder M. E., Parsell D. A., Lindquist S. The stress response and stress proteins *Cell Biology of Trauma*. — Boca Raton: CRC Press, 1995. — P. 177–91.
5. Arrigo A.-P., Landry J. Expression and function of the low-molecular-weight heat shock proteins. In: *The Biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperones* / R. I. Morimoto, A. Tissieres, C. Georgopoulos (eds.). — Cold Spring Harbor: Lab. Press, 1994. — P. 335–78.
6. Hartl F. U. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 1996; 381: 571–9.
7. Freeman B. C., Morimoto R. I. The human cytosolic molecular chaperones in hsp90, hsp70 (hsc70) and hsp110 have distinct roles in recognition of a non-native protein and protein refolding. *EMBO J.* 1996; 15: 2969–79.
8. Hohfeld J., Hard F.-U. Posttranslational protein import and folding. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 1994; 6: 499–509.
9. Li Z., Srivastava P. K. Tumor rejection antigen gp96/grp94 is an ATPase: implications for protein folding and antigen presentation. *EMBO J.* 1993; 12: 3143–51.
10. Miyata Y., Yahara I. The 90 kDa heat shock protein Hsp90 binds and protects casein kinase II from self-aggregation and enhances its kinase activity. *J. Biol. Chem.* 1992; 267: 7042–7.
11. Horst M., Opplige W., Rospert S. et al. Sequence action of two hsp70 complexes during protein import into mitochondria. *EMBO J.* 1997; 16: 1842–9.
12. Berwin B., Rosser M. F., Brinker K. G., Nicchitta C. V. Transfer of GRP94(gp96)-associated peptides onto endosomal MHC class I molecules. *Traffic* 2002; 3: 358–66.
13. Menoret A., Li Z., Niswonger M. L. et al. An Endoplasmic Reticulum Protein Implicated in Chaperoning Peptides to Major Histocompatibility of Class I is an Aminopeptidase. *J. Biol. Chem.* 2001; 276(36): 33313–8.
14. Mosser D. D., Caron A. W., Bourget L. et al. Role of the human heat shock protein hsp70 in protection against stress-induced apoptosis. *Mol. Cell. Biol.* 1997; 17: 5317–27.
15. Heike M., Frenzel C., Meier D., Galle P. R. Expression of stress protein gp96, a tumor rejection antigen, in human colorectal cancer. *Int. J. Cancer* 2000; 86: 489–93.
16. Jaattela M. Escaping cell death: survival proteins in cancer. *Exp. Cell Res.* 1999; 248: 30–43.
17. Kaur J., Ralhan R. Induction of apoptosis by abrogation of HSP70 expression in human oral cancer cells. *Int. J. Cancer* 2000; 85: 1–5.
18. Gurbuxani S., Bruey J. M., Fromentin A. et al. Selective depletion of inducible HSP70 enhances immunogenicity of rat colon cancer cells. *Oncogene* 2001; 20: 7478–85.
19. Jamora C., Dennert G., Lee A. S. Inhibition of tumor progression by suppression of stress protein GRP78/BIP induction in fibrosarcoma B/C10ME. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 7690–4.
20. Basu S., Binder R. J., Suto R. et al. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NKG2B pathway. *Int. Immunol.* 2000; 12(11): 1539–46.
21. Yura T., Nagai H., Mori H. Regulation of the heat-shock response in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 1993; 47: 321–50.
22. Novellino L., Parmiani G., Castelli C. A listing of human tumor antigens: March 2004 update. *Cancer Immunol. Immunother.* 2004, Aug 7.
23. Srivastava P. K. Peptide-binding heat shock proteins in the endoplasmic reticulum: role in immune response to cancer and in antigen presentation. *Adv. Cancer. Res.* 1993; 62: 153–77.

24. Srivastava P. K., Maki R. G. Stress induced proteins in immune response to cancer. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 1991; 167: 109–23.
25. Ishii T. et al. Isolation of MHC Class I-Restricted Tumor Antigen Peptide and Its Precursors Associated with Heat Shock Proteins hsp70, hsp90, and gp96. *J. Immunol.* 1999; 162: 1303–9.
26. Udono H., Srivastava P. K. Heat shock protein 70-associated peptides elicit specific cancer immunity. *J. Exp. Med.* 1993; 178: 1391–6.
27. Arnold D., Wahl C., Faath S. et al. Influences of transporter associated with antigen processing (TAP) on the repertoire of peptides associated with the endoplasmic reticulum-resident stress protein gp96. *J. Exp. Med.* 1997; 186: 461–6.
28. Nieland T. J., Tan M. C., Monne-van Muijen M. et al. Isolation of an immunodominant viral peptide that is endogenously bound to the stress protein GP96/GRP94. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 6135–9.
29. Blachere N. E., Li Z., Chandawarkar R. Y. et al. Heat shock protein-peptide complexes, reconstituted *in vitro*, elicit peptide-specific cytotoxic T lymphocyte response and tumor immunity. *J. Exp. Med.* 1997; 186: 1315–22.
30. Ciupitu A., Peterson M., O'Donnell C. et al. Immunization with a lymphocytic choriomeningitis virus peptide mixed with heat shock protein 70 results in protective antiviral immunity specific cytotoxic T lymphocytes. *J. Exp. Med.* 1998; 187: 685.
31. Navaratnam M., Deshpande M. S., Hariharan M. J. et al. Heat shock protein-peptide complexes elicit cytotoxic T-lymphocyte and antibody responses specific for bovine herpesvirus 1. *Vaccine* 2001; 19: 1425–34.
32. Wells A., Rai S., Salvato M. et al. Hsp 72-mediated augmentation of MHC class I surface expression and endogenous antigen presentation. *Int. Immunol.* 1998; 10: 609.
33. Vogen S., Gidalevitz T., Biswas C. et al. Radioccol-sensitive peptide binding to the N-terminal portion of GRP94. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 40742–50.
34. Linderoth N. A., Popowicz A., Sastry S. Identification of the peptide-binding site in the heat shock chaperone/tumor rejection antigen gp96 (Grp94). *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 5472–7.
35. Zhu X., Zhao X., Burkholder W. F. et al. Structural analysis of substrate binding by the molecular chaperone DnaK. *Science* 1996; 272: 1606–14.
36. Srivastava P. K., Menoret A., Basu S. et al. Heat shock proteins come of age: primitive functions acquire new roles in an adaptive world. *Immunity* 1998; 8: 657–65.
37. Castelli C., Ciupitu A. M., Rini F. et al. Human heat shock protein 70 peptide complexes specifically activate anti-melanoma T cells. *Cancer Res.* 2001; 61: 222–7.
38. Noessner E., Gastpar R., Milani V. et al. Tumor-derived heat shock protein 70 peptide complexes are cross-presented by human dendritic cells. *J. Immunol.* 2002; 169: 5424–32.
39. Rivoltini L., Castelli C., Carrabba M. et al. Human tumor-derived heat shock protein gp96 mediates *in vitro* activation and *in vivo* expansion of melanoma- and colon carcinoma-specific T cells. *J. Immunol.* 2003; 171: 3467–74.
40. Castellino F., Boucher P. E., Eichelberg K. et al. Receptor-mediated uptake of antigen/heat shock protein complexes results in major histocompatibility complex class I antigen presentation via two distinct processing pathways. *J. Exp. Med.* 2000; 191: 1957–64.
41. Hilf N., Singh-Jasuja H., Schild H. J. The heat shock protein gp96 links innate and specific immunity. *Int. J. Hyperthermia.* 2002; 18: 521–33.
42. Srivastava P. K., Udono H., Blachere N. E., Li Z. Heat shock proteins transfer peptides during antigen processing and CTL priming. *Immunogenetics* 1994; 39: 93–8.
43. Staib F., Distler M., Bethke K. et al. Cross-presentation of human melanoma peptide antigen MART-1 to CTLs from *in vitro* reconstituted gp96/MART-1 complexes. *Cancer Immunol.* 2004; 4: 3–17.
44. Srivastava P. Interaction of heat shock proteins with peptides and antigen presenting cells: chaperoning of the innate and adaptive immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* 2002; 20: 395.
45. Berwin B., Hart J. P., Pizzo S. V., Nicchitta C. V. Cutting Edge: CD91-Independent Cross-Presentation of GRP94(gp96)-Associated Peptides. *J. Immunol.* 2002; 168: 4282–6.
46. Arnold-Schild D., Hanau D., Spohner D. et al. Cutting edge: receptor-mediated endocytosis of heat shock proteins by professional antigen-presenting cells. *J. Immunol.* 1999; 162: 3757–60.
47. Binder R. J., Harris M. L., Menoret A., Srivastava P. K. Saturation, competition and specificity in interaction of heat shock proteins (hsp) gp96, hsp90 and hsp70 with CD11b+ cells. *J. Immunol.* 2000; 165: 2582–7.
48. Singh-Jasuja H., Toes R. E., Spee P. et al. Cross-presentation of glycoprotein 96-associated antigens on major histocompatibility complex class I molecules requires receptor-mediated endocytosis. *J. Exp. Med.* 2000; 191: 1965–74.
49. Wassenberg J. J., Dezfulian C., Nicchitta C. V. Receptor mediated and fluid phase pathways for internalization of the ER Hsp90 chaperone GRP94 in murine macrophages. *J. Cell. Sci.* 1999; 112(pt. 13): 2167–75.
50. Binder R. J., Han D. K., Srivastava P. K. CD91: a receptor for heat shock protein gp96. *Nat. Immunol.* 2000; 1: 151.
51. Mazzaferro V., Coppa J., Carabba M. et al. Vaccination with autologous tumor-derived heat-shock protein gp96 after liver resection for metastatic colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9: 3235–45.
52. Basu S., Binder R. J., Ramalingam T., Srivastava P. K. Immunity 2001; 14: 303–13.
53. Binder R. J., Srivastava P. K. Essential role of CD91 in re-presentation of gp96-chaperoned peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004; 101: 6128–33.
54. Berwin B., Hart J. P., Pizzo S. V., Nicchitta C. V. Cutting Edge: CD91-Independent Cross-Presentation of GRP94(gp96)-Associated Peptides. *J. Immunol.* 2002; 168: 4282–6.
55. Doody A. D. H., Kovalchin J. T., Mihalgo M. A. et al. Glycoprotein 96 can chaperone both MHC class I- and class II-restricted epitopes for *in vivo* presentation, but selectively primes CD8 + T cell effector function. *J. Immunol.* 2004; 172: 6087.
56. Asea A., Rehli M., Kabingu E. et al. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 15028–34.
57. Roman E., Moreno C. Synthetic peptides non-covalently bound to bacterial hsp70 elicit peptide-specific T-cell responses *in vivo*. *Immunology* 1996; 88: 487–92.
58. Asea A., Kraeft S. K., Kurt-Jones E. A. et al. Hsp70 stimulates cytokine production through a CD14-dependent pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nat. Med.* 2000; 6: 435–442.
59. Basu S., Suto R., Binder R. J., Srivastava P. K. Heat shock proteins as novel mediators of cytokine secretion by macrophages. *Cell Stress Chaperones* 1998; 3: 11.
60. Janetzki S., Polla D., Rosenhauer et al. Immunization of cancer patients with autologous cancer-derived heat shock protein gp96: a pilot study. *Int. J. Cancer* 1996; 88: 232–8.
61. Eton O., East M., Ross M. I. et al. Autologous tumor-derived heat-shock protein peptide complex-96 (HSPPC-96) in patients with metastatic melanoma [abstract]. *Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res.* 2000; 41: 543. Abstract 3463.
62. Belli F., Testori A., Rivoltini L. et al. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous tumor-derived heat shock protein gp96-peptide complexes: clinical and immunologic findings. *J Clin Oncol.* 2002; 20: 4169–80.
63. Oki Y. et al. Experience with heat shock protein-peptide complex 96 vaccine therapy in patients with indolent non-Hodgkin lymphoma. *Cancer* 2007; 109: 77–83.
64. Li Z. et al. Combination of imatinib mesylate with autologous leukocyte-derived heat shock protein and chronic myelogenous leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11(12).
65. Levey D. L., Brander C., Srivastava P. K. The potential of heat shock protein-peptide complexes as a therapeutic vaccine. *J. HIV Ther.* 2005; 10(3): 56–9.
66. Manjili M. H., Henderson R., Wang X.-Y. et al. Development of a recombinant HSP110-HER-2/neu vaccine using the chaperoning properties of HSP110. *Cancer Res.* 2002; 62: 1737–42.
67. Massa C., Guiducci C., Arioli I. et al. Enhanced efficacy of tumor cell vaccines transfected with secreted hsp70. *Cancer Res.* 2004; 64: 1502–8.
68. Cho B. K., Palliser D., Guillen E. et al. A proposed mechanism for the induction of cytotoxic T lymphocyte production by heat shock fusion proteins. *Immunity* 2000; 12: 263–72.
69. Suzue K., Zhou X., Eisen H. N., Young R. A. Heat shock fusion proteins as vehicles for antigen delivery into the major histocompatibility complex class I presentation pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997; 94: 13146–51.

Отдаленные последствия лучевой и комбинированной терапии больных лимфомой Ходжкина

Н. В. Ильин, Ю. Н. Виноградова

РЕФЕРАТ

Late side effects after radio- and combined therapy in patients with Hodgkin's disease

N. V. Ilyin, J. N. Vinogradova

Summary:

Long-term complications vary in frequency and severity depending on the chemotherapy regimen and the additional application radiotherapy. The most serious long-term treatment-associated complications are secondary neoplasia and cardiovascular disease. Further late effects contributing to morbidity and/or mortality of long-term survivors of Hodgkin lymphoma are pulmonary dysfunction, infection complications, hypothyroidism and infertility. In order to reduce treatment-related toxicity ongoing trials are evaluating the efficacy and toxicity of less intensive chemotherapy protocols and of reduced radiation field size and dose.

Keywords:

Hodgkin's lymphoma, late side effects.

Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, St. Petersburg

Контакты: crirr@peterlink.ru

Принято в печать: 11 апреля 2008 г.

Больные лимфомой Ходжкина, излеченные в 1960–1990 гг., получали значительные объемы лучевой и химиотерапии, что в дальнейшем способствовало развитию у них различных патологических состояний, связанных с предшествующей терапией и нередко приводящих к инвалидности и преждевременной смерти. Современные подходы к лечению первичных больных ЛХ должны строиться на принципе оптимальной достаточности объема терапии с учетом профилактики возможных поздних побочных эффектов.

Ключевые слова

лимфома Ходжкина, отдаленные последствия терапии.

ВВЕДЕНИЕ

Успехи современной терапии первичных больных лимфомой Ходжкина (ЛХ) в последние десятилетия (излечиваются 80–90 % больных на ранних стадиях; 60–70 % — при распространенных стадиях) привели к значительному увеличению длительности жизни пациентов. Увеличение длительности жизни этих больных выявило отдаленные связанные с предшествующей терапией патологические состояния, нередко приводящие излеченных от лимфомы больных к инвалидности и преждевременной смерти [1, 2]. К серьезным поздним неблагоприятным эффектам лечения относятся вторые опухоли, сердечно-сосудистые и легочные осложнения, изменения в эндокринной системе и ряд других.

По данным EORTC [3], кумулятивный риск смерти больных от самой ЛХ в течение 25 лет составляет 24,2 %, от других причин — 26,2 %, в т. ч. от вторых опухолей — 13,5 % и сердечно-сосудистых осложнений — 6,9 %. В первые 10 лет после окончания лечения умирает 15–30 % больных ЛХ, преимущественно от прогрессирования опухолевого процесса (70–85 %), в последующие годы причины смерти

связаны в основном с поздними осложнениями терапии.

Вторые опухоли

Возникновение второй опухоли у одного индивидуума кроме факторов, связанных с предшествующим лечением, может быть обусловлено его иммунными и генетическими особенностями, а также другими канцерогенными влияниями. Давно известен канцерогенный риск ионизирующей радиации, в т. ч. у выживших после атомных бомбардировок в Японии, получивших значительные дозы облучения при диагностических лучевых обследованиях и лучевую терапию по поводу опухолевых и неопухолевых заболеваний. Риск лейкоза, индуцированного облучением, максимален в период от 5 до 9 лет после лучевой терапии, затем постепенно снижается; риск солидных опухолей начинает увеличиваться в основном после 10 лет наблюдения.

Поскольку полихимиотерапия (ПХТ), увеличившая продолжительность жизни больных с генерализованными стадиями ЛХ, стала применяться позже, ее канцерогенный риск обнаружился не так давно. Лейкемогенный эффект режимов, содержащих алкилирующие препараты (мустарген, цикло-

фосфан, прокарбазин) при ЛХ, в частности схемы МОРР, которая используется с 1967 г., стал выявляться уже к 1977 г. [4]. По данным нескольких крупных европейских центров [5, 6], наблюдавших 9618 излеченных больных ЛХ, **риск острых нелимфобластных лейкозов и неходжкинских лимфом** в 20–70 раз выше, чем в популяции. Он связан с ПХТ МОРР и подобными ей режимами, особенно через 2–10 лет после лечения. Риск солидных опухолей увеличен в 2–5 раз. В 80–90-х годах XX в. стала активно применяться менее лейкемогенная схема АВВД, в связи с чем значительно снизился риск вторичных лейкозов [7]. Первые наблюдения возникновения неходжкинских лимфом у излеченных больных ЛХ относятся к ранним 1970-м годам. Согласно международной базе данных, среди 12 411 больных ЛХ было выявлено 106 (0,9 %) случаев неходжкинских лимфом, не связанных определенно с каким-либо видом первичного лечения. Риск их появления был выше через 5–9 лет после окончания первичного лечения у больных, получавших химиолучевую «терапию спасения» по поводу рецидива [8].

Больные ЛХ, излеченные только лучевой терапией, через 10 лет и более после лечения имеют увеличенный **риск вторых солидных опухолей** различного происхождения и локализации (рак легкого, желудка, молочной железы, толстой и прямой кишки, мочевого пузыря, меланомы, опухоли костей), а также **острых лейкозов и неходжкинских лимфом**. ПХТ также вносит свой очевидный вклад в повышение частоты развития солидных опухолей, и прежде всего рака легкого. Совокупный абсолютный риск на 10 000 больных в год для солидных опухолей составляет 37,9 случая; неходжкинских лимфом — 12; лейкозов — 12,5. Из солидных опухолей чаще всего наблюдались карциномы легкого, молочной железы и желудочно-кишечного тракта [5, 6, 8]. По данным Британской группы по изучению лимфом, у 5519 больных ЛХ, леченных в 1963–1993 гг., относительный риск вторых опухолей был почти в 2 раза выше у пациентов молодого возраста — 15–24 года на момент лечения, особенно рака легкого [5]. Относительный риск возникновения вторых опухолей у лиц, излеченных от ЛХ, определялся по отношению к соответствующей возрастной группе лиц без ЛХ: по международной базе данных — 32 591 первичных больных, из которых 1 111 жили 25 лет и более, относительный риск возникновения солидных опухолей молочной железы, легкого, желудочно-кишечного тракта у лиц, леченных в возрасте до 21 года был значительно выше, чем у больных более старших групп [9].

По данным Британской группы по изучению лимфом, у 5519 излеченных больных ЛХ наблюдалось 88 (1,6 %) случаев рака легкого, при этом относительный риск был в 1,6–2,4 раза выше у больных, ранее получавших ПХТ МОРР, и риск был тем выше, чем больше циклов получил больной [5]. L. V. Travis и соавт. [10, 11] показали, что курение является важным фактором возникновения рака легкого у больных ЛХ в ремиссии. На 222 случаев рака легкого из 19 046 (1,2 %) больных ЛХ только 7 никогда не курили, остальные 215 больных — курильщики. Авторы анализировали относительный риск последующего возникновения рака легкого у излеченных больных ЛХ в зависимости от вида предшествующего лечения в двух группах: некурящие или мало курящие (первая группа) и много курящие больные (вторая группа). Оказалось, что в первой группе пациентов использование лучевой терапии на средостение и лимфоузлы выше диафрагмы при первичном лечении ЛХ увеличивает риск рака легкого 7-кратно, ПХТ — в 4,3 раза, комбинированного лечения — 7-кратно, как и при лучевой терапии. Во второй группе больных эти риски были значительно выше:

20,2 — после лучевой терапии; 16,8 — после ПХТ; 49,1 — после комбинированного лечения.

Таким образом, если у некурящих или мало курящих пациентов риск рака легкого от предшествующей терапии ЛХ был максимально равен 7, то у много курящих больных он был значительно выше как после лучевой, так и после полихимиотерапии, и особенно высок после комбинированного лечения (почти в 50 раз).

Относительный риск последующего возникновения рака молочной железы у излеченных больных ЛХ в целом колеблется от 1,4 до 7,3 и сильно зависит от возраста: у больных до 20 лет он составляет 75,5; от 21 до 29 лет — 17; от 30 лет и старше — 4,4 [12]. Из 48 больных ЛХ женщин в ремиссии, у которых впоследствии возник рак молочной железы, 30 ранее получали только лучевую терапию, 18 — лучевую и химиотерапию. Относительный риск рака молочной железы при только лучевой терапии ЛХ до суммарной дозы 24 Гр и менее не был увеличен и соответствовал таковому в контрольной группе без ЛХ, однако далее возрастал прямо пропорционально увеличению суммарной очаговой дозы радиации на молочную железу в 6 раз при дозе 24–38,5 Гр, в 12,7 раз при дозе более 38,5 Гр. При использовании только ПХТ, а также комбинированного лечения (ПХТ и лучевая терапия) колебание рисков (0,8–1,2) было недостоверным, т. е. не изменялись даже при суммарных дозах облучения более 24 Гр. Этот парадоксальный факт наблюдается только при раке молочной железы и связан с угнетением функции яичников химиотерапией, что снижает риск развития рака молочной железы [12].

Таким образом, для профилактики рака молочной железы очевидна необходимость оптимального пространственного планирования первичной лучевой терапии у больных ЛХ, сокращения полей и доз и переход к облучению только первично пораженных зон. Учитывая наличие и других рисков (кардиоваскулярные, легочные осложнения и др.), а также введение новых схем химиотерапии, несомненно, новые подходы в лучевой терапии должны быть распространены на всех первичных больных. Данных о роли предшествующей химиогормонотерапии (без облучения) при первичном лечении ЛХ в возникновении в последующем рака молочной железы до настоящего времени не получено. По сравнению с первичными больными раком молочной железы излеченные от ЛХ пациентки с последующим возникновением этой опухоли имеют значительно худший прогноз для течения рака молочной железы, что связывают с их более молодым возрастом, медиальными квадрантами поражения молочной железы, билатеральным вовлечением [4, 13].

Последними исследованиями установлено, что переход от мантиевидного облучения к облучению только первично пораженных зон при одинаковых в обеих группах суммарных дозах (35 Гр) способствует снижению риска у женщин рака молочной железы и легкого на 65 %, а рака легкого у мужчин — на 35 % [14].

Таким образом, **наибольший риск возникновения вторых опухолей** у излеченных от ЛХ больных относится к солидным новообразованиям, этот риск снижается с увеличением возраста, а максимален у больных, которым на момент диагноза ЛХ было до 45 лет; отмечена связь суммарной очаговой дозы с возникновением второй солидной опухоли; риск постепенно увеличивается в течение периода наблюдения 25 лет после лечения; установлен синергичный эффект курения и радиации в возникновении рака легкого; и наконец, химиотерапия добавляет свою долю к риску, вызываемому облучением (кроме рака молочной железы); увеличенный риск существует и в группе больных, получавших ранее только химиотерапию.

По данным ЦНИРРИ, из 942 первичных больных ЛХ I—IV стадии, леченных в период 1973—1993 гг., в срок от 5 до 14 лет от начала лечения у 19 (2 %) больных возникло 19 вторых солидных опухолей различной локализации: бронх — 1, молочная железа — 3, тело матки — 3, желудок — 5, пищевод — 1, мочевой пузырь — 1, печень — 1, яичник — 1, почка — 2, прямая кишка — 1. Средний возраст больных на момент появления солидных опухолей составил 45 лет. В качестве первичного лечения радикальная лучевая терапия была проведена 231 (24,5 %) больному, химиолучевое лечение — 711 (75,5 %) больным. Только после лучевой терапии вторые опухоли возникли у 1,3 % больных, остальные — после комбинированного лечения; лейкозов не выявлено. Топика вторых опухолей совпала с открытым радиационным полем у 7 из 19 больных, но при раке молочной железы — ни у одной больной.

С 1985 г. лучевую терапию осуществляли в режиме мультифракционирования: 121 больной подвергался облучению 2 раза в день в разовой очаговой дозе 1,35 Гр с интервалом 4 ч. У больных вторые опухоли не наблюдались, этот факт пока не имеет объяснения. Может быть, это связано с меньшим временем наблюдения, чем у больных, получавших обычное фракционирование [15].

Следует подчеркнуть, что вторые опухоли — лейкозы и солидные новообразования — чаще резистентны к терапии и болезнь имеет худший прогноз, чем при впервые возникших опухолях. Однако неходжкинские лимфомы могут быть успешно лечены так же, как и у первичных больных.

Кардиоваскулярные осложнения

Заболевания сердечно-сосудистой системы у больных ЛХ в ремиссии повышают риск преждевременной смерти этих пациентов [16—19]. По опыту исследователей Стенфордского университета, именно они в 16 % случаев являются причиной летальных исходов больных ЛХ [8, 20]. В различных исследованиях, проведенных после 1991 г. в Европе и США у 12 829 больных ЛХ, леченных за последние полвека, установлено, что абсолютный риск гибели от сердечно-сосудистых осложнений колеблется от 5,4 до 28 случаев на 10 000 больных в год. С лучевым лечением связывают **нарушения в деятельности миокарда, ускорение атеросклероза, заболевания коронарных артерий, недостаточность клапанного аппарата, перикардиты, электрическую нестабильность миокарда**. Антрациклиновая кардиомиопатия тесно ассоциирована с суммарной дозой препарата, с сопутствующей лучевой терапией и традиционными сердечными факторами риска [3].

Большинство ранних исследований, по объективным причинам связанных с лучевой терапией, указывает на острые и хронические кардиальные осложнения. Частота их обусловлена суммарной дозой: при мантиевидном облучении больных перикардиты не наблюдались до дозы 36 Гр, их было 8 % при 44—48 Гр и 43 % при дозе более 50 Гр [21]. Первые наблюдения внезапной сердечной смерти и инфарктов миокарда у излеченных больных ЛХ, получавших облучение средостения, относятся к 1970-м годам [22]. Серьезные коронарные события происходили у больных после дозы 42—45 Гр на средостение и сердце спустя 6—20 лет после облучения. Риск острого инфаркта миокарда или внезапной сердечной смерти был выше у больных ЛХ в ремиссии после комбинированного лечения, чем после только лучевой терапии [23]. Эти осложнения могут возникать даже при непопавших коронарных артериях [24]. При химиотерапии кардиотоксичность возникает в основном при лечении антрациклинами, и поздние ее проявления выражаются

кардиомиопатиями с левожелудочковой недостаточностью, миокардитом, совместными поражениями миокарда и коронарных сосудов. Основным способом профилактики является соблюдение предельных суммарных доз препарата: доксорубин — 550 мг/м², эпирубинин (фарморубинин) — 1000 мг/м², использование кардиоксана в дозе, в 20 раз превышающей дозу антрациклинов, — до 1000 мг/м² за 30 мин до введения последних. При наличии факторов риска кардиотоксичности (пожилой возраст, сопутствующая сердечно-сосудистая патология) доза кардиоксана может быть увеличена до 2000 мг/м².

Для профилактики лучевых кардиологических осложнений имеет большое значение правильное пространственное распределение дозы, трехмерное планирование, снижение разовой дозы на сердце путем мультифракционирования [25—27].

По данным голландских исследователей [17, 28], проследивших 2689 больных, леченных в 1965—1995 гг., в группе пациентов в возрасте до 41 года на момент установления диагноза ЛХ и проживших 5 лет и более (1474 больных, медиана наблюдения 18 лет) только лучевую, только химиотерапию или комбинированное лечение ранее получали примерно равные доли больных. Выявлено 3—5-кратное увеличение риска инфарктов миокарда, ишемической болезни сердца и поражения клапанного аппарата сердца, прямо связанное с облучением средостения, особенно у больных, леченных в молодые годы, а также увеличение риска этих заболеваний в группе больных, получавших антрациклинсодержажшие режимы химиотерапии.

Легочные осложнения

Отдаленная легочная токсичность в виде развития **поздних пневмонитов** характерна для блеомицина, кармустина, митомицина. Для их профилактики не рекомендуется превышать суммарные дозы указанных препаратов 330, 1000 и 250 мг/м² соответственно. При облучении обоих легких целиком в режиме обычного фракционирования нельзя превышать суммарную дозу 8 Гр; одного легкого — 18 Гр; разовая доза должна быть снижена до 1,2—1,4 Гр.

После пневмонита, являющегося первой фазой поражения легких, возникает вторая фаза в виде **прогрессирующего диффузного пневмофиброза и пневмосклероза**. При облучении части легкого (доля, медиастинальные отделы) эти изменения возникают в регионах, соответствующих полям облучения. Выраженные склеротические процессы в легких большой площади приводят к дыхательной недостаточности различной тяжести. Химиопрепараты, такие как блеомицин и кармустин, также могут обусловить пневмофиброз при превышении дозы.

Факторами риска поздних легочных осложнений являются пожилой возраст, курение, исходная легочная недостаточность, наличие первичных симптомов интоксикации. Сочетание нескольких химиопрепаратов так же, как и использование химиолучевой терапии, усиливает риск легочной токсичности [29].

Токсические воздействия на эндокринную систему

Облучение шеи и/или верхнего средостения может вызывать **субклинический гипотиреоз** примерно у 1/3 больных. Это осложнение обнаруживается при определении концентрации тиреоидных гормонов. Даже если нет клинической симптоматики, но снижена концентрация гормонов, заместительная терапия тироксином рекомендуется для предотвращения более выраженного снижения функции щитовидной железы и уменьшения риска развития доброкачественных опухолевых узлов в ней [30].

Еще до лечения до 28 % мужчин, больных ЛХ, имеют **нарушенный сперматогенез**, уменьшение количества спермы и снижение подвижности сперматозоидов [31], а при наличии симптомов интоксикации эти нарушения выявлены у 60 % мужчин [32].

Как лучевая, так и химиотерапия могут вызывать временное или **постоянное бесплодие или раннюю менопаузу** [33–35]. Эти эффекты обоих главных методов терапии ЛХ дозозависимы при действии на яичники и яички. При химиотерапии наиболее выраженное воздействие оказывают прокарбазин- и мустаргенсодержащие режимы. При облучении суммарная доза 12–15 Гр на яичники у женщин до 40 лет вызывает менопаузу, у женщин старше 40 лет для наступления менопаузы достаточно 4–7 Гр [36, 37].

У мужчин в качестве профилактики бесплодия используется консервация спермы, у женщин в случае необходимости облучения пахово-подвздошных лимфатических узлов раньше применялась транспозиция яичников латерально в зону под блоком или вниз и медиально вне поля. Вероятность развития бесплодия явилась одной из причин отказа от третьего этапа радикальной лучевой терапии. Облучение за пределами таза не увеличивает риск стерильности. У мужчин схема ABVD мало гонадотоксична: активность сперматозоидов восстанавливается практически у всех больных [38]. Химиотерапия по схемам COPP, MOPP вызывает бесплодие с высокой частотой — 77–100 % [39]. При этом синтез тестостерона клетками Лейдига в яичках не уменьшается, поэтому андрогенное замещение не показано излеченным больным ЛХ мужского пола. Показано, что у мужчин, излеченных от ЛХ, в 26 % случаев возникают проблемы с эрекцией и качеством оргазма [40]. При признаках андрогенной недостаточности, например развитии гинекомастии, может быть использован экзогенный тестостерон. У женщин схемы MOPP, COPP вызывают примерно в 77 % случаев олиго- или аменорею с низкой (0–20 %) частотой постепенного восстановления. Однако, так же как и у мужчин, 6 циклов по схеме ABVD не имеют значительной токсичности [39, 41]. По данным И. В. Пыловой и соавт., при лечении женщин по программе BEACOPP-стандартный при использовании золадекса — агониста гонадотропин-рилизинг гормона — ни у одной пациентки не отмечено аменореи. Меньшим защитным влиянием на яичники обладают комбинированные оральные контрацептивы [42].

Другие поздние осложнения

Серьезные инфекционные осложнения у излеченных больных ЛХ известны давно и связаны как с первичным иммунодефицитом у больных, так и с проводимым лечением: химиотерапией, спленэктомией, облучением селезенки. С **инфекционными осложнениями** связано до 10 % всех смертей излеченных больных. Сепсис возникает преимущественно у подвергнутых спленэктомии пациентов в первые 2–3 года после операции. Имеются сообщения о высоком уровне инфицированности гепатитом В у больных ЛХ и о повышенной летальности от вирусного гепатита среди пациентов после спленэктомии [43]. После лечения больных ЛХ имеется повышенный риск туберкулеза вследствие снижения функций В- и Т-систем иммунитета [25, 26].

Из более редко описанных поздних осложнений лечения ЛХ следует упомянуть и о **постлучевом фиброзе подковой клетчатки, гиперпигментации кожи, алопеции, ксеростомии** (при повторном облучении до доз

50–60 Гр), **фиброзе верхней трети левой почки** в результате облучения селезенки. Использование комбинированной терапии, в частности схемы ABVD перед облучением, способствует увеличению острых, а также поздних кожных реакций (гипер- и гипопигментация, дистрофические изменения). Увеличение радиочувствительности кожи, как считают, связано с доксорубицином и блеомицином, а повышение фоточувствительности кожи — с дакарбазином и винбластином [37].

Из поздних гематологических осложнений следует отметить **лейкопению, тромбоцитопению** без клинических проявлений, **фиброз участков костного мозга**, подвергшихся облучению, что ведет к снижению его резервов.

Из редких неврологических осложнений возможна **миелопатия** двух типов. Первый тип (около 5 % больных) возникает через 1,5–3 мес. после лучевой терапии мантиевидным полем, проявляется острой пронизывающей болью в шее и нижних конечностях (синдром Лермитта), которые проходят постепенно через несколько месяцев самостоятельно. Второй тип — лучевой поперечный миелит — представляет собой тяжелое осложнение с пара- и тетрапарезом и дисфункцией тазовых органов. В клинике ЦНИРРИ за 30 лет существования отделения лимфом такого поражения спинного мозга не наблюдалось. Известна нейротоксичность винкаалкалоидов — винкристина и винбластина: парестезии, невралгическая боль, атаксия, парез кишечника.

Поздние осложнения после высокодозной терапии с трансплантацией стволовых клеток по спектру не отличаются от таковых при стандартной терапии: вторые опухоли, стерильность, сердечно-сосудистые, легочные осложнения. Однако есть некоторые особенности. Так, после тотального облучения тела и больших доз стероидов может возникнуть **катаракта, хронический обструктивный легочный синдром, асептический некроз костей**. Последний может быть связан и с длительным применением преднизолона, что диктует необходимость быстрой отмены препарата в циклах ПХТ, его содержащих (BEACOPP и др.) [44].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поздние токсические эффекты у излеченных больных ЛХ оказывают существенное влияние на сокращение длительности жизни пациентов. Оптимальная излечивающая терапия должна быть минимально достаточной и строго индивидуализированной согласно важнейшим прогностическим факторам. После определения рационального объема лечения следует принять все необходимые меры по профилактике побочных явлений. К ним относятся: соблюдение порога допустимых доз при химиотерапии и применение соответствующих препаратов; при лучевой терапии — оптимальное пространственное и временное планирование подводимой дозы, которая должна быть минимально необходимой; соответствующее техническое оснащение. Подходы к лучевой терапии ЛХ существенно изменились в последние 5 лет, это должно способствовать снижению частоты основных поздних побочных эффектов в будущем [26, 30, 45]. Лицам, излеченным от ЛХ, особенно важно вести здоровый образ жизни с целью положительного влияния на общеизвестные кардиологические факторы риска (уровень холестерина, физическая активность, отказ от курения и др.). Целесообразна просветительная работа среди больных о важности соответствующих профилактических мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демина Е.А. Современная терапия первичных больных лимфомой Ходжкина: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2006. — 46 с.
2. Friedman D. L., Constine L. S. Late effects of treatment for Hodgkin lymphoma. *J. Natl. Cancer Netw.* 2006; 4(3): 249–57.
3. Aleman B. M., van Leeuwen F. E. Late toxicity in patients treated for Hodgkin's lymphoma. *Hematology* 2006; 2(1): 172–9.
4. van Leeuwen F. E., Swerdlow A. J., Valagussa P., Tucker M. A. Second Cancers after Treatment of Hodgkin's Disease. In: *Hodgkin's Disease / Ed. by P. M. Mauch et al.* — Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. — P. 607–31.
5. Swerdlow A. J., Barber J. A., Hudson G. V. et al. Risk of second malignancy after Hodgkin's disease in a collaborative British cohort: the relation to age at treatment. *J. Clin. Oncol.* 2000; 20(1): 2108.
6. van Leeuwen F. E., Klokmann W. J., Veer M. B. et al. Long-term risk of second malignancy in survivors of Hodgkin's disease treated during adolescence or young adulthood. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 487–97.
7. Henry-Amar M. Second cancer after the treatment for Hodgkin's disease: a report from the International Database on Hodgkin's disease. *Ann. of Oncol.* 1992; 3 (Suppl. 4): 117–22.
8. Hoppe R. T. Hodgkin's disease: complications of therapy and excess mortality. *Ann. Oncol.* 1997; 8 (Suppl. 1): 115–8.
9. Dore G. M., Metayer C., Curtis R. E. et al. Second malignant neoplasms among long-term survivors of Hodgkin's disease: a population-based evaluation over 25 years. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 3484–94.
10. Travis L. B., Gospodarowicz M., Curtis R. E. et al. Lung cancer following chemotherapy and radiotherapy for Hodgkin's disease. *J. Natl. Cancer Inst.* 2002; 94: 182–92.
11. Travis L. B., Hill D., Dore G. M. et al. Cumulative absolute breast cancer risk for young women treated for Hodgkin lymphoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 2005; 97: 1428–37.
12. van Leeuwen F. E., Klokmann W. J., Stovall M. et al. Roles of radiation dose, chemotherapy, and hormonal factors in breast cancer following Hodgkin's disease. *J. Natl. Cancer Inst.* 2003; 95: 971–80.
13. Sanna G., Lorizzo K., Rotmensz N. et al. Breast cancer in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *Ann. Oncol.* 2007; 18(2): 288–92.
14. Koh E. S., Tran T. H., Heydarian M. et al. A comparison of mantle versus involved-field radiotherapy for Hodgkin's lymphoma: reduction in normal tissue dose and second cancer risk. *Radiat. Oncol.* 2007; 15: 2–13.
15. Коврыжкина Т. А., Ильин Н. В., Шендерова И. А., Смирнова Е. В. Лучевая терапия и вторые опухоли у больных лимфогранулематозом. *Вопр. онкол.* 2001; 47(5): 626–31.
16. Adams M. J., Lipsitz S. R., Colan S. O. et al. Cardiovascular status in long-term survivors of Hodgkin's disease treated with chest radiotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 3139–48.
17. Aleman B. M., Belt-Dusebout A. W., de Bruin M. L. et al. Late cardiotoxicity after treatment for Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2007; 109(5): 1878–86.
18. Dorresteijn L. D., Kappelle A. C., Boogerd W. et al. Increased risk of ischemic stroke after radiotherapy on the neck in patients younger than 60 years. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 282–8.
19. Hancock S. L. Cardiovascular Late Effects After Treatment of Hodgkin's Disease. In: *Hodgkin's Disease / Ed. by P. M. Mauch et al.* — Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. — P. 647–59.
20. Hancock S. L., Tucker M. A., Hoppe R. T. Factors affecting late mortality from heart disease after treatment of Hodgkin's disease. *JAMA* 1993; 270: 1949–55.
21. Stewart J., Fajardo L. Radiation-induced heart disease. *Clinical experimental aspects.* *Radiol. Clin. N. Amer.* 1971; 9: 511–31.
22. Kopelson G., Herwig K. J. The etiologies of coronary artery disease in cancer patients. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1978; 4: 895–906.
23. Glanzmann C., Kaufmann P., Jenni R. et al. Cardiac risk after mediastinal irradiation for Hodgkin's disease. *Radiother. Oncol.* 1998; 46: 51–62.
24. Letsas K. P., Korantzopoulos P., Evangelou D. et al. Acute myocardial infarction with normal coronary arteries in a patient with Hodgkin's disease: a late complication of irradiation and chemotherapy. *Tex. Heart Inst. J.* 2006; 33(4): 512–4.
25. Ильин Н. В. Лимфома Ходжкина (болезнь Ходжкина) (лекция, часть I). *Вестн. гематол.* 2006; 2(4): 51–8.
26. Ильин Н. В. Лимфома Ходжкина (болезнь Ходжкина) (лекция, часть II). *Вестн. гематол.* 2006; 3(1): 65–70.
27. Николаева Е. Н. Оценка эффективности режима ускоренного мультифракционирования дозы в лучевом и комбинированном лечении больных лимфомой Ходжкина II–III стадии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 2005. — 23 с.
28. Aleman B. M., Belt-Dusebout A. W., Klokmann W. J. et al. Long-term cause-specific mortality of patients treated for Hodgkin's disease. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 3431–9.
29. Cosset J.-M., Hoppe R. T. Pulmonary Late Effects after Treatment of Hodgkin's Disease. In: *Hodgkin's Disease / Ed. by P. M. Mauch et al.* — Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. — P. 633–45.
30. Yahalom J. Principles, Indications, and Techniques of Radiation therapy of Lymphomas. In: *The Lymphomas (Second Edition) / Ed. by G. Canellos, T. A. Lister, B. Young, 2006.* — P. 203–24.
31. Redmann J. R., Bajorunas D. R., Goldstein M. C. et al. Semen cryopreservation and artificial insemination for Hodgkin's disease. *J. Clin. Oncol.* 1987; 5: 233–8.
32. Демина Е. А. Лимфогранулематоз. В кн.: *Клиническая онкогематология: Руководство для врачей / Под ред. М. А. Волковой.* — М.: Медицина, 2001. — С. 314–335.
33. Behringer K., Beeuez K., Remeke T. et al. Secondary amenorrhea after Hodgkin's lymphoma is influenced by age at treatment, stage of disease, chemotherapy regimen, and the use of oral contraceptives during therapy a report from the German Hodgkin's Lymphoma Study Group. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 7555–64.
34. Blumenfeld Z., Dann E., Avivi I. Fertility after treatment for Hodgkin's disease. *Ann. Oncol.* 2002; 13 (Suppl. 11): 138–1347.
35. Sklar C. Maintenance of ovarian function and risk of premature menopause related to cancer treatment. *J. Natl. Cancer. Inst. Monogr.* 2005: 25–7.
36. Howell S. J., Shalet S. M. Spermatogenesis after cancer treatment damage and recovery. *J. Natl. Cancer. Inst. Monogr.* 2005: 12–7.
37. Vose J., Constine L., Sutcliffe S. Other complications of the treatment of Hodgkin's disease. In: *Hodgkin's Disease / Ed. by P. M. Mauch et al.* — Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. — P. 661–71.
38. Viviani S., Santoro A., Ragni G. et al. Gonadal toxicity after combination chemotherapy for Hodgkin's disease. Comparative results of MOPP vs ABVD. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 1985; 21: 601–5.
39. Kreuser E. D. Impact of chemotherapy and radiation on gonadal and sexual functions in patients treated for malignant tumors. 21st ESMO Congress. — Vienna, Austria, 1996. — P. 79–83.
40. Bloom J. R., Fobair P., Gritz E. et al. Psychosocial outcomes of cancer: a comparative analysis of Hodgkin's disease and testicular cancer. *J. Clin. Oncol.* 1993; 11(5): 979–88.
41. Chapman M. Gonadal toxicity and teratogenicity. In: *The Chemotherapy Source Book / M. C. Perry (ed.).* — Baltimore: Williams & Wikins, 1992. — P. 710–53.
42. Пылова И. В., Демина Е. А., Перилова Е. Е., Шмаков П. Г. Беременность, роды и репродуктивная функция у женщин, больных лимфомой Ходжкина. *Практ. онкол.* 2007; 8(2): 102–8.
43. Konstantinidou P., Verrou E., Georgio E. et al. Prevalence of hepatitis B in with Hodgkin and non-Hodgkin's lymphomas. *Haematologia.* 2006; 91 (Suppl. 1): 267.
44. Socie G., Klingebiel T., Schwarze C. Late complications of HSCT. In: *Haemopoietic Stem Cell Transplantation / Ed. by J. Apperley et al.* — France, 2004. — P. 178–195.
45. Goodman K. A., Toner S., Hunt M. et al. Intensity modulated radiation therapy in the treatment of lymphoma involving the mediastinum. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005; 62: 198–206.

Реактивация вируса гепатита В при использовании ритуксимаба в терапии лимфопролиферативных заболеваний

В. М. Шерстнев [1], С. В. Лепков [2]

Hepatitis B virus reactivation due to the use of rituximab in the therapy of lymphoproliferative disorders

V. M. Sherstnev [1], S. V. Lepkov [2]

Keywords:

rituximab, hepatitis B virus reactivation, lymphoproliferative disorders, lamivudine.

[1] Russian State Medical University, Postgraduate Department of Oncology, Moscow

[2] Department of Hospital Therapy No. 2, Moscow

Контакты: vicont@list.ru

Принято в печать: 28.04.2008 г.

Ключевые слова

ритуксимаб, реактивация вируса гепатита В, лимфопролиферативные заболевания, ламивудин.

Началом новой эры в терапии лимфо-пролиферативных заболеваний было внедрение в клиническую практику **первого моноклонального антитела — ритуксимаба** (антитела к анти-CD20 антигену) [1]. Он показал свою эффективность в сочетании с безопасностью при CD20-позитивных лимфо-пролиферативных процессах на этапе доклинических исследований и был рекомендован к клиническому использованию. Применение ритуксимаба позволило увеличить частоту полных и частичных ремиссий и улучшить показатели выживаемости, что было продемонстрировано во многих клинических исследованиях.

Одной из работ, в которых была показана роль ритуксимаба в улучшении результатов терапии, было исследование В. Coiffier и соавт. [2]. В нем оценены результаты лечения 399 первичных пациентов в возрасте от 60 до 80 лет с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (GELA LNH-98.5). Пациенты были рандомизированы для получения стандартной или комбинированной терапии СНОР в сочетании с ритуксимабом. Показано, что после добавления ритуксимаба к схеме СНОР бессобытийная выживаемость по сравнению с достигнутой при СНОР-терапии повысилась с 37 до 57 % ($p < 0,001$), общая выживаемость — с 57 до 70 % ($p = 0,007$) при медиане периода наблюдения 2 года. При комбинированной терапии заметно увеличивается уровень ответа (полная ремиссия достигнута у 76 vs 63 % пациентов; $p = 0,005$), уменьшается частота рецидивов лимфомы (ре-

цидивы заболевания возникли у 15 vs 25 % пациентов; $p = 0,002$), уменьшается частота прогрессирования во время лечения (риск прогрессирования составил 9 vs 22 % в группе леченных без ритуксимаба; $p = 0,005$).

R. Marcus и соавт. подвели итоги международного рандомизированного исследования, в котором сравнивалась эффективность комбинированной химиотерапии по схеме R-CVP (ритуксимаб, циклофосфамид, винкристин, преднизолон) с результатами химиотерапии только по схеме CVP при лечении больных фолликулярной лимфомой [3]. В исследование вошел 321 первичный больной фолликулярной лимфомой III–IV стадии. Медиана времени наблюдения после окончания лечения составила 30 мес. Частота общей эффективности и частота полных ответов составили 81 и 41 % соответственно при терапии по схеме R-CVP по сравнению с 57 и 10 % при терапии по схеме CVP ($p < 0,0001$). При комбинированной терапии по схеме CVP в сочетании с ритуксимабом по сравнению с химиотерапией только CVP наблюдалось значительное увеличение времени без прогрессирования заболевания (32 мес. по сравнению с 15 мес.; $p < 0,0001$) и времени до необходимости следующего противоопухолевого лечения (не достигнуто и 12 мес. соответственно; $p < 0,0001$). В резюме публикации отмечается, что полученные данные позволяют рассматривать комбинацию ритуксимаба с химиотерапией в качестве нового стандарта первой линии терапии фолликулярных лимфом.

[1] Российский государственный медицинский университет, кафедра онкологии факультета усовершенствования врачей, Москва

[2] Кафедра госпитальной терапии № 2, Москва

Т. Е. Бялик и соавт. опубликовали данные исследования, в котором показана роль ритуксимаба в лечении пациентов с хроническим лимфолейкозом [4]. Добавление ритуксимаба к химиотерапии по схеме ФЦ (флударабин, циклофосфан) увеличило медиану общей выживаемости до 47,8 мес. (при ФЦ-терапии — 36,9 мес.), а медиана безрецидивной выживаемости составила 46,1 мес. (при ФЦ-терапии — 39 мес.).

Все это позволяет считать ритуксимаб важнейшим компонентом комплексной терапии больных лимфопролиферативными заболеваниями. Сейчас **ритуксимаб в сочетании с полихимиотерапией является стандартом в качестве первой линии лечения** неходжкинских лимфом и хронического лимфолейкоза.

Ритуксимаб представляет собой химерные анти-CD20 моноклональные антитела, обладающие способностью специфически связываться с трансмембранным антигеном CD20, экспрессируемым на нормальных и злокачественных В-лимфоцитах. Препарат вызывает комплемент-зависимую реакцию, результатом которой является апоптоз клеток, несущих антиген CD20 [5–7]. Терапия ритуксимабом ведет к уменьшению числа В-клеток вплоть до нулевого уровня [8–10].

На фоне широкого применения ритуксимаба у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями в мировой литературе стали появляться сообщения о клинических наблюдениях, описывающих тяжелые вирусные инфекции у больных, получавших такую терапию. I. Dervite и соавт. в 2001 г. **впервые сообщили о реактивации вируса гепатита В**, возникшей у больного с антителами к вирусу гепатита В (ВГВ) и получавшего лечение ритуксимабом [11]. S. Vento и соавт. отмечают, что одновременно с положительным лечебным эффектом схем противоопухолевой терапии, включающих ритуксимаб, у некоторых больных развивается реактивация ВГВ-инфекции, в результате которой может развиваться фульминантный гепатит с летальным исходом [12]. Такие случаи не являются частыми, но тяжесть и нередкий летальный исход этого осложнения не позволяют оставить его без внимания [7, 13–19].

Одной из причин наиболее частой реактивации именно ВГВ-инфекции является его широкая распространенность в мире: среди всех инфекционных болезней хронический гепатит В занимает 3-е место. По данным мировой статистики, около 400 млн человек являются хроническими вирусносителями (выявление HBsAg в сыворотке крови), что составляет около 5 % населения земного шара [20]. Для сравнения, число носителей вируса гепатита С составляет около 300 млн человек, а число ВИЧ-инфицированных приблизительно 65 млн.

Как известно, основой профилактики ВГВ-инфекции является активная вакцинация против ВГВ для создания гуморального иммунитета [20, 21]. В России благодаря внедрению в последние годы иммунизации с применением вакцин, содержащих рекомбинантный HBsAg, которой должны подвергаться все новорожденные, 13-летние подростки (ранее не прошедшие вакцинации) и лица группы риска, эпидемическая ситуация по ВГВ-инфекции несколько улучшилась, однако пока остается неблагоприятной. Кроме того, в России существует очень большая популяция старшего поколения, которой не проводилось вакцинации, а ВГВ-инфекция в этой популяции, как правило, становится случайной находкой в процессе обследования, проводимого для плановой госпитализации, и, в частности, при обнаружении новообразований, требующих хирургического или консервативного лечения.

Предметом нашего обзора явился анализ реактивации ВГВ-инфекции при лечении ритуксимабом больных лимфо-

пролиферативными заболеваниями, а также пути коррекции этого осложнения.

Механизм реактивации вирусной инфекции до конца не изучен, но высказываются предположения о ведущей роли выраженной В-лимфоцитопении. На фоне лечения ритуксимабом происходит резкое снижение количества В-клеток в крови. P. McLaughlin и соавт. показали, что уменьшение В-клеток в периферической крови происходит через 24–48 ч после первой инфузии ритуксимаба, а восстановление В-клеток начинается через 6–9 мес. после завершения терапии и достигает нормализации через 9–12 мес. [22]. В-лимфоциты после лечения ритуксимабом практически не определяются в течение очень длительного срока — в среднем 8,4 мес., в отдельных наблюдениях до 20,8 мес. [23]. Глубокое и длительное снижение количества В-клеток с течением времени может привести к недостаточному количеству плазматических клеток и, следовательно, к снижению интенсивности антителообразования с увеличением риска инфекций. M. Ghielmini и соавт. в своей работе показали снижение уровня иммуноглобулинов класса М (IgM) у пациентов, получавших длительную терапию ритуксимабом (86 и 72 % от исходного уровня после 3 и 12 мес. терапии соответственно) [24]. Таким образом, продолжительный период уменьшения В-клеток, обусловленный терапией ритуксимабом, приводит к угнетению гуморального иммунитета, что, в свою очередь, может увеличить частоту реактивации вирусных инфекций. При этом, как уже отмечалось, реактивация ВГВ-инфекции является одним из самых часто встречающихся случаев вирусной инфекции [6, 17, 25, 26]. **Время реактивации ВГВ-инфекции приходится на пик падения В-клеток** и составляет в среднем 5 мес. после начала лечения ритуксимабом.

Мы проанализировали данные современной литературы, в которых представлены клинические наблюдения реактивации ВГВ-инфекции на фоне или после терапии ритуксимабом.

S. Aksoy и соавт. приводят подробный анализ литературных данных об активации вирусных инфекций, связанных с лечением ритуксимабом, у пациентов с лимфомами [17]. Авторы обнаружили в англоязычной литературе 64 сообщения о тяжелой вирусной инфекции после лечения ритуксимабом. Медиана возраста больных в общей группе составила 61 год (от 21 до 79 лет), при ВГВ-инфекции — 53 года. Активация репликации ВГВ (39,1 %, 25 больных) встречалась наиболее часто, активация цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции составила 23,4 % (15 больных), вируса varicella-zoster — 9,4 % (6 больных), другие вирусные инфекции встретились в 28,1 % (18 больных) случаев. Медиана времени от начала лечения ритуксимабом до активации вирусной инфекции составила в среднем 5 мес. (от 1 до 20), при ВГВ-инфекции — в среднем 6 мес. (от 3 до 27). Отмечается, что только в 2 случаях ритуксимаб использовался в виде монотерапии, все остальные пациенты получали комбинированное лечение ритуксимабом и химиотерапией. Авторами отдельно рассматривается реактивация ВГВ-инфекции. Из 25 пациентов с ВГВ-инфекцией у 13 (52 %) до начала лечения определялся HBsAg, у 8 пациентов — только антитела к антигенам ВГВ (HBsAg-отрицательный статус) и у 4 пациентов HBsAg-статус был неизвестен до начала терапии ритуксимабом. 13 (52 %) из 25 заболевших пациентов умерли в результате острой печеночной недостаточности.

Второе место по частоте занимает активация ЦМВ-инфекции. Из 39 случаев всех других вирусных инфекций (не-ВГВ) 13 (33,3 %) пациентов умерли вследствие этих специфических инфекций. Авторы указывают, что в связи с высокой смертностью до начала терапии ритуксимабом не-

обходимы исследования, позволяющие своевременно обнаружить вирусную инфекцию и начать ее терапию. Авторы рекомендуют проводить тщательный мониторинг ВГВ- и ЦМВ-инфекций у пациентов, получающих ритуксимаб.

Как уже упоминалось, существует опасность реактивации ВГВ-инфекции не только у пациентов с HBsAg, но и в случаях обнаружения антител к антигенам ВГВ. Т. Seta и соавт. описали наблюдение, в котором у 59-летнего мужчины с диагнозом неходжкинская лимфома развился острый вирусный гепатит В после назначения ритуксимаба [19]. До начала противоопухолевой терапии при исследовании вирусных маркеров были обнаружены антитела к ВГВ (анти-HBs), но анализ на наличие в крови поверхностного антигена (HBsAg) был отрицательным. После комбинированной терапии (ритуксимаб + химиотерапия) повысилась активность аминотрансфераз и в крови пациента был обнаружен HBsAg. Несмотря на попытки коррекции острой печеночной недостаточности, пациент умер. Авторы считают, что в этом случае реактивацию ВГВ-инфекции вызвал ритуксимаб, т. к. анализ клинического течения показал, что активность аминотрансфераз у больного повысилась только после назначения ритуксимаба, применение же ранее только химиотерапии не вызывало неблагоприятных эффектов. Этот случай наглядно продемонстрировал опасность реактивации ВГВ-инфекции при лечении ритуксимабом, вплоть до летального исхода.

Похожее клиническое наблюдение описано J. Law и соавт. Ими была показана реактивация ВГВ-инфекции после химиотерапии по схеме ритуксимаб + СНОР [13]. В клинику поступил 67-летний мужчина с В-клеточной лимфомой. Перед химиотерапией в крови больного HBsAg не обнаружен, но присутствовали антитела к ядерному и поверхностному антигенам. На фоне лечения у больного развился фульминантный гепатит, и, несмотря на начатую терапию ламивудином, больной умер.

Эти два случая показывают возможность реактивации ВГВ-инфекции, которая может привести к летальному исходу, после химиотерапии, включающей ритуксимаб, даже у пациентов с отрицательным HBsAg, но положительными антителами к антигенам ВГВ.

Существуют предположения, что реактивация ВГВ-инфекции возможна вследствие иммуносупрессивной химиотерапии. Однако, скорее всего, применение ритуксимаба может быть более значимым фактором реактивации инфекционного процесса в случае с ВГВ. Подтверждением этого является работа G. Perceau и соавт., в которой авторы описывают случай поздней реактивации гепатита В с летальным исходом у больной с рецидивом индолентной лимфомы после монотерапии ритуксимабом [7]. E. Kimby объединил данные о 356 пациентах, получавших монотерапию ритуксимабом [27]. Частота всех инфекционных осложнений составила 30 %, инфекция вирусной этиологии — 3 % среди всех пациентов, что говорит о нечастой встречаемости этого осложнения.

Фатальная реактивация гепатита В реже встречается у больных, у которых выявлено присутствие мутантного рге-соге штамма ВГВ. Как известно, инфекция, обусловленная мутантными штаммами ВГВ, отличается более мягким течением в сравнении с инфекцией, обусловленной «диким» вариантом вируса, хотя описаны случаи тяжелого поражения печени, вызванного мутантными штаммами, а иногда встречались даже фульминантные формы [21]. Так, J. Zell и соавт. описали больного неходжкинской лимфомой и сопутствующим хроническим гепатитом В, которому проводилось лечение по схеме ритуксимаб + СНОР. На этом фоне развилась фатальная реактивация ВГВ-инфекции [28]. При обследо-

вании у пациента в крови обнаружены высокие титры ДНК ВГВ, генетический анализ (последовательности ДНК) выявил присутствие рге-соге мутанта. Этот пример показывает опасность реактивации инфекции, вызванной мутантным вариантом ВГВ на фоне терапии ритуксимабом.

Выбор наилучшей стратегии лечения больных лимфопрролиферативными заболеваниями с маркерами ВГВ-инфекции нелегко. Реактивация гепатита В ведет к увеличению интервалов между циклами химиотерапии, а иногда приводит к ее прекращению, т. е. к неадекватному лечению соответствующей злокачественной опухоли. Необходимо было найти **метод терапии, позволяющий предотвратить реактивацию ВГВ-инфекции**. Наиболее изученным в этом плане остается препарат ламивудин [29]. Ламивудин относится к группе нуклеозидных аналогов, он ингибирует ДНК-полимеразу ВГВ, вызывая прекращение синтеза цепи строящейся вирусной ДНК в инфицированных клетках [21]. Следует подчеркнуть, что интерферон, применяемый в терапии хронического гепатита В, несмотря на его доказанную эффективность при данной инфекции, не используется одновременно с химиотерапией в лечении онкогематологических больных в связи с таким нередким побочным эффектом интерферона, как панцитопения [30]. В отличие от интерферона ламивудин может применяться во время химиотерапии, т. к. механизм его действия обусловлен непосредственным влиянием на ВГВ при отсутствии цитотоксического действия на клетки человека [20].

Y. Tsutsumi и соавт. описали большую неходжкинской лимфомой, у которой развилась реактивация гепатита В после комбинированной терапии, включавшей ритуксимаб [9]. При поступлении в крови у пациентки обнаружены HBsAg и дополнительные антитела к антигенам ВГВ. После четвертого курса химиотерапии (и третьего введения ритуксимаба) у нее развилась острая печеночная недостаточность, а титры антител в сыворотке крови внезапно снизились. После применения ламивудина острая печеночная недостаточность была купирована.

Анализ современной литературы показал, что профилактическое использование ламивудина предотвращает реактивацию гепатита В во время химиотерапии, содержащей ритуксимаб.

G. K. Lau и соавт. провели исследование, целью которого было изучение роли HBeAg в течении ВГВ-инфекции и роли ламивудина в предотвращении реактивации этой инфекции [31]. Наличие в крови HBeAg и высокое количество ДНК ВГВ свидетельствуют об активной репликации вируса и циркуляции в крови множества полноценных жизнеспособных вирусов. Высказывалось мнение, что высокая вирусная нагрузка перед началом противоопухолевой химиотерапии может быть особенно значимым фактором риска реактивации вирусной инфекции. В исследование было включено 24 больных неходжкинскими лимфомами, у которых в крови присутствовал HBsAg, у некоторых из них одновременно определялся в крови HBeAg. Всем больным проводилась химиотерапия, из них у 6 был применен ритуксимаб одновременно с химиотерапией. До начала, в течение химиотерапии и после ее окончания всем назначался ламивудин в дозе 100 мг/сут. Медиана длительности терапии ламивудином составила 11,5 мес. Критерием постановки диагноза реактивации ВГВ-инфекции было 10-кратное повышение уровня ДНК ВГВ или более по сравнению с ее исходным уровнем перед химиотерапией. Результаты исследования показали, что не было значимых различий между группами больных с разным статусом HBeAg при проведении химиотерапии. Гепатит, связанный с реактивацией ВГВ-инфекции, развился у одного больного из группы с HBeAg-положительным ста-

тусом и ни у одного из группы HBeAg-отрицательных. Ни у одного из 6 больных, которые получали комбинированную терапию, включающую ритуксимаб, и противовирусную терапию ламивудином, не развилась реактивация ВГВ-инфекции во время химиотерапии.

Аналогичные данные о роли ламивудина в профилактике или лечении реактивации гепатита В у больных, которым проводилась терапия по поводу неходжкинских лимфом, получены М. Persico и соавт. [32]. Обследовано 550 больных (271 мужчина и 279 женщин) неходжкинскими лимфомами в возрасте от 38 до 67 лет и 148 лиц контрольной группы, страдающих метаболическими нарушениями. Из 550 больных неходжкинскими лимфомами у 21 (3,5 %) был обнаружен положительный HBeAg. Частота выявления по сравнению с контрольной группой достоверно не различалась (3,5 vs 1,3 %; различия недостоверны). Больных неходжкинскими лимфомами лечили различными терапевтическими режимами согласно стадии и варианту лимфомы. Вскоре после начала химиотерапии у 12 из 21 больного с положительным HBeAg произошла реактивация вирусного гепатита. Из них 9 пациентам проведено лечение ламивудином (100 мг/сут), 3 больных его не получали (период до внедрения ламивудина). У всех больных, леченных ламивудином, удалось подавить репликацию ВГВ, в то время как все 3 больных, которые не получали ламивудин, умерли от острой печеночной недостаточности. При этом 3 из 21 больного с положительным HBeAg профилактически назначали ламивудин во время химиотерапии и в течение 2 мес. после ее окончания. У всех трех никаких признаков реактивации гепатита В не выявлено.

Эти данные и другие литературные источники подтверждают эффективность ламивудина в профилактике и лечении реактивации ВГВ-инфекции [33–35]. По мнению авторов, заслуживает внимания тот факт, что при спонтанной реактивации ВГВ-инфекции у пациентов с неходжкинскими лимфомами и хроническим гепатитом В остановка репликации вируса иногда сохраняется даже после отмены ламивудина. Это значит, что возможно прерывистое назначение препарата только в период снижения показателей крови. Возможное объяснение такого режима терапии ламивудином объясняется тем, что репликация вируса у больных неходжкинскими лимфомами активируется на фоне иммуносупрессии, вызванной химиотерапией. Назначение в этот период ламивудина приводит к блокированию репликации ВГВ, поэтому не происходит реактивации ВГВ-инфекции. В дальнейшем применение ламивудина больше не требуется, т. к. восстановленный иммунный надзор снова обеспечивает противовирусную защиту против небольшой вирусной нагрузки.

Имеющиеся наблюдения показывают, что пациентам, которым планируется назначение ритуксимаба, **при выявлении любых маркеров инфекции ВГВ (HBeAg, антитела к ВГВ) необходимо назначение противовирусной терапии препаратами из класса аналогов нуклеозидов.** В настоящее время ламивудин не является единственным препаратом для терапии реактивации ВГВ, что связано с ростом резистентности к нему [38]. Резистент-

ность к ламивудину возникает в процессе лечения и связана с возникновением YMDD- или других мутаций ВГВ, вследствие чего препарат не подавляет репликацию вируса столь же эффективно, как в начале лечения [39]. Развитие резистентности свойственно всему классу аналогов нуклеозидов, но в меньшей степени выражено у препаратов следующего поколения, созданных также для лечения вирусного гепатита В, например энтекавир и телбивудин. Однако пока в доступной литературе сведений о применении этих препаратов у больных с лимфопролиферативными заболеваниями нами не найдено.

Важное значение имеет длительность проведения противовирусной терапии после завершения комбинированного лечения, включающего ритуксимаб. Учитывая медленную нормализацию числа В-клеток, которая достигает 20,8 мес. (в среднем 8,4 мес.), противовирусная терапия должна быть сходной продолжительности. К. Оно и соавт. приводят клинический пример, когда преждевременная отмена ламивудина привела к реактивации ВГВ-инфекции [15]. Реактивация ВГВ произошла после терапии по схеме ритуксимаб + СНОР, несмотря на превентивное назначение ламивудина, у пациентки с диффузной В-крупноклеточной лимфомой. Больная получила 8 циклов лечения по схеме ритуксимаб + СНОР в период с июля 2004 г. При обследовании перед началом терапии были выявлены серологические маркеры вируса гепатита В, однако уровень активности аминотрансфераз был в пределах нормы, что было расценено как латентное течение хронического гепатита В. Учитывая это, перед началом противоопухолевого лечения пациентке был назначен ламивудин перорально. Уровень ДНК ВГВ в крови: постепенно уменьшался и достиг неопределяемого порога в декабре 2004 г. Применение ламивудина было продолжено еще в течение 3 мес. после окончания противоопухолевой терапии и в сумме составило чуть менее года. 2 мес. спустя после прекращения терапии ламивудином пациентка вновь поступила с жалобами на общее недомогание. При обследовании обнаружены признаки печеночной недостаточности и повышение концентрации ДНК ВГВ в крови, таким образом, было диагностировано обострение хронического гепатита В. Немедленно была назначена терапия ламивудином и интерфероном. Уровень ДНК ВГВ в крови вскоре снизился, а функция печени восстановилась.

Этот пример показывает, что оптимальная продолжительность противовирусной терапии еще не определена. В отдельных сообщениях о реактивации ВГВ-инфекции после иммуносупрессивной терапии предлагают продолжать терапию ламивудином в течение не менее 4–6 мес. после химиотерапии [36, 37]. В другом исследовании больные, получившие полный курс лечения, принимали ламивудин в среднем 6 мес. (разброс от 1 до 34 мес.) [31]. Учитывая медленное восстановление нормального уровня В-клеток, которое может достигать 20 мес., после окончания противоопухолевого лечения, включающего ритуксимаб, предпочтительно назначение противовирусной терапии на этот срок. Возможно, имеет смысл проводить мониторинг уровня В-клеток для решения вопроса об отмене противовирусной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

- Schulz H., Klein S. K., Rehwald U. et al. Phase 2 study of combined immunochemotherapy using rituximab and fludarabine in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 100: 3115–20.
- Keating M. Combination therapy in CLL. *Leukemia*, 2000, Program and abstract book. — P. 26, abstr. S25.

- Marcus R., Imrie K., Belch A. et al. CVP chemotherapy plus rituximab compared with CVP as first-line treatment for advanced follicular lymphoma. *Blood* 2005; 105(4): 1417–23.
- Бялик Т. Е., Гривцова Л. Ю., Карселадзе А. И. и др. Некоторые прогностические факторы при современной терапии хронического лимфолейкоза. *Соврем. онкол.* 2006; 8(4).
- Fanale M. A., Younes A. Monoclonal antibodies in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *Drugs* 2007; 67(3): 333–50.

- Tsutsumi Y., Kawamura T., Saitoh S. et al. Hepatitis B virus reactivation in a case of non-Hodgkin's lymphoma treated with chemotherapy and rituximab: necessity of prophylaxis for hepatitis B virus reactivation in rituximab therapy. *Leuk. Lymphoma* 2004; 45(3): 627–9.
- Perceau G., Diris N., Estines O. et al. Late lethal hepatitis B virus reactivation after rituximab treatment of low-grade cutaneous B-cell lymphoma. *Br. J. Dermatol.* 2006; 155(5): 1053–6.

8. Roccatello D., Baldovino S., Rossi D. et al. Long-term effects of anti-CD20 monoclonal antibody treatment of cryoglobulinaemic glomerulonephritis. *Nephrol. Dial Transplant.* 2004; 19(12): 3054–61.
9. Aries P. M., Hellmich B., Voswinkel J. et al. Lack of efficacy of rituximab in Wegener's granulomatosis with refractory granulomatous manifestations. *Ann. Rheum. Dis.* 2006; 65: 853–8.
10. Specks U., Fervenza F. C., McDonald T. J. et al. Response of Wegener's granulomatosis to anti-CD20 chimeric monoclonal antibody therapy. *Arthr. Rheum.* 2001; 44: 2836–40.
11. Dervite I., Hober D., Morel P. et al. Acute hepatitis B in a patient with antibodies to hepatitis B surface antigen who was receiving rituximab. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344(1): 68–9.
12. Vento S., Cainelli F., Longhi M. et al. Reactivation of replication of hepatitis B and C viruses after immunosuppressive therapy: an unresolved issue. *Lancet Oncol.* 2002; 3(6): 333–40.
13. Law J. K., Ho J. K., Hoskins P. J. et al. Fatal reactivation of hepatitis B post-chemotherapy for lymphoma in a hepatitis B surface antigen-negative, hepatitis B core antibody-positive patient: potential implications for future prophylaxis recommendations. *Leuk. Lymphoma.* 2005; 46(7): 1085–9.
14. Yang S. H., Kuo S. H. Reactivation of hepatitis B virus during rituximab treatment of a patient with follicular lymphoma. *Ann. Hematol.* 2007 Oct 12.
15. Ono K., Iyama S., Matsunaga T. et al. Reactivation of hepatitis B virus due to rituximab plus CHOP after preemptive lamivudine administration in a patient with diffuse large B-cell lymphoma. *Gan To Kagaku Ryoho* 2007; 34(9): 1509–12.
16. Ennishi D., Terui Y., Yokoyama M. et al. Monitoring serum hepatitis C virus (HCV) RNA in patients with HCV-infected CD20-positive B-cell lymphoma undergoing rituximab combination chemotherapy. *Am. J. Hematol.* 2007 Aug 21.
17. Aksoy S., Harputluoglu H., Kilickap S. et al. Rituximab-related viral infections in lymphoma patients. *Leuk. Lymphoma.* 2007; 48(7): 1307–12.
18. Fernández F. J., de la Fuente Aguado J., Puerta Louro R. et al. Reactivation of hepatitis B after treatment with CHOP and rituximab. *Rev. Clin. Esp.* 2007; 207(4): 220.
19. Sera T., Hiasa Y., Michitaka K. et al. Anti-HBs-positive liver failure due to hepatitis B virus reactivation induced by rituximab. *Intern. Med.* 2006; 45(11): 721–4.
20. Хронический вирусный гепатит / Под ред. В. В. Серова, З. Г. Апросиной. — М.: Медицина, 2004.
21. Майер К.-П. Гепатит и последствия гепатита. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004. — 718 с.
22. McLaughlin P., Grillo-Lopez A. J., Link B. K. et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J. Clin. Oncol.* 1998; 16: 2825–33.
23. Kramm H., Hansen K. E., Gowing E. et al. Successful therapy of rheumatoid arthritis with rituximab. *J. Clin. Rheumatol.* 2004; 10: 28–32.
24. Ghilmini M., Schmitz S. F., Cogliatti S. et al. Effect of single-agent rituximab given at the standard schedule or as prolonged treatment in patients with mantle cell lymphoma: a study of the Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK). *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 705–11.
25. Tsutsumi Y., Tanaka J., Kawamura T. et al. Possible efficacy of lamivudine treatment to prevent hepatitis B virus reactivation due to rituximab therapy in a patient with non-Hodgkin's lymphoma. *Ann. Hematol.* 2004; 83: 58–60.
26. Hamaki T., Kami M., Kusumi E. et al. Prophylaxis of hepatitis B reactivation using lamivudine in a patient receiving rituximab. *Am. J. Hematol.* 2001; 68: 292–4.
27. Kimby E. Tolerability and safety of rituximab (MabThera). *Cancer Treat. Rev.* 2005; 31: 456–73.
28. Zell J. A., Yoon E. J., Ignatius Ou S. H. et al. Precure mutant hepatitis B reactivation after treatment with CHOP-rituximab. *Anticancer Drugs* 2005; 16(1): 83–5.
29. Tsutsumi Y., Kanamori H., Mori A. et al. Reactivation of hepatitis B virus with rituximab. *Expert Opin. Drug Saf.* 2005; 4(3): 599–608.
30. Leaw S. J., Yen C. J., Huang W. T. et al. Preemptive use of interferon or lamivudine for hepatitis B reactivation in patients with aggressive lymphoma receiving chemotherapy. *Ann. Hematol.* 2004; 83(5): 270–5.
31. Kim J. S., Hahn J. S., Park S. Y. et al. Long-term outcome after prophylactic lamivudine treatment on hepatitis B virus reactivation in non-Hodgkin's lymphoma. *Yonsei. Med. J.* 2007; 48(1): 78–89.
32. Persico M., De Marino F., Russo G. D. et al. Efficacy of lamivudine to prevent hepatitis reactivation in hepatitis B virus-infected patients treated for non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2002; 99(2): 724–5.
33. Clark F. L., Drummond M. W., Chambers S. et al. Successful treatment with lamivudine for fulminant reactivated hepatitis B infection following intensive therapy for high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Ann. Oncol.* 1998; 9: 385–7.
34. Picardi M., Selleri C., De Rosa G. et al. Lamivudine treatment for chronic replicative hepatitis B virus infection after allogenic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 21: 1267–9.
35. Matsuo K., Takenaka K., Shimomura H. et al. Lamivudine and glycyrrhizin for treatment of chemotherapy-induced hepatitis B virus (HBV) hepatitis in achronic HBV carrier with non-Hodgkin lymphoma. *Leuk. Lymphoma.* 2001; 41: 191–5.
36. Lau G. K., Yiu H. H., Fong D. Y. et al. Early is superior to deferred preemptive lamivudine therapy for hepatitis B patients undergoing chemotherapy. *Gastroenterology* 2003; 125(6): 1742–9.
37. Idilman R. Lamivudine prophylaxis in HBV carriers with haemato-oncological malignancies who receive chemotherapy. *J. Antimicrob. Chemother.* 2005; 55(6): 828–31.
38. Keeffe E. B., Dieterich D. T., Han S. B. et al. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States: an update. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2006. In press.
39. Mommeja-Marin H., Mondou E., Blum M. R., Rousseau F. Serum HBV DNA as a marker of efficacy during therapy for chronic HBV infection: analysis and review of the literature. *Hepatology* 2003; 37(6): 1309–19.



Случай развития острого мегакариобластного лейкоза (М7) у больной с клинической ремиссией множественной миеломы

С. Е. Созин, Г. Н. Салогуб

РЕФЕРАТ

A case of acute megakaryoblastic leukemia (M7) in patient with a clinical remission of multiple myeloma

S. Sozin, G. Salogub

Summary:

Acute megakaryoblastic leukemia is a rare and prognostic unfavorable variant of acute myeloid leukemia. As the incidence of this form is very low, no standard protocols of treatment are developed. Different induction and maintenance regimens of chemotherapy, hematopoietic stem cells transplantation are used.

We describe a case of acute megakaryoblastic leukemia development in patient with a clinical remission of multiple myeloma, this report is unique as we did not found such a case described before. We suggest a relationship between acute leukemia development and antecedent chemotherapy for multiple myeloma. The patient achieved clinical remission of acute leukemia, clinical remission of multiple myeloma also continues. Now the patient receives maintenance chemotherapy.

Keywords:

acute megakaryoblastic leukemia, multiple myeloma, chemotherapy-induced acute leukemia.

St. Petersburg State Pavlov Medical University, Faculty Therapy Clinic, Department of Hematology, St. Petersburg

Контакты: sergey_sozin@mail.ru

Принято в печать: 13 марта 2008 г.

Острый мегакариобластный лейкоз — крайне редкая, прогностически неблагоприятная разновидность острого миелоидного лейкоза. Ввиду низкой частоты встречаемости не разработано стандартных подходов к терапии данного заболевания, используются различные схемы индукционной и поддерживающей полихимиотерапии, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Мы описываем случай развития острого мегакариобластного лейкоза у больной с клинической ремиссией множественной миеломы; данное описание является уникальным, нами не найдено аналогичных случаев в мировой литературе. Можно предполагать связь между развитием острого лейкоза и предшествующей химиотерапией по поводу множественной миеломы. У больной достигнута клиничко-гематологическая ремиссия острого лейкоза, сохраняется ремиссия множественной миеломы, проводится поддерживающая полихимиотерапия.

Ключевые слова

острый мегакариобластный лейкоз, множественная миелома, химиоиндуцированный острый лейкоз.

ВВЕДЕНИЕ

Классификация Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2001 г. опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей содержит рубрику «Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) и миелодиспластический синдром (МДС), вызванный предшествующей терапией». Эта группа содержит две подгруппы: 1) ОМЛ и МДС, вызванный терапией алкилирующими агентами; 2) вызванный терапией ингибиторами топоизомеразы II.

В настоящее время описано развитие ОМЛ и МДС после химио- и лучевой терапии лимфомы Ходжкина, неходжкинских лимфом, множественной миеломы, истинной полицитемии, острого лимфобластного лейкоза, солидных опухолей молочной железы, яичников, яичек, а также после аутологичной и аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Причиной является исполь-

зование алкилирующих агентов (мелфалан, циклофосфамид, хлорамбуцил, бусульфан, CCNU), ингибиторов топоизомеразы II (антрациклины, к которым относятся доксорубин, даунорубин, идарубин, митоксантрон, и эпиподофиллотоксины, такие как этопозид), прокарбазина. Показано, что после терапии алкилирующими агентами развитию ОМЛ часто предшествует миелодиспластическая фаза, нередко встречаются цитогенетические аномалии хромосом 5 и 7, острый лейкоз развивается через 3–8 лет после терапии данной группой препаратов. Для ОМЛ, развивающегося после лечения ингибиторами топоизомеразы II, нехарактерна предлейкемическая фаза, типичны аномалии локуса 11q23, такие как t(9;11), t(19;11), t(4;11), продолжительность времени от лечения данной группой препаратов до дебюта вторичного ОМЛ составляет 2–3 года [1].

До сих пор остается спорным вопрос об эффективности стандартных

режимов полихимиотерапии по отношению к ОМЛ, вызванным предшествующей химио- и лучевой терапией. Традиционно считается, что эта разновидность ОМЛ чаще резистентна к стандартной терапии и имеет неблагоприятный прогноз. Вместе с тем в настоящее время показано, что прогноз при первичном и вторичном ОМЛ одинаков при сравнении сопоставимых по цитогенетическим, иммунофенотипическим, морфологическим маркерам и профилю множественной лекарственной резистентности групп пациентов [2, 3]. Однако нельзя не признать, что неблагоприятные прогностические маркеры все же чаще встречаются в группе вторичных ОМЛ, чем в группе ОМЛ *de novo*. По данным группы GIMEMA, показано отсутствие достоверных различий между первичными и вторичными ОМЛ по показателям частоты достижения клинико-гематологической ремиссии, общей и беспрогрессивной выживаемости [4].

Представляем вашему вниманию описание случая развития острого мегакариобластного лейкоза (М7) у больной с клинической ремиссией множественной миеломы, который мы наблюдали в нашей клинике.

Клинический случай

Женщина, 63 лет, была госпитализирована в СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова в декабре 2004 г. в связи с выраженным болевым синдромом в поясничной области. **При обследовании были выявлены следующие изменения:** анемия (Hb 97 г/л), количество лейкоцитов, тромбоцитов — в пределах нормы, повышение СОЭ до 66 мм/ч, гиперпротеинемия (общий белок 101 г/л), М-градиент, повышение IgG в сыворотке крови до 98 мг/мл (верхняя граница нормы (ВГН) — 18 мг/мл), повышение свободных κ-цепей в сыворотке крови до 96,11 мкг/мл (ВГН до 13), в моче до 17,42 мкг/мл (ВГН до 8), свободные λ-цепи в крови и моче были в пределах нормы, белок Бенс-Джонса в моче не выявлен, уровень креатинина был нормальным, отмечалась умеренная гиперкальциемия. На рентгенограммах плоских костей выявлены мелкие очаги остеодеструкции в костях свода черепа, признаки компрессионных переломов Th_{viii}, Th_{ix}, Th_x, Th_{xii}, L_{ii}, диффузный остеопороз в костях таза. В миелограмме плазматические клетки составили 18 %. **Диагностирована множественная миелома, IIIA стадия, вариант IgG-κ, диффузно-очаговая форма.**

В период с января по июль 2005 г. проведено 6 курсов полихимиотерапии VAD (винкристин 0,4 мг/м² в/в с 1-го по 4-й день в виде непрерывной инфузии, доксорубин 9 мг/м² в/в с 1-го по 4-й день в виде непрерывной инфузии, дексаметазон 40 мг перорально в 1–4, 9–12 и 17–20-й день; продолжительность одного цикла — 28 дней), вводилась зомета в дозе 4 мг 1 раз в месяц. **По результатам контрольного исследования была достигнута клиническая ремиссия по критериям SWAG [5], полный ответ по критериям EBMT [6].**

В период с июля 2005 г. по декабрь 2006 г. специфической терапии не получала, продолжалось введение зометы в дозе 4 мг в/в 1 раз в месяц. В декабре 2006 г. в связи с выраженной лейкопенией ($1,4 \times 10^9$ /л) выполнена аспирационная биопсия костного мозга. **Описание миелограммы:** нормоклеточный пунктат; бластоз (34 %); бласты представляют собой крупные клетки с округлыми уродливыми ядрами, плохо различимыми нуклеолами, базофильной цитоплазмой; в части бластов обнаружена отшнуровка тромбоцитов; гранулопоэз значительно сужен; эритропоэз с чертами мегалобластности, раздражен; увеличено количество мегакариоцитов, отшнуровка сохранена. Результаты цитохимического исследования бластов костного мозга: миелопероксидаза отрицательная в 100 % клеток, PAS слабоположительный диффузный в 81 % клеток.

По данным цитогенетического исследования костного мозга выявлена трисомия хромосомы 8 в 100 % метафаз. **По данным трепанобиопсии** из гребня подвздошной кости признаки поражения костного мозга при миеломе отсутствовали, картина не противоречила острому мегакариоцитарному лейкозу.

По данным проточной цитометрии картина костного мозга трансформирована, сохраненные лимфоциты составляют 25,5 %, гранулоциты — 37,5 %, сохраненные моноциты — 2,1 %. Значительную часть составляют клетки промежуточной гранулярности с промежуточным уровнем экспрессии CD45(+) — 34,9 %, соответствующие трансформированным клеткам, экспрес-

сия CD38(+) — 91,2 %, CD38(+)CD138(+) — 2 %, CD38(+)CD138(+)CD19(+) — 2 %, CD56(+) — 56 %, CD2(+)CD7(+) — 3,7 %, CD45dim(+)HLA-DR(+) — 97,6 %, CD13(+) — 18,4 %, CD33(+) — 90,3 %, CD15(+) — 89,5 %, CD15(+)CD33(+) — 87,4 %, гликофорин А — 24,8 %, CD45dim(+)CD34(+) — 4,1 %, CD45dim(+)CD117(+) — 6,3 %, CD41(+) — 69 %, CD61(+) — 69,8 %, CD42(+) — 91,5 %, CD61(+)CD13(+) — 53,7 %.

На основании полученных данных был установлен диагноз острый мегакариобластный лейкоз (М7).

В период с января по март 2007 г. в качестве индукционной терапии проведено два курса полихимиотерапии в режиме цитарабин + митоксантрон (цитарабин 1 г в сутки в/в с 1-го по 4-й день, митоксантрон 20 мг в/в с 1-го по 3-й день). **Уже после первого курса была получена клинико-гематологическая ремиссия** (описание миелограммы: нормоклеточный пунктат; бласты 0,6 %; гранулопоэз зрелый, несколько сужен; умеренный лимфоцитоз; незначительный моноцитоз; эритропоэз с чертами мегалобластности; достаточное количество мегакариоцитов, с отшнуровкой). С апреля 2007 г. по настоящее время в качестве консолидации ремиссии больная получает ротационные курсы полихимиотерапии по Бюхнеру в модификации. Цикл 1: цитарабин 100 мг/м² в/в каждые 12 ч с 1-го по 5-й день, доксорубин 45 мг/м² в/в на 3-й и 4-й день. Цикл 2: цитарабин 100 мг/м² в/в каждые 12 ч с 1-го по 5-й день, 6-меркаптопурин 100 мг/м² внутрь с 1-го по 5-й день. Цикл 3: цитарабин 100 мг/м² в/в каждые 12 ч с 1-го по 5-й день, циклофосфан 1 мг/м² в/в на 3-й день [7]. По данным цитогенетического исследования костного мозга, выполненного в мае 2007 г., отсутствуют клональные изменения, кариотип нормальный, 46,XX. **По данным контрольных обследований ремиссия по двум заболеваниям сохраняется до настоящего момента.** Таким образом, продолжительность ремиссии множественной миеломы в настоящее время составляет 29 мес., продолжительность ремиссии ОМЛ — 12 мес.

ОБСУЖДЕНИЕ

Информация относительно развития ОМЛ после терапии по поводу множественной миеломы весьма ограничена.

По данным D. E. Bergsagel и соавт., в группе пациентов с множественной миеломой, получавших полихимиотерапию, содержащую мелфалан, циклофосфамид, кармустин, частота развития ОМЛ составила 17,4 % к 50 мес. наблюдения [8].

По данным J. Suzick и соавт., у 648 пациентов с множественной миеломой, получавших терапию мелфаланом или циклофосфамидом, частота развития МДС/ОМЛ составила 10 % к 8 годам наблюдения. Была показана зависимость частоты развития ОМЛ от продолжительности терапии мелфаланом, а также достоверно более низкая частота развития ОМЛ в группе, получавшей циклофосфамид, по сравнению с группой, получавшей мелфалан [9].

Принципиальное отличие нашего случая от вышеописанных заключается в том, что больная не получала алкилирующих агентов при лечении множественной миеломы, однако она получала полихимиотерапию, содержащую антрациклины, которые также могут приводить к развитию химиоиндуцированных ОМЛ.

Нами не найдено описания развития М7-ОМЛ после химиотерапии по поводу множественной миеломы, однако очевидно, что в вышеуказанных работах, выполненных в 1970–1980-х годах, диагностические возможности и критерии диагностики значительно отличались от существующих в настоящее время и данный вариант ОМЛ мог оставаться неverified.

Безусловно, обращает на себя внимание сам факт развития М7-варианта ОМЛ, что является крайне редким случаем.

Острый мегакариобластный лейкоз впервые был описан как разновидность ОМЛ в 1931 г. [9] и был внесен во Франко-Американско-Британскую (FAB) классификацию ОМЛ в 1985 г. как М7-вариант [10]. Согласно классифика-

ции ВОЗ, острый мегакариобластный лейкоз — это острый лейкоз, при котором более 50 % бластных клеток являются клетками мегакариоцитарной линии. Точный диагноз может быть установлен только при иммунофенотипировании клеток костного мозга или периферической крови при обнаружении экспрессии тромбоцитарных гликопротеидов CD41 (GPIIb/IIIa), CD42 (GPIb), CD61 (GPIIa). Могут встречаться такие цитогенетические изменения, как t(1;22)(p13;q13), -3, 5q-, -5, -7, +8, +10, +21 и другие аномалии [12–15]. М7-вариант ОМЛ всегда ассоциирован с плохим прогнозом, часто встречается у детей (7–10 % случаев ОМЛ в детской популяции); дети с синдромом Дауна имеют повышенный риск развития данного заболевания. Крайне редко этот вариант ОМЛ встречается у взрослых (1 % всех ОМЛ) [12–15]. Из-за редкой встречаемости клинический опыт по лечению данной категории пациентов крайне мал.

По данным M. D. Anderson Cancer Center, в период с 1987 по 2003 г. в этом учреждении наблюдалось всего 37 пациентов с М7-ОМЛ (для сравнения, число пациентов, наблюдавшихся в данном центре со всеми формами ОМЛ, включая М7 и М3, было 1800). Средний возраст в группе М7-ОМЛ составил 56 лет (21–78 лет), у 22 (59 %) пациентов ранее был МДС или другое гематологическое заболевание (в данной выборке не было ни одного пациента, ранее страдавшего множественной миеломой), 7 (19 %) пациентов ранее получали химиотерапию по поводу других злокачественных заболеваний. Неблагоприятные цитогенетические маркеры встречались у 49 % пациентов. Частота достижения полной ремиссии в группе М7-ОМЛ равнялась 43 vs 57 % в группе не-М7-ОМЛ ($p = 0,089$). Общая выживаемость составила 23 vs 38 нед. ($p = 0,006$), безрецидивная выживаемость — 23 vs 52 нед. ($p < 0,001$) в этих группах соответственно. Данные относительно режимов терапии в этой публикации не представлены. По результатам исследования был сделан вывод о том, что М7-вариант ОМЛ является независимым неблагоприятным прогностическим фактором [13].

По данным группы GIMEMA, у 3603 пациентов с дебютом ОМЛ в возрасте старше 15 лет, наблюдавшихся группой в период с 1982 по 1999 г., было выявлено 24 (0,6 %) случая М7-варианта. 12 (50 %) пациентов достигли клинической ремиссии, 5 (21 %) — умерли во время индукционной химиотерапии, 7 (27 %) — не ответили на терапию. Средняя продолжительность клинко-гематологической ремиссии составила 35 нед. (показатель варьировал в пределах 10–441 нед.). 7 пациентам была выполнена ТГСК (1 аллогенная трансплантация костного мозга (ТКМ), 4 аутологичных ТКМ, 2 аутологичных трансплантации периферических стволовых клеток крови (ТПСКК)). Все наблюдаемые пациенты получали курсы полихимиотерапии в рамках клинических исследований, проводимых группой GIMEMA. 4 пациента умерли в клинко-гематологической ремиссии (один пациент — от инфекционных осложнений, не связанных с полихимиотерапией, два пациента — от осложнений, связанных с лекарственной токсичностью при выполнении ТГСК, один пациент — от аспергиллеза легких при выполнении ТГСК). При сравнении частоты достижения ремиссии в группе М7-ОМЛ и не-М7-ОМЛ достоверных различий не выявлено. Средняя продолжительность жизни в группе М7 составила 40 нед., 5-летняя общая выживаемость — 10 % [14].

По данным группы ECOG, среди 1649 пациентов с вновь диагностированным ОМЛ в период с 1984 по 1997 г., было выявлено 20 случаев М7-ОМЛ (1,2 %). Клинико-гематологическая ремиссия была достигнута у 10 (50 %) пациентов, средняя продолжительность жизни составила 10,4 мес. (данный показатель варьировал от 1 до 160 мес.) [15].

Таким образом, частота достижения клинко-гематологической ремиссии в группе пациентов М7-ОМЛ составляет около 50 % и достоверно не отличается от таковой при других формах ОМЛ на фоне стандартной индукционной терапии.

Вместе с тем практически все исследователи отмечают, что отдаленный прогноз у пациентов с М7-вариантом ОМЛ при использовании стандартных методов поддерживающей терапии является крайне неблагоприятным, что требует поиска новых подходов к лечению данной категории больных.

Недавно были представлены данные EBMT о группе пациентов с М7-ОМЛ, которым выполнялась ТГСК (37 аутологичных и 32 аллогенных трансплантаций) при достижении первой клинко-гематологической ремиссии. Общая 3-летняя выживаемость в этих группах составила 30 и 43 %, 3-летняя безрецидивная выживаемость — 27 и 46 % соответственно. По результатам этих исследований был сделан вывод о предпочтительном выборе аллогенной ТКМ в данной группе пациентов при достижении первой ремиссии заболевания [16].

По данным исследования EORTC-GIMEMA AML-10, в группе из 63 пациентов до 45 лет с различными формами ОМЛ и неблагоприятными цитогенетическими маркерами, которым была выполнена аллогенная ТКМ при достижении первой ремиссии, 4-летняя безрецидивная выживаемость составила 44 %. В аналогичной группе из 94 пациентов, которые не имели НЛА-совместимого донора и получали стандартную полихимиотерапию, 4-летняя безрецидивная выживаемость была 19 % [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из приведенных данных можно сделать вывод, что показатели безрецидивной выживаемости в группе М7-ОМЛ после выполнения аллогенной ТКМ существенно не отличаются от показателей в общей популяции ОМЛ после выполнения аналогичной процедуры. Таким образом, аллогенная ТКМ в настоящее время является наиболее эффективным методом лечения для данной категории больных при возможности выполнения трансплантации с учетом возраста, соматического статуса пациента, а также наличия материально-технической базы.

Возвращаясь к нашему случаю, можно отметить, что выполнение аллогенной ТГСК не представляется возможным ввиду отсутствия потенциальных НЛА-совместимых доноров, а также с учетом возраста больной. Агрессивная полихимиотерапия с целью консолидации ремиссии у данной больной также невозможна из-за длительных периодов миелосупрессии, требующей массивной гемотрансфузионной, антибактериальной, антимикотической поддерживающей терапии, применения колониестимулирующих факторов даже при проведении курсов полихимиотерапии малыми дозами цитостатиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Leone G., Mele L., Pulsoni A. et al. The incidence of secondary leukemias. *Haematologica* 1999; 84(10): 937–45.
2. Rowe J. M. Therapy of secondary leukemia. *Leukemia* 2002; 16: 748–50.
3. Kern W., Haferlach T., Schnittger S. et al. Prognosis in therapy-related acute myeloid leukemia and impact of karyotype. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 2510–1.
4. Pagano L., Pulsoni A., Vignetti M. et al. Secondary acute myeloid leukaemia: results of conventional treatments. Experience of GIMEMA trials. *Ann. Oncol.* 2005; 16(2): 228–33.
5. Alexanian R., Bonnet J., Gehan E. et al. Combination chemotherapy for multiple myeloma. *Cancer* 1972; 30: 382–9.
6. Blade J., Samson D., Reece D. et al., for the Myeloma Subcommittee of the EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplant). Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. *Br. J. Haematol.* 1998; 102: 1115–23.
7. Büchner T., Berdel W. E., Wörmann B. Treatment of older patients with AML. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2005; 56(2): 247–59.
8. Bergsagel D. E., Bailey A. J., Langley A. J. et al. The chemotherapy of plasma cell myeloma and the incidence of acute leukemia. *N. Engl. J. Med.* 1979; 301: 743–8.
9. Cuzick J., Erskine S., Edelman D. et al. A comparison of the incidence of the myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukaemia following melphalan and cyclophosphamide treatment for myelomatosis. *Br. J. Cancer* 1987; 55: 523–9.
10. Von Boros J., Korenyi A. Über einen fall von akuter megakaryocyblasten-leukämie, zugleich einige bemerkungen zum Problem der akuten leukämie. *Z. Klin. Med.* 1931; 118: 679–718.
11. Bennett J. M., Catovsky D., Daniel M. T. et al. Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megakaryocyte lineage (M7). A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann. Intern. Med.* 1985; 103: 460–2.
12. Paredes-Aguilera R., Romero-Guzman L., Lopez-Santiago N., Trejo R. A. Biology, clinical, and hematologic features of acute megakaryoblastic leukemia in children. *Am. J. Hematol.* 2003; 73(2): 71–80.
13. Oki Y., Kantarjian H. M., Zhou X. et al. Adult acute megakaryocytic leukemia: an analysis of 37 patients treated at M. D. Anderson Cancer Center. *Blood* 2006; 107(3): 880–4.
14. Pagano L., Pulsoni A., Vignetti M. et al. Acute megakaryoblastic leukemia: experience of GIMEMA trials. *Leukemia* 2002; 16(9): 1622–6.
15. Tallman M. S., Neuberg D., Bennett J. M. et al. Acute megakaryocytic leukemia: the Eastern Cooperative Oncology Group experience. *Blood* 2000; 96(7): 2405–11.
16. Garderet L., Labopin M., Gorin N. C. et al. Hematopoietic stem cell transplantation for de novo acute megakaryocytic leukemia in first complete remission: a retrospective study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood* 2005; 105(1): 405–9.
17. Suci S., Mandelli F., de Witte T. et al. Allogeneic compared with autologous stem cell transplantation in the treatment of patients younger than 46 years with acute myeloid leukemia (AML) in first complete remission (CR1): an intention-to-treat analysis of the EORTC/GIMEMAAML-10 trial. *Blood* 2003; 102(4): 1232–40.



РОЕМС-синдром (описание наблюдения и обзор литературы)

А. А. Клодзинский, В. В. Рыжко, О. М. Соркина, И. Б. Капланская, Е. А. Семенова, Е. Ю. Варламова, М. Ж. Александян, М. С. Сатаева

POEMS syndrome (a case report and literature review)

A. A. Klodzinskiy, V. V. Ryzhko, O. M. Sorkina, I. B. Kaplan-skaja, E. A. Semyonova, E. J. Varlamova, M. Z. H. Aleksanjan, M. S. Sataeva

Summary:

We present a case report of 42 years old woman, who suffered from POEMS syndrome for a long time. The effect of treatment combination of thalidomide and dexamethasone was unsuccessful. Immunosuppression and heavy infectious complications have led to a lethal outcome.

Keywords:

POEMS syndrome, polyneuropathy, monoclonal gammopathy, hepatomegaly, splenomegaly, primary hypothyroidism, primary hypogonadism, lymphadenopathy, plasmocytoma, thalidomide, dexamethasone.

Hematology Research Center, Moscow

Контакты: sajberex@gmail.com

Принято в печать: 19 мая 2008 г.

РЕФЕРАТ

Приводится обзор литературы и собственное наблюдение длительного течения РОЕМС-синдрома у пациентки 42 лет. Терапия талидомидом и дексаметазоном имела минимальный клинический эффект. Иммуносупрессия и тяжелые инфекционные осложнения привели к летальному исходу.

Ключевые слова

РОЕМС-синдром, полинейропатия, моноклональная гаммапатия, гепатомегалия, спленомегалия, первичный гипотиреоз, первичный гипогонадизм, лимфаденопатия, плазмоцитомы, талидомид, дексаметазон.

ВВЕДЕНИЕ

В 1956 г. старший медицинский регистратор Бристольской королевской больницы R. S. Crow описал двух больных с плазмоцитомой, у которых имела тяжелая полинейропатия в сочетании с рядом других признаков, включающих пигментацию кожи, симптом белых ногтей, лимфаденопатию, значительное снижение массы тела [1]. В обоих случаях при электрофорезе белков сыворотки крови М-градиент не выявлялся, протеинурия Бенс-Джонса также отсутствовала. Тем не менее однозначно исключить наличие моноклональной гаммапатии в каждом из описанных случаев на тот период времени было невозможно, поскольку еще не использовались более чувствительные методы идентификации моноклональных иммуноглобулинов и их фрагментов, позволяющие определить даже следовые количества.

R. S. Crow провел ретроспективную оценку клинической картины у всех пациентов с множественной миеломой, которые лечились в клинике за последние 5 лет, и пришел к заключению, что сочетание плазмноклеточной опухоли с полинейропатией не является большой редкостью, поскольку наблюдалось у 2 из 14 пациентов. Автор подчеркивал, что объяснить поражение

нервов первичным амилоидозом, который может сочетаться с миеломой и часто сопровождается полинейропатией, в данном случае нельзя, поскольку гистологическое исследование кожного мышечного лоскута и периферического нерва с окраской Конго-рот дало отрицательный результат. Гиперпигментация кожи, изменение цвета ногтей и другие симптомы были расценены автором как паранеопластические проявления, связанные с плазмоцитомой.

Клинические наблюдения, приведенные R. S. Crow, могли остаться казуистическими, если бы не японские исследования. В 1968 г. S. Shimpo наблюдал пациента с полинейропатией, плазмоцитомой и эндокринными нарушениями [2]. В 1974 г. K. Takatsuki и соавт. описали ассоциацию миеломы как с эндокринопатией, так и с гиперпигментацией кожи. Они впервые постулировали, что подобное сочетание может быть новым синдромом [3]. Позже ими был приведен подробный обзор 32 случаев заболевания.

Столь частое выявление данного синдрома у жителей японских островов привело к появлению одного из названий заболевания — японская системная болезнь, которое используется и отечественными авторами [4]. Однако, как показали более поздние исследования, частота встречаемости синдрома в

других этнических группах сопоставима с распространенностью у японцев [5, 6].

Для обозначения данного заболевания в 1980 г. Р. А. Bardwick и соавт. [7] предложили акроним POEMS, представляющий собой аббревиатуру, образованную из первых букв английских названий наиболее типичных признаков:

Polyneuropathy — полинейропатия;

Organomegaly — органомегалия;

Endocrinopathy — эндокринопатия;

M protein — М-градиент;

Skin changes — кожные изменения.

Звучность, простота и легкость запоминания аббревиатуры обеспечили ее широкое распространение в медицинской литературе, несмотря на то что в сокращении не получили отражения некоторые важные признаки, включающие склеротические изменения костей, частое наличие болезни Кастанелана, а также кахексию, водянку полостей, тромбоз. Несмотря на эти известные ограничения, данный акроним практически вытеснил более ранние эпонимические названия заболевания (синдром Crow—Fukase, болезнь Takatsuki).

Клиническая картина

Манифестация POEMS-синдрома обычно происходит в возрасте 40–50 лет [4]. Частота различных симптомов при POEMS-синдроме представлена на рис. 1 [8].

Периферическая полинейропатия — наиболее ранний и основной признак заболевания. Пациенты жалуются на зябкость и покалывание в ступнях, голенях. Позже присоединяются моторные нарушения, имеющие характер вялых парезов. В дальнейшем моторные нарушения преобладают над сенсорными. Поражение нервов верхних конечностей выражено в меньшей степени, чем нижних. Лишь у небольшой части пациентов имеется интенсивная нейропатическая боль.

В большинстве случаев заболевания отмечается медленное, в течение ряда лет нарастание слабости в ногах с постепенным развитием мышечной атрофии, особенно заметной выраженной в дистальных отделах. При гистологическом исследовании п. suralis выявляется картина первичной демиелинизации и аксональной дегенерации без признаков депонирования иммуноглобулинов или амилоидных отложений.

Органомегалия. Примерно у 50 % пациентов увеличены печень, селезенка, лимфатические узлы. Гепатомегалия может быть значительной и сочетаться с выраженным асцитом. Лимфаденопатия, как правило, генерализованная, в 11–24 % случаев обусловлена мультицентрическим вариантом ангиофолликулярной гиперплазии лимфатических узлов (болезнь Кастанелана) [5, 8]. Реже изменения в лимфатических узлах носят неспецифический, реактивный характер. Наиболее редко увеличение лимфоузлов при POEMS-синдроме обусловлено плазмцитомой.

Эндокринопатии. Нарушения функции желез внутренней секреции — характерная особенность POEMS-синдрома, обнаруживаются несколько чаще, чем органомегалия.

Поскольку патогенез POEMS-синдрома неизвестен и заболевание достаточно редко, имеются существенные методические трудности в определении круга характерных для заболевания эндокринопатий. Дополнительные сложности создает также высокая распространенность некоторых из них, например сахарного диабета типа 2 и гипотиреоза.

Наиболее подробно эндокринопатии при POEMS-синдроме были описаны А. Dispenzieri и соавт. [8], выявившими различную патологию желез внутренней секреции у 67 % пациентов, в структуре которой — гипогонадизм (55 %), гинекомастия или галакторея (18 %), нарушения в гипофизарно-надпочечниковой системе по типу надпочечниковой недостаточности (16 %). Гипотиреоз (чаще первичный) отмечен у 14 % пациентов, сахарный диабет и гиперпаратиреоз — в 3 %.

Расстройства функции половых желез наиболее часты и имеют важное клиническое значение, проявляясь эректильной дисфункцией у мужчин и нарушениями овариально-менструального цикла у женщин. Интересно отметить, что чаще всего при POEMS-синдроме невозможно определить вид недостаточности коры надпочечников. В тех случаях, когда дифференциация возможна, в основном диагностируется первичная недостаточность, при которой имеется характерная гиперпигментация кожи и слизистых оболочек, повышение уровня адренокортикотропного гормона (АКТГ) и снижение — глюкокортикоидных. У некоторых пациентов в дебюте POEMS-синдрома нарушения функционирования системы гипофиз—надпочечники отсутствуют и развиваются только при длительном течении заболевания.

Моноклональная плазмоклеточная пролиферация. Моноклональная секреция иммуноглобулинов имеется практически у всех пациентов. Ее особенностью является крайне низкий уровень, поэтому М-градиент при электрофорезе белков сыворотки выявляется лишь у 15–20 % пациентов. В остальных случаях для определения моноклональных иммуноглобулинов необходимы более чувствительные методы исследования, например иммунофиксация. Даже при наличии М-градиента уровень парапротеина, как правило, не превышает 20 г/л⁵. Количество плазматических клеток по данным цитологического исследования костного мозга также невелико (медиана около 5 %).

Кожные изменения. У 50–90 % пациентов выявляется гиперпигментация, напоминающая изменения цвета кожи при первичной надпочечниковой недостаточности. Весьма типичны изменения придатков кожи: огрубение волос, белые ногти. Огрубение волос особенно заметно у женщин и характеризуется изменением структуры пушковых волос, в основном на коже дистальных отделов конечностей. Волосы

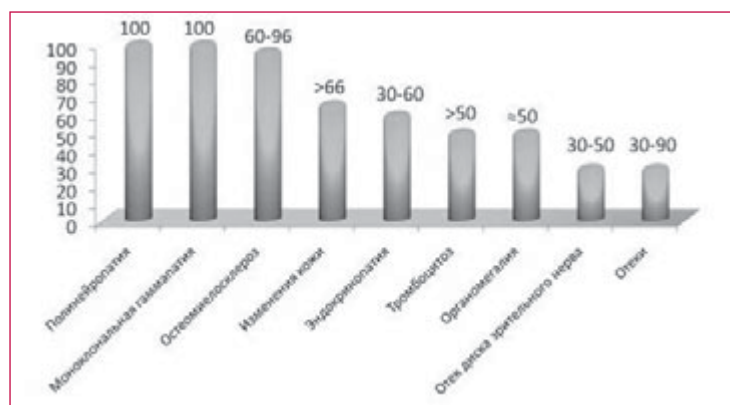


Рис. 1. Частота клинических симптомов (%) при POEMS-синдроме (99 пациентов, клиника Мейо, 1975–1998 гг.)

Таблица 1. Клинические и лабораторные признаки плазмоклеточных пролифераций, ассоциированных с периферической полинейропатией (по A. Dispenzieri, 2003–2008; с изменениями и дополнениями) [5, 8, 11, 12]

Признак	MGUS	POEMS	Множественная миелома	AL-амилоидоз*	Криоглобулинемия I, II типов	CD**
Периферическая полинейропатия, %	≈5	100	1–8	15–20	≈25	≈25
Преобладание сенсорного (S) или моторного (M) компонента	S	M	S	S	S	?
Органомегалия	–	++	+	++	++	++
Изменения кожи и ее придатков	–	++	+	++	+++	–
Другие симптомы	Нет	Отеки, астения, эндокринопатии, похудение	Боль в костях, астения	Астения, отеки, кардиомиопатия, нефротический синдром	Пурпура, артралгия, гепатит (HCV-инфекция), нефрит	Астения, похудение, лихорадка
Парапротеины	IgM > IgG > IgA	IgG > IgA > IgM	IgG > IgA	IgG > IgA > IgM	IgM > > IgG > IgA	–
Моноклональные легкие цепи	κ в 75 % случаев	λ в 95 % случаев	κ в 75 % случаев	λ в 75 % случаев	κ в 75 % случаев	–
M-градиент, г/л	< 30	Обычно < 20	Обычно > 30	Обычно < 20	Обычно < 20	–
Плазмциты в костном мозге, %	< 10	Обычно < 5	> 10	Обычно < 10	Обычно < 5	Обычно < 5
Очаги деструкции в костях	Нет	+++ (склеротические, склеротические + литические)	+++ (остеолитические очаги, остеопороз, переломы)	Нет	Нет	Нет
Тромбоцитоз	–	+	–	+(++)	+	–
Анемия	–	+	++	++	++	++

* AL-амилоидоз — амилоидоз, обусловленный отложением легких цепей иммуноглобулинов.

** CD — плазмоклеточный тип мультицентрической ангиофоликулярной гиперплазии лимфатических узлов (болезнь Кастанелана).

становятся более темными, длинными и жесткими. При этом визуально их количество может существенно не изменяться. Гирсутизм для POEMS-синдрома нехарактерен.

Симптом белых ногтей был описан при POEMS-синдроме еще в 1956 г. R. S. Snow. Он характеризуется тем, что на фоне потемнения кожи кистей отчетливо видны бледные ногтевые ложа. Механизм развития данного симптома неясен. При первичной надпочечниковой недостаточности у представителей белой расы также изменяется цвет ногтей, но они становятся не белыми, а коричневыми за счет гиперпигментации ногтевых пластинок. Поэтому выявление симптома белых ногтей одновременно с диффузной гиперпигментацией кожных покровов может иметь определенное дифференциально-диагностическое значение.

Более редки и менее специфичны плетора, акроцианоз, ангиоматоз, напоминающий поражение кожи при саркоме Капоши.

Другие симптомы. Среди прочих проявлений достаточно часто выявляются остеосклеротические изменения костей, иногда в сочетании с остеолитом и крайне редко — только очаговая резорбция. У 50 % пациентов можно обнаружить тромбоцитоз (до $500–600 \times 10^9/л$). Столь же часто встречается отек дисков зрительных нервов. Клинически важными проявлениями являются внесосудистые скопления жидкости — асцит, гидроторакс, реже гидроперикард, вероятно обусловленные гипоальбуминемией и повышенной сосудистой проницаемостью. В сочетании с выраженным снижением массы тела за счет потери жировой клетчатки и мышечной атрофией это придает пациентам характерный внешний вид.

Еще одним признаком заболевания, немаловажным для прогноза, является поражение дыхательной системы в виде легочной гипертензии, выраженность которой коррелирует с уровнем IL-1β, TNF-α, IL-6, VEGF, а также пневмофиброза, приводящего к выраженному снижению диффузионной способности легких.

Поражение почек в клинической картине не доминирует, но встречается часто. Характерна протинурия (81 % случаев) с потерей менее 2 г белка в сутки, более редка микрогематурия (30 % случаев), при длительном течении заболевания может развиться хроническая почечная недостаточность. При гистологическом исследовании биоптата почки обнаруживают эндартериитоподобные изменения в мелких артериях сосудистых клубочков.

Помимо васкулопатии при POEMS-синдроме в 20 % случаев возможно развитие тяжелых артериальных тромбозов различной локализации [9, 10].

Дифференциальный диагноз и диагностические критерии

Дифференциальный диагноз POEMS-синдрома включает полинейропатии, ассоциированные с моноклональной гаммапатией неопределенного значения (MGUS — от англ. monoclonal gammopathy of undetermined significance), множественной миеломой, мультицентрическим вариантом ангиофоликулярной гиперплазии лимфатических узлов, криоглобулинемией, первичным амилоидозом (табл. 1), а также хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию.

Спектр заболеваний, при которых полинейропатия сочетается с плазмоклеточными пролиферациями, достаточно широк, поэтому иммунохимическое исследование сыворотки крови и мочи необходимо во всех неясных случаях демиелинизирующей полинейропатии.

Системность поражения требует исключения диффузных заболеваний соединительной ткани, в первую очередь системной склеродермии, а также системных васкулитов с поражением мелких и средних сосудов. Выявление POEMS-синдрома облегчают диагностические критерии (табл. 2).

Таблица 2. Диагностические критерии POEMS-синдрома [11]

Большие критерии	Полинейропатия
	Моноклональная плазмоклеточная пролиферация (почти всегда λ)
	Склеротические изменения костей
	Болезнь Кастанелана
Малые критерии	Повышение VEGF
	Органомегалия (спленомегалия, гематомегалия или лимфаденопатия)
	Увеличение внесосудистого объема жидкости (отеки, плевральный выпот или асцит)
	Эндокринопатии
	Кожные изменения (гиперпигментация, гипертрихоз, гломерулоидная гемангиома, плетора, акроцианоз, шелушение, белые ногти)
Диагностические критерии	Отек диска зрительного нерва
	Тромбоцитоз/полицитемия
Диагноз является достоверным при наличии не менее трех больших критериев (причем полинейропатия и моноклональная гаммапатия являются обязательными) и одного малого.	

Прогноз

POEMS-синдром имеет длительное хроническое течение с медианой выживаемости в среднем 13,8 лет, что примерно в 4 раза выше по сравнению с выживаемостью при множественной миеломе [8].

Ключи к патогенезу

Этиология и патогенез POEMS-синдрома в настоящее время неизвестны. Более того, окончательно не решен вопрос, к какой группе относится заболевание — плазмноклеточным опухолям или диффузным заболеваниям соединительной ткани. Несколько характерных особенностей POEMS-синдрома, по мнению группы исследователей из клиники Мейо, являются ключами к его патогенезу. Во-первых, почти у всех пациентов при иммунохимическом исследовании сыворотки крови определяется легкая цепь иммуноглобулинов- λ . Во-вторых, во всех случаях заболевания выявляется увеличение уровня IL-6 и эндотелиального сосудистого фактора роста (VEGF). В-третьих, POEMS-синдром часто сочетается с остеосклеротической миеломой и/или ангиофоликулярной гиперплазией лимфатических узлов (болезнь Кастлемана).

Наличие моноклональной гаммапатии является, по всей видимости, обязательным для POEMS-синдрома, хотя в литературных данных по этому вопросу имеются некоторые противоречия. Французская группа по исследованию POEMS и исследователи из клиники Мейо предполагают, что это один из кардинальных признаков, встречающийся в 100 % случаев (чаще всего выявляется IgA λ или IgG λ) [4, 13]. В то же время японские авторы отмечали моноклональную секрецию лишь в 75–80 % случаев, а в 15 % случаев имела место поликлональная гипергаммаглобулинемия. Поскольку моноклональная секреция у большинства пациентов незначительна, в 31 % случаев ее можно обнаружить только при использовании метода иммунофиксации [7]. При этом в 4 % случаев даже с помощью иммунофиксации японские исследователи не смогли выявить моноклональную секрецию [14, 15].

Подобная диссоциация между выраженным мульти-системным поражением с характерной запоминающейся клинической картиной и при этом умеренной, даже скудной секрецией парапротеина позволяет предположить, что POEMS-синдром представляет собой заболевание, отличающееся от парапротеинемических гемобластозов. Несовпадение между степенью органных поражений и уровнем секреции парапротеина сближает POEMS-синдром с первичным амилоидозом, но в отличие от последнего при POEMS не обнаруживаются тканевые депозиты, включающие иммуноглобулины или их фрагменты.

Еще более явственно самостоятельность POEMS-синдрома прослеживается при анализе уровня плазменных цитокинов. Известно, что при множественной миеломе повышается уровень провоспалительных цитокинов. Однако у больных с POEMS-синдромом имеется статистически значимое повышение уровня IL-1 β , TNF- α , и IL-6 по сравнению с пациентами, страдающими множественной миеломой [16]. Наиболее часто при POEMS-синдроме обнаруживают увеличение уровня VEGF, причем его снижение на фоне успешной терапии предвещает хороший клинический ответ [17].

VEGF — один из членов семейства структурно близких между собой белков, которые являются лигандами для семейства рецепторов VEGF. VEGF влияет на развитие новых кровеносных сосудов (ангиогенез) и выживание незрелых кровеносных сосудов (сосудистая поддержка), связываясь с двумя близкими по строению мембранными тирозинкиназными рецепторами (рецептором-1 и рецептором-2 VEGF) и активируя их. Эти рецепторы экспрессируются клетками эндотелия стенки кровеносных сосудов. Связывание VEGF с рецепторами запускает сигнальный каскад, который в конечном итоге стимулирует рост эндотелиальных клеток сосудов, их выживание и пролиферацию. Высокая пролиферативная активность эндотелиоцитов приводит к их более быстрой гибели, своео-

бразному эндотелиозу, на фоне которого возможно развитие микротромбозов, обусловленных, с одной стороны, выбросом тромбогенных субстанций, содержащихся в эндотелиоцитах, а с другой — уменьшением местной эндотелийзависимой тромборезистентности. Все это в известной мере напоминает микроваскулит и может объяснить системность поражения и обязательное вовлечение периферической нервной системы, хотя, конечно, POEMS-синдром из-за отсутствия первичных воспалительных изменений в сосудах не может быть отнесен к классическим системным васкулитам.

Известно, что полинейропатия наблюдается при многих васкулитах, протекающих с поражением сосудов мелкого калибра, и связана с отложением иммунных комплексов в *vasa nervorum* и эпиневррии с последующей активацией моноцитов, высвобождением провоспалительных цитокинов и образованием хемоаттрактантов, миграцией нейтрофилов. Основная роль в развитии аксональной демиелинизации отводится ишемии, обусловленной клеточной инфильтрацией и тромбозом мелких сосудов, питающих нервы [18]. Кроме того, в связи с меньшей эффективностью гематоневрального барьера в сравнении с гематоэнцефалическим простое разрушение эндотелиальной выстилки в мельчайших *vasa nervorum* приводит к забарьерному проникновению свободных радикалов и матричных металлопротеиназ и разрушению миелина [19].

Важные для понимания патогенеза POEMS-синдрома данные приводят Y. Nakamoto и соавт., обнаружившие в мелких артериальных сосудах почек пролиферацию эндотелия со значительным сужением просвета (рис. 2), признаки мезангиолиза при отсутствии депозитов в субэндотелиальном пространстве [15].

Не менее интересно сопоставление клинической картины POEMS-синдрома и биологических эффектов IL-6. Этот провоспалительный цитокин, продуцируемый эндотелиальными клетками, моноцитами/макрофагами и активированными T-клетками, помимо эффектов, аналогичных IL-1 и TNF- α (дифференцировка B-клеток, трансформация в плазмочиты, гипертермия, стимуляция синтеза белков острой фазы печени, анорексия), способствует развитию тромбоза, увеличивает продукцию АКТИ, что может привести к гиперпигментации.

Остеосклероз и изменения в лимфатических узлах, подобные тем, которые имеют место при мультицентрическом варианте ангиофоликулярной гиперплазии, можно также рассматривать как следствие длительной провоспалительной гиперцитокинемии [20, 21].

Этиология POEMS-синдрома изучена еще меньше, чем патогенез. Из существующих теорий достаточно интересной и в какой-то мере убедительной является одна, рассматривающая в качестве основного этиологического агента вирус герпеса человека 8-го типа (HHV-8 — от англ. Human Herpes Virus 8 type).

Появление этой теории связано с выявлением случаев перекреста POEMS-синдрома с болезнью Кастлемана. Подобное сочетание имеет место, по данным разных авторов, в 11–24 % случаев [4, 9].

Ангиофоликулярная гиперплазия лимфатических узлов представляет собой неопухоловое заболевание, впервые описанное по странному стечению обстоятельств так же, как и POEMS-синдром, в 1956 г. группой исследователей из Бостона под руководством В. Castleman [22]. Название заболевания уже само по себе предполагает, что имеется фоликулярная гиперплазия лимфоузлов с патологически повышенной внутрифоликулярной васкуляризацией.

На основании клинических и радиологических данных в зависимости от объема поражения различают очаговую и

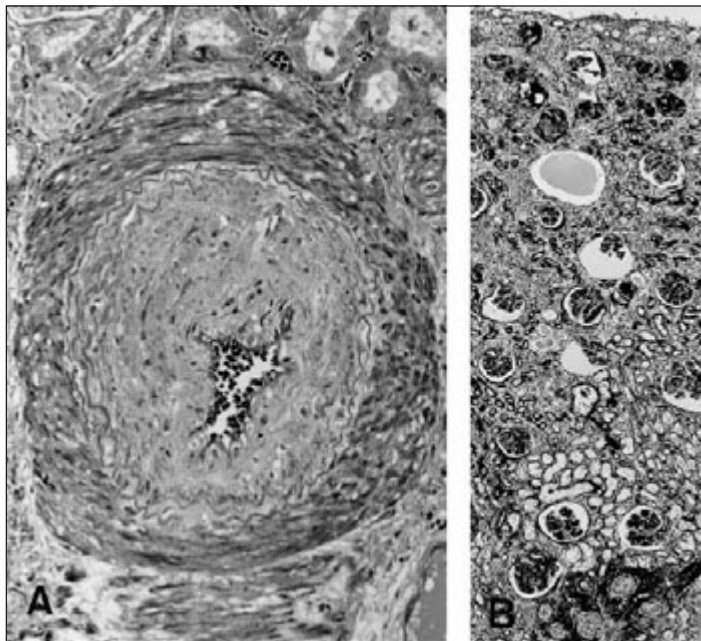


Рис. 2. Очаговое повреждение мелкой артерии и атрофия коркового слоя почки [15]:

А — значительная пролиферация интимы мелкого артериального сосуда с резким сужением просвета. Эластическая мембрана и мышечная оболочка сравнительно сохранены. $\times 200$; *В* — в результате атрофии коркового слоя почки наблюдается картина тубулоинтерстициального опустошения, сосудистые клубочки в подкапсульной зоне склерозированы, в средней зоне уменьшены в размерах из-за ишемии. В глубоких отделах коркового слоя выявляются увеличенные клубочки с изменениями, характерными для мембранопролиферативного нефрита. $\times 8$

мультицентрическую формы болезни. Гистологическое исследование пораженных лимфатических узлов позволяет выделить гиалиново-сосудистый и плазмочитарный варианты заболевания [23]. Ассоциация с РОЕМС-синдромом характерна для мультицентрической формы болезни Кастлемана. Важно отметить, что при ангиофоликулярной гиперплазии в 27 % случаев возможно развитие изолированной полинейропатии без других симптомов, характерных для РОЕМС-синдрома [7]. При мультицентрической форме обычно имеется распространенное увеличение лимфоузлов и в некоторых случаях гепатомегалия. Также наблюдаются симптомы интоксикации, включая выраженную усталость, вечерние поты, лихорадку, потерю массы тела, анорексию. Эти признаки связывают с повышенной продукцией IL-6 [24]. Гиперпродукция IL-6 также объясняет повышение СОЭ, уровня С-реактивного белка, фибриногена, тромбоцитов и гипергаммаглобулинемию. У пациентов обычно имеются отеки, малочувствительные к петлевым диуретикам, анемия и гипоальбуминемия.

В нескольких исследованиях было установлено, что при мультицентрической форме болезни Кастлемана HHV-8 определяется в 20–50 % случаев даже при отсутствии ВИЧ-инфекции, а при сочетании с ВИЧ-инфекцией частота выявления вируса HHV-8 повышается до 60–100 % [22].

HHV-8 относится к подсемейству γ -герпесвирусов, куда также входит вирус Эпштейна—Барр. Длительное время в англоязычной литературе его называли вирусом, ассоциированным с саркомой Капоши (KSHV — от англ. Kaposhi Sarkoma Herpes Virus). Универсальным свойством

γ -герпесвирусов является лимфотропность. Отличительная особенность HHV-8 — способность к продукции вирусного IL-6 (vIL-6). Аминокислотная последовательность vIL-6 на 50 % аналогична человеческому IL-6, он вызывает в организме сходные эффекты, благодаря способности образовывать гетеродимеры с IL-6R α и связываться с рецептором gp-130, который экспрессирован на фибробластах, клетках эндотелия и лимфоцитах [25]. Образующийся комплекс активирует Янус-киназу (JAK), фосфорилирующую белок STAT3 (от англ. signal transducer and activator of transcription — преобразователь сигнала и активатор транскрипции), который, в свою очередь, приводит к транскрипции и трансляции локализованного на 6p12 гена VEGF [26]. Таким образом, при HHV-8-инфекции повышается уровень VEGF и наблюдаются IL-6-зависимые эффекты (рис. 3). vIL-6 приводит к пролиферации В-клеток, увеличению фолликулов и гиперплазии лимфоузлов. Одновременно повышается продукция VEGF, вызывающего ангионеогенез, пролиферацию эндотелиоцитов и эндотелиоз. Экспрессия vIL-6 при болезни Кастлемана рассматривается как неблагоприятный прогностический фактор, увеличивающий риск развития неходжкинской лимфомы [27].

Изложив вирусную теорию патогенеза РОЕМС-синдрома, нам все же хотелось бы привести слова выдающегося отечественного клинициста Евгения Михайловича Тареева, настойчиво напоминавшего о том, что «инфекционная концепция является таким постоянно действующим магнитом, который отвлекает внимание врачей и крупных ученых от неинфекционного агента».

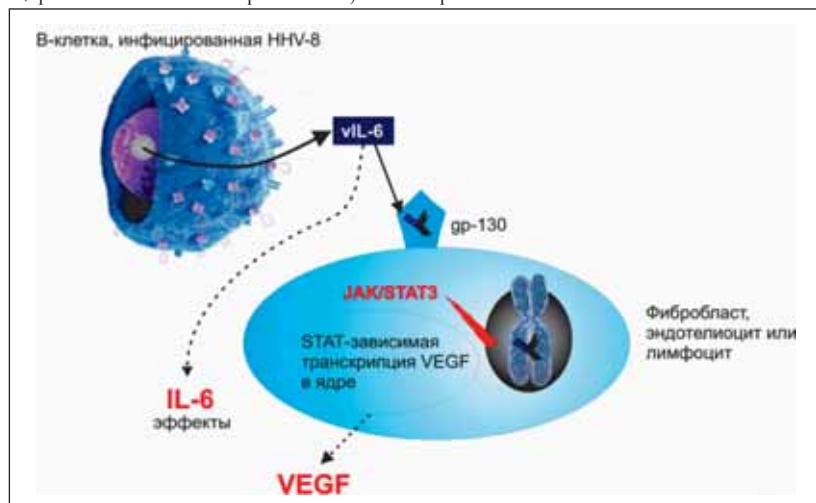


Рис. 3. Схема влияния HHV-8 на уровень VEGF [26] (объяснение в тексте)

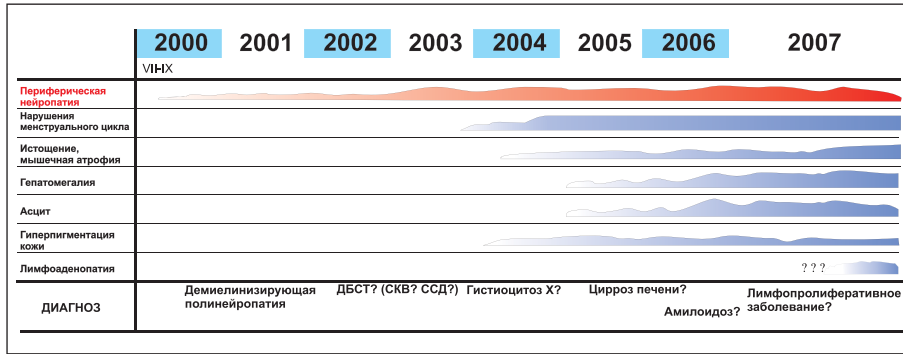


Рис. 4. Графологическая структура заболевания пациентки Ж.:

ДБСТ — диффузные болезни соединительной ткани; СКВ — системная красная волчанка; ССД — системная склеродермия

РОEMS-синдром относится к числу редких болезней. В зарубежной литературе описано немногим более 200 случаев, в отечественной — единичные. Возможно, это заболевание встречается чаще, чем диагностируется, в связи с плохой информированностью врачей различных специальностей, особенно неврологов, в поле зрения которых в первую очередь могут попасть эти пациенты. В этой связи приводим наше наблюдение.

Клинический случай

Пациентка Ж., 1965 г. р. В августе — сентябре 2000 г. обратила внимание на появление нарастающей слабости в ногах (рис. 4). Также имелись парестезии и нарушение чувствительности по типу носков. Была обследована в неврологическом стационаре, где на основании данных гистологического исследования икроножного нерва был установлен диагноз демиелинизирующей полинейропатии неясной этиологии. Проведенное лечение, включавшее витамины группы В и нейропротекторы, эффекта не имело. Слабость в нижних конечностях достигла такой выраженности, что пациентка не могла без посторонней помощи выйти из квартиры.

В конце 2003 г. у пациентки появились нарушения менструального цикла по типу олигоменореи. Несмотря на проводимую терапию препаратами женских половых гормонов, в конце 2004 г. констатировано развитие аменореи.

Одновременно с нарушениями менструальной функции появились изменения кожи: гиперпигментация, сухость. Изменилась структура пушковых волос, покрывающих конечности. Они стали толще и грубее, хотя их количество не увеличилось. Пациентка отмечала четкую хронологическую связь кожных изменений с другими проявлениями заболевания, в первую очередь с нарушениями менструального цикла.

Помимо изменений кожи и ее придатков внешний облик пациентки изменялся в связи со значительным снижением массы тела и мышечной атрофией, особенно ярко выраженной в массивах голеней и бедер.

С 2005 г. слабость в ногах достигла такой степени, что пациентка стала испытывать затруднения при подъеме с кровати. С этого же времени начал увеличиваться в объеме живот. При клиническом и ультразвуковом исследовании выявлены значительное скопление жидкости в брюшной полости, гепатомегалия и спленомегалия. Проведено несколько процедур лапароцентеза с эвакуацией до 2 л жидкости, но стойкого эффекта достичь не удалось. Асцит также был резистентен к комбинированной диуретической терапии.

Было заподозрено наличие у пациентки цирроза печени. Для решения вопроса о проведении трансплантации печени в октябре 2007 г. пациентка была госпитализирована в НИИ им. Н. В. Склифосовского. С целью верификации диагноза выполнена лапароскопическая биопсия печени. При гистологическом исследовании биоптата выявлены признаки гепатита умеренной активности, цирроз печени и амилоидоз исключены.



Рис. 5. Пациентка Ж., 42 лет:

А — общий вид; В — гиперпигментация кожи и огрубение волос; С — гиперпигментация кожи кистей и симптом белых ногтей; D — симптом «полой стопы» (стопа Фридрейха — высокий вогнутый свод стопы с переразгибанием пальцев в основных фалангах и сгибанием — в дистальных) и «бутылочных голеней»

Впервые обращено внимание на наличие у пациентки лимфаденопатии с увеличением до 1,5–2 см шейных, аксиллярных, паховых лимфатических узлов. Была осмотрена гематологом и для исключения лимфопролиферативного заболевания госпитализирована в Гематологический научный центр РАМН.

Состояние при поступлении тяжелое в связи с истощением (рис. 5). При росте 165 см масса тела 40 кг. Жировая клетчатка практически отсутствовала. Через истонченную кожу лица можно было видеть отдельные пучки мимических мышц.

Несмотря на то что основным поводом для госпитализации послужило выявление у пациентки лимфаденопатии, все же ведущим синдромом являлась сенсорно-моторная полинейропатия.

Поражение периферической нервной системы имело характер демиелинизирующей сенсорно-моторной полинейропатии с преобладанием моторных нарушений в виде тетрапареза преимущественно в дистальных отделах конечностей, более выраженного в ногах (сила в кисти D = 3,5 балла, S = 3 балла; в стопе D = S = 0,5 балла). Длительный вялый парез сопровождался развитием выраженной амиотрофии с характерными «бутылочными голеньями» и «полой стопой» (см. рис. 5).

Второй группой симптомов, имевших место у пациентки, были эндокринные нарушения. Помимо вторичной аменореи, характеризующейся значительным снижением продукции лютеинизирующего (0,2 мМЕ/мл при норме 11,3–39,8) и фолликулостимулирующего гормонов (0,35 мМЕ/мл при норме 21,7–153), у пациентки диагностирован первичный гипотиреоз (табл. 3).

Таблица 3. Результаты исследования гормонов щитовидной железы и тиреотропного гормона у пациентки Ж., 42 лет

Показатель	Результаты	Норма
Тиреотропный гормон	10,8 мкМЕ/мл	0,27–3,75 мкМЕ/мл
T ₄ общий	46,8 нмоль/л	55–170 нмоль/л
T ₄ свободный	6,0 нмоль/л	10–22 нмоль/л
T ₃ общий	0,1 нмоль/л	1,0–3,3 нмоль/л
T ₃ свободный	1,2 нмоль/л	1,9–5,7 нмоль/л

Клинически у пациентки имелись признаки, позволяющие предполагать первичную хроническую надпочечниковую недостаточность. В их числе — гиперпигментация кожи, выраженная общая слабость, артериальная гипотензия (АД 80/60 мм рт. ст.). Не противоречил предположению и повышенный уровень АКТГ (70,6 пг/мл при норме до 46). В то же время уровень кортизола оставался в пределах нормы (8.00 — 461 нмоль/л; 20.00 — 326 нмоль/л).

Ярко была представлена группа симптомов, связанных с изменениями кожи и ее придатков. Она включала гиперпигментацию, изменения структуры волос, ксеродермию, симптом белых ногтей (см. рис. 5).

Следующая группа симптомов, появившихся практически в одно время, включала гепатомегалию (по данным УЗИ левая доля печени — 160 × 60 мм (норма 100 × 60 мм); правая доля — 186 × 120 мм при норме 150 × 100 мм) и спленомегалию (размеры селезенки по данным УЗИ — 205 × 78 мм при норме 110 × 45), а также выраженный асцит. В то же время явных признаков печеночной недостаточности не наблюдалось. Имелась гипоальбуминемия (25–31 г/л), при этом уровень холестерина, протромбиновый индекс не выходили за границы нормы. Обращала на себя внимание диссоциация между степенью увеличения печени и уровнем биохимических показателей, характеризующих печеночную функ-

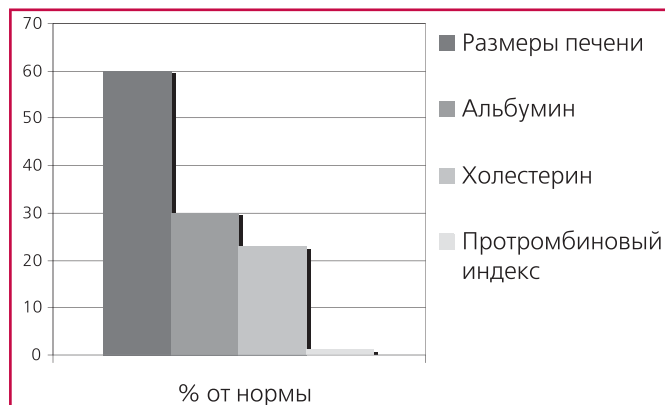


Рис. 6. Диссоциация между размерами печени и биохимическими показателями у пациентки Ж., 42 лет

цию (рис. 6). Вероятнее всего, в данном случае причиной гипоальбуминемии было не снижение белковосинтетической функции печени, обусловленное печеночной недостаточностью, а переключение на синтез белков острой фазы, т. к. у пациентки был повышен уровень С-реактивного белка, фибриногена, а при иммунохимическом исследовании выявлялось двукратное по сравнению с нормой увеличение фракций α_1 - и α_2 -глобулинов.

Помимо увеличения печени и селезенки у пациентки имелась генерализованная лимфаденопатия. Увеличенными были не только шейные, подмышечные и паховые лимфатические узлы, но и медиастинальные и забрюшинные, причем последние наиболее значительно (рис. 7).

Была проведена эксцизионная биопсия подмышечного лимфоузла справа. Гистологическая структура лимфатического узла оставалась сохранной. Определялось большое количество фолликулов с реактивными центрами. В парафолликулярных областях — пласты плазматических клеток (рис. 8 и 9). Особенностью гистологической картины была сосудистая реакция, выражавшаяся в пролиферации сосудов (рис. 10).

Цитологическое исследование костного мозга было малоинформативным («сухой прокол»). При гистологическом и иммуно-

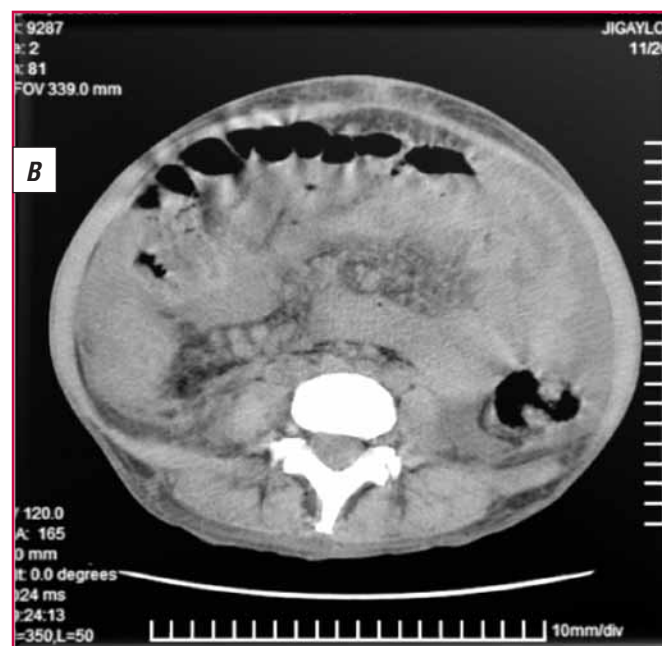


Рис. 7. Компьютерные томограммы:

A — грудной сегмент. Увеличение лимфоузлов верхнего средостения; B — брюшной сегмент. На фоне жидкости отдельные внутрибрюшные лимфоузлы, в забрюшинной клетчатке множественные забрюшинные лимфоузлы, часть в виде пакетов, размеры отдельных до 17,5 мм

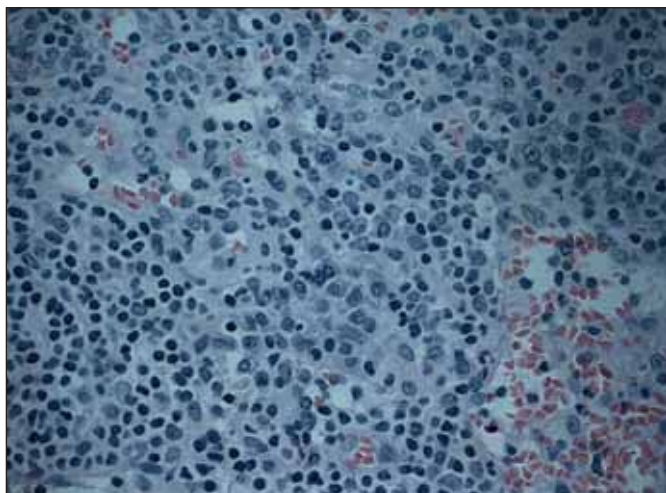


Рис. 8. Гистологический срез лимфатического узла (объяснение в тексте)

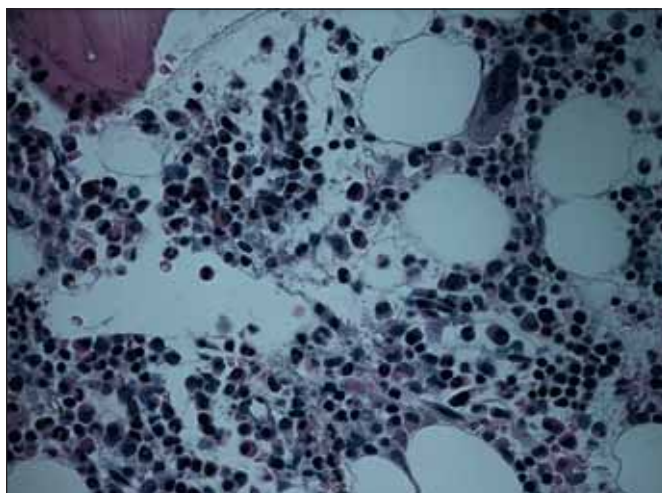


Рис. 11. Гистологический срез костного мозга (объяснение в тексте)

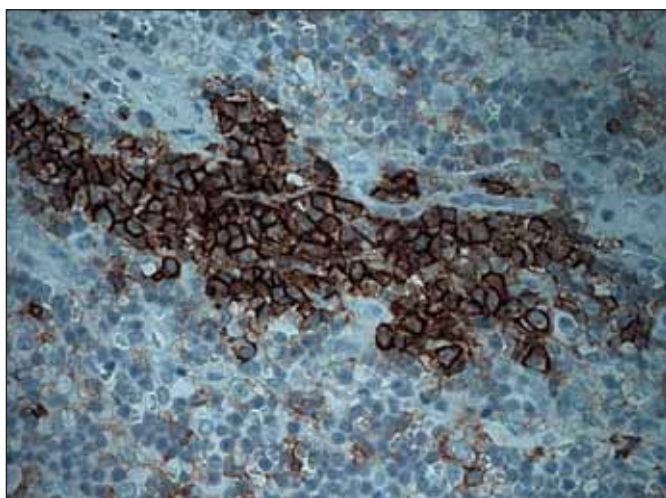


Рис. 9. Иммуногистохимический препарат лимфатического узла. Пероксидазный метод. Экспрессия CD38

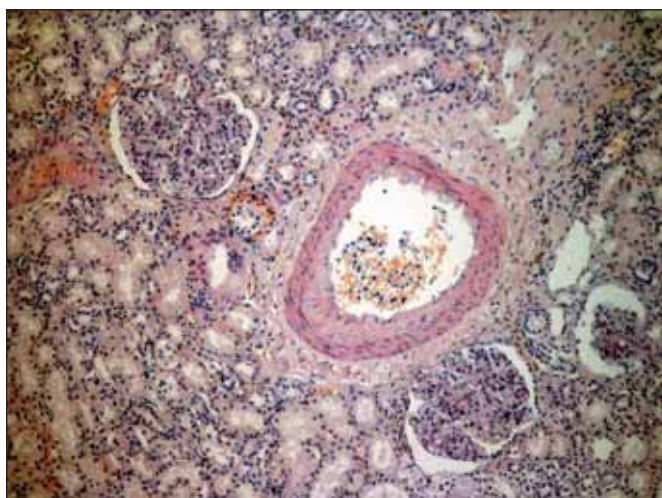


Рис. 12. Гистологический срез почек (объяснение в тексте)

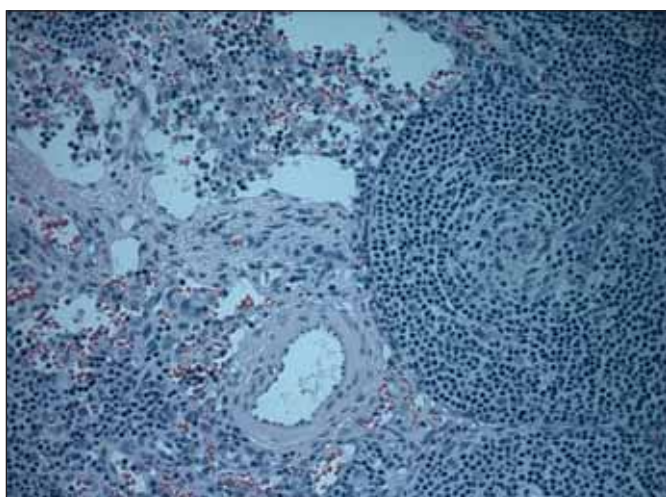


Рис. 10. Гистологический срез лимфатического узла (объяснение в тексте)

гистохимическом исследовании обращали на себя внимание очаговые скопления плазматических клеток на фоне несколько увеличенного количества зрелых лимфоцитов (рис. 11). Амилонидной инфильтрации в костном мозге не выявлено.

В целом выявленные изменения в лимфатическом узле и костном мозге не укладывались в картину специфического поражения при лимфопролиферативном заболевании и расценивались патогистологами как реактивные.

Характерная клиническая картина позволяла предполагать наличие у пациентки РОEMS-синдрома. Однако помимо демиелинизирующей полинейропатии вторым обязательным признаком является наличие моноклональной гаммапатии. Как в лимфатическом

узле, так и в костном мозге у пациентки определялись очаговые скопления плазматических клеток, но без явного преобладания экспрессии одной из легких цепей. При иммунохимическом исследовании сыворотки крови выявлена воспалительная диспротеинемия, уровень иммуноглобулинов был в пределах нормы, М-градиент, белок Бенс-Джонса не обнаружены. Отсутствие моноклональной секреции ставило под сомнение диагноз РОEMS-синдрома.

Длительность заболевания и его яркая клиническая картина практически исключали другие диагностические альтернативы, в связи с чем было проведено повторное целенаправленное иммунохимическое исследование сыворотки крови и при иммунофиксации выявлен $\text{PIgA}\lambda$ в следовых количествах.

Таким образом, у пациентки Ж. имелись два обязательных больших критерия РОEMS-синдрома (полинейропатия и моноклональная плазматическая пролиферация) и почти все малые: органомегалия (гепатоспленомегалия, генерализованная лимфаденопатия), полиэндокринопатия (первичный гипогонадизм, первичный гипотиреоз, хроническая надпочечниковая недостаточность), изменения кожи и ее придатков в виде гиперпигментации, кератоза, гипертрихоза, белых ногтей, внесосудистое скопление жидкости (асцит, отеки), а также тромбоцитоз (до $450 \times 10^9/\text{л}$). Для достоверного диагноза было необходимо наличие еще одного большого критерия. Из оставшихся трех больших критериев два отсутствовали: типичных склеротических изменений костей по данным рентгенографии и радионуклидного сканирования не выявлено, а уровень VEGF не исследовался. Только изменения, обнаруженные в лимфатическом узле, в известной степени можно было трактовать как Кастлеман-подобные и считать недостающим большим критерием, хотя в патологоанатомическом заключении они и не были отнесены к определенной нозологической форме.

После установления диагноза встал вопрос о выборе метода лечения. Надо сказать, что, несмотря на незначительный в сравнении с множественной миеломой уровень моноклональной секреции, лечение РОEMS-синдрома проводится по аналогичным

программам. При этом наиболее эффективным считается проведение высокодозной химиотерапии с последующей трансплантацией периферических стволовых клеток, хотя смертность при этом выше, чем у пациентов с множественной миеломой, но ниже, чем при AL-амилоидозе (амилоидоз, обусловленный отложением легких цепей иммуноглобулинов) [10]. Другими вариантами лечения является применение стандартных доз алкилирующих агентов и/или кортикостероидов.

С позиций цитокиновой теории патогенеза РОEMS рациональным может быть применение талидомида или леналидомида, способных вызывать анти-VEGF эффект. В литературе имеется описание случая драматического улучшения у пациента с РОEMS-синдромом на фоне лечения талидомидом [28].

В этой связи пациентке была начата терапия талидомидом в суточной дозе 100 мг в сочетании с преднизолоном 60 мг/сут в течение 7 дней с последующим снижением дозы со скоростью 5 мг/сут. Профилактика тромботических осложнений проводилась фраксипарином по 0,3 мл п/к.

На фоне лечения имелась незначительная положительная динамика в виде некоторого увеличения силы в конечностях. Пациентка крайне плохо переносила отмену кортикостероидов с развитием выраженного синдрома отмены, поэтому снижение дозы проводилось постепенно и дексаметазон был заменен на преднизолон.

Длительное пребывание в стационарах, иммуносупрессивная терапия способствовали развитию инфекционных осложнений. У пациентки последовательно развились тяжелая двусторонняя пневмония, катетерный грамположительный сепсис. С диагностической целью была проведена бронхоскопия, за которой последовала остановка сердечной деятельности. Реанимационные мероприятия были эффективны, но полностью сознание не восстановилось. В период нахождения в отделении реанимации присоединилась полирезистентная бактериальная и грибковая инфекция, предопределившая развитие резистентного септического шока и летальный исход.

По данным аутопсии лимфатические узлы основных групп увеличены: в корнях легких и в области бифуркации трахеи до 2,5 см в длину, в остальных группах (подмышечные, паховые, паратрахеальные, парааортальные, брыжечные, ворот печени и селезенки) до 1,5 см, мягкие, на разрезе серо-розовые. При гистологическом исследовании рисунок полностью сохранен. Фолликулы небольших размеров, без центров размножения, расположены в несколько рядов. Парафолликулярная зона расширена, отечна, клетки лежат рыхло. В ней имела место массивная пролиферация CD38+, CD138+, плазматических клеток. Основная масса этих клеток λ+, в небольшом количестве видны клетки κ+. Подобные изменения были локализованы в основном в забрюшинных лимфатических узлах. Специфического поражения костного мозга, селезенки не обнаружено. Практически во всех внутренних органах определялся склероз мелких артерий, периваскулярный склероз. Как видно на рис. 12, интима мелкой почечной артерии неравномерно утолщена, просвет сосуда сужен (ср. рис. 2).

Были выявлены макро- и микроскопические изменения в железах внутренней секреции: гиперплазия передней доли гипофиза, выраженная атрофия коры и гиперплазия мозгового вещества надпочечников, фиброз щитовидной железы, атрофия яичников, периваскулярный и перидуктальный фиброз в поджелудочной железе. При этом в гипофизе и надпочечниках определялась небольшая лимфоидная инфильтрация.

Значительные изменения имелись в легких в виде множественных очагов гнойной бронхопневмонии и в легочных сосудах (слабкий эритроцитоз, эритроцитарно-фибриновые тромбы).

Таким образом, при аутопсии у пациентки Ж., 42 лет, была обнаружена специфическая для плазмцитомы инфильтрация в забрюшинных лимфатических узлах. Кроме того, выявлены значительные морфологические изменения в железах внутренней секреции (гипофиз, надпочечники, яичники, щитовидная железа, поджелудочная железа) и распространенный склероз сосудов, преимущественно артерий мелкого калибра.

ОБСУЖДЕНИЕ

Внекостномозговые плазмцитомы встречаются практически во всех органах и могут быть как первичными, так и вторичными, связанными с прогрессией множественной миеломы. Это солидные образования, обычно локализующиеся в верхних дыхательных путях, желудочно-кишечном и мочепо-

ловом трактах, коже, легких. Первичная плазмцитомы лимфатического узла — редкая опухоль [29].

В приведенном клиническом наблюдении необычным является не столько локализация экстрамедуллярной плазмцитомы, поражающей забрюшинные лимфатические узлы (более характерно поражение шейных лимфоузлов) [27, 30], сколько ее сочетание с РОEMS-синдромом. Несмотря на то что в первом описании данного заболевания R. S. Crow связал его развитие с внекостномозговой плазмцитомой, в последующем исследователи чаще всего обнаруживали в лимфатических узлах при РОEMS-синдроме поликлональную пролиферацию, характерную для болезни Кастлемана, и только в единичных случаях — плазмноклеточную опухоль.

Имеются и более поздние описания сочетания плазмцитомы и РОEMS-синдрома. Например, Y. Takakura и соавт. (2003) наблюдали подобное сочетание у мужчины 66 лет, причем плазмноклеточная опухоль также обнаруживалась только в забрюшинных лимфатических узлах [31].

Возникает вопрос: почему в числе диагностических критериев РОEMS-синдрома отсутствует плазмцитомы? По аналогии с заболеваниями печени и цепочкой «гепатит → цирроз → рак печени» в данном случае может иметь место цепочка «поликлональная пролиферация В-клеток → ангиофолликулярная гиперплазия → лимфома/плазмцитомы». Развитие неходжкинских лимфом на фоне доказанной болезни Кастлемана — факт достаточно известный, хотя и нечастый: он может иметь место в 2–6 % случаев [32]. Высокая частота вирусных инфекций (HHV-8 и ВИЧ), ассоциированных с болезнью Кастлемана, еще больше сближает две цепи событий.

Опухолевая трансформация любой клетки — процесс многостадийный, поэтому в опухолях человека подчас находят более 10 мутаций. Возможно и одностадийное развитие опухоли, связанное с вирусными онкогенами. Количество генетических поломок находится в прямой зависимости от пролиферативной активности клеток, а способность системы репарации ДНК устранить эти поломки — в обратной.

В отличие от многих других клеток для В-лимфоцитов соматические перестройки ДНК являются нормальным явлением. Тем не менее обилие этих перестроек может создавать основу для онкогенных нарушений. В условиях неспецифической стимуляции пролиферативной активности провоспалительными цитокинами вероятность мутаций увеличивается. Поэтому обнаружение в данном клиническом наблюдении плазмноклеточной опухоли, учитывая длительность заболевания, вполне закономерно.

Прижизненное гистологическое исследование подмышечного лимфатического узла не позволило диагностировать плазмцитому, что можно объяснить отсутствием генерализации опухоли и ее преимущественной локализацией в забрюшинных лимфоузлах. Лимфатические узлы этой группы образовывали пакеты (до 17,5 мм по данным КТ), но при этом не были самыми крупными. Некоторые лимфатические узлы в области бифуркации трахеи достигали 25 мм.

Обнаружение у пациентки следовых количеств IgAλ — наиболее значительное подтверждение наличия у нее плазмноклеточной опухоли с небольшой опухолевой массой, ставшее краеугольным камнем диагноза. Учитывая важность этого признака для установления диагноза РОEMS-синдрома, можно предположить, что во всех случаях данного заболевания имеет место опухоль из плазмцитом или постфолликулярных лимфоцитов, но небольшое количество опухолевых клеток и очаговость поражения затрудняют ее выявление.

Эффективность при РОEMS-синдроме методов, применяемых в лечении миеломы, является еще одним дока-

зательством опухолевой природы заболевания. При этом наилучший клинический ответ может быть достигнут при использовании высокодозной терапии с последующей трансплантацией периферических стволовых клеток [10].

Многообразие клинических проявлений — одна из основных загадок РОEMS-синдрома. Удовлетворительное объяснение подобного многообразия на сегодняшний день отсутствует, но имеются предположения и аналогии. Если мы вновь обратимся к методу аналогий, то можем отметить, что при РОEMS-синдроме в отличие от множественной миеломы чаще имеется секреция легкой λ -цепи, что характерно и для первичного амилоидоза. Есть и другие сходства между РОEMS-синдромом и AL-амилоидозом: системность поражения, частое вовлечение периферической нервной системы, наличие отеков, тромбоцитоз. Однако кардинальное отличие, а именно отсутствие амилоидных отложений во внутренних органах, позволяет провести дифференциальную диагностику между этими заболеваниями.

Также неизвестно, каким образом связана секреция λ -цепей с повышением уровня IL-6 и VEGF при РОEMS-синдроме. Можно предположить, что парапротеины обладают какой-то специфической активностью по аналогии с vIL-6 при HHV-8-инфекции.

Повышение уровня провоспалительных цитокинов и «беспричинный», неадекватный, гипертрофированный и растянутый во времени системный воспалительный ответ составляют, вероятно, основу клинических проявлений РОEMS-синдрома, т. к. плазмоклеточная пролиферация и моноклональная секреция при клиническом исследовании никак себя не обнаруживают. Более того, нельзя исключить и возможность их развития уже на фоне длительной гиперцитокинемии.

Гипотетически развитие РОEMS-синдрома мы можем представить следующим образом: продолжительный неадекватный системный воспалительный ответ с увеличением уровня провоспалительных цитокинов (IL-6 и VEGF) приводит к пролиферации эндотелия с последующим развитием эндотелиоза и микротромбозов, вызывающих нарушение кровотока в *vasa nervorum*, ишемию, разрушение гистоневрального барьера и, в конечном итоге, демиелинизирующую полинейропатию. Изменения во внутренних органах развиваются позже. Увеличение печени и селезенки можно объяснить длительным воздействием провоспалительных цитокинов, в первую очередь TNF- α [32]. Под их влиянием в печени активно синтезируются белки острой фазы, увеличивается образование фибриногена. Одновременно в связи с дефицитом пластического материала, вызванным повышенным его потреблением и пониженным поступлением (снижение аппетита), уменьшается образование «негативных» реактантов острой фазы, к числу которых относятся альбумин, преальбумин, трансферрин [33]. Вследствие гипоальбуминемии снижается онкотическое давление и развиваются отеки.

Кроме того, при гистологическом исследовании практически во всех внутренних органах у пациентки была выявлена васкулопатия в виде склероза мелких артериальных сосудов, которая могла приводить к ишемии и последующему развитию функциональной недостаточности.

Длительный системный воспалительный ответ является стрессорным фактором, приводящим к напряжению стрессореализующих систем. Гипертрофия передней доли гипофиза и мозгового вещества надпочечников при атрофии их коры,

выявленные на аутопсии, могут рассматриваться как морфологическое подтверждение подобного перенапряжения. Как уже отмечалось ранее, IL-6 повышает выработку АКТГ, в результате чего увеличивается продукция глюкокортикоидных гормонов, снижающих продукцию IL-6 по принципу обратной отрицательной связи. Нарушения менструального цикла в условиях хронического стресса — достаточно известный факт (например, «амеория военного времени»).

Изменения кожи и ее придатков развивались у пациентки параллельно с эндокринными нарушениями и, очевидно, являлись их следствием. Увеличение продукции АКТГ приводит к повышению синтеза проопиомеланокортина, который является источником мелатонина, способствующего гиперпигментации. Стимуляция сетчатой зоны коры надпочечников увеличивает выработку мужских половых гормонов, которые могут способствовать изменению структуры волос, привести к нарушению менструальной функции.

Необходимо отметить, что фенотипические проявления эндокринопатий, имевшихся у пациентки, все же необычны. В отличие от изменений кожи при первичной надпочечниковой недостаточности гиперпигментация кожи у пациентки не сопровождалась потемнением слизистых оболочек, а ногти, наоборот, имели белый цвет. Если при гиперандрогемии характерно изменение структуры волос в виде увеличения их жесткости, то одновременно развивается и гирсутизм, тогда как у пациентки огрубение волос не сопровождалось нарушениями их роста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенный клинический пример показателен тем, что демонстрирует длительное (более 7 лет) естественное течение РОEMS-синдрома с постепенным разворачиванием картины мультисистемного поражения. К моменту диагностики заболевания у пациентки имелось большинство из известных симптомов, характерных для РОEMS-синдрома.

На основании анализа клинического наблюдения и литературных данных можно сделать несколько выводов, важных для практического врача.

1. Во всех случаях демиелинизирующей полинейропатии неуточненной этиологии, особенно при выраженных моторных нарушениях и сочетании с системными поражениями, необходимо иммунохимическое исследование крови и мочи с обязательным использованием метода иммунофиксации.
2. Во всех случаях, подозрительных на РОEMS-синдром, необходимо исключить AL-амилоидоза.
3. Учитывая высокую частоту артериальных тромбозов при РОEMS-синдроме, вероятно связанных с особенностями его патогенеза (васкулопатия, эндотелиоз), в план терапии заболевания необходимо включать антикоагулянты.
4. Лечение РОEMS-синдрома, даже в отсутствие подтвержденной плазмцитомы или остеосклеротической миеломы, проводится по тем же схемам, что и при множественной миеломе, однако ответ на терапию хуже.

Что мы знаем о РОEMS-синдроме? На сегодня немного. Пожалуй, самое главное — это то, что РОEMS-синдром является совершенно особым заболеванием, протекающим с моноклональной гаммапатией, но клинически резко отличающимся от всех известных парапротеинемических гемобластозов и AL-амилоидоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Crow R. S. Peripheral neuritis in myelomatosis. Br. Med. J. 1956; 2: 802–4.
2. Shimpo S. Solitary myeloma causing polyneuritis and endocrine disorders. Nippon Rinsho 1968; 10: 2444–56.
3. Takatsuki K., Yodoi J., Wakisaka K. et al. Plasma cell dyscrasia with polyneuritis and an endocrine anomaly: endocrinological study of a new syndrome. Nippon Rinsho 1974; 50: 567.
4. Гордеев А. В., Мухоморова З. Ю. Японская системная болезнь (POEMS-синдром). Тер. арх. 2006; 12: 7–9.
5. Dispenzieri A. POEMS Syndrome. Hematology 2005; 1: 360–7.
6. Leite A. C., Nascimento O. J., Lima M. A. et al. POEMS (polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M protein, skin lesions) syndrome: a South America's report. Arq. Neuropsiquiatr. 2007; 65: 516–20.
7. Bardwick P. A., Zvaifler N. J., Gill G. N. Plasma cell dyscrasia with polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M protein, and skin changes: the POEMS syndrome. Report on two cases and a review of the literature. Medicine (Baltimore) 1980; 4: 311–22.
8. Dispenzieri A., Kyle R. A., Lacy M. Q. et al. POEMS syndrome: definitions and long-term outcome. Blood 2003; 101: 2496–506.
9. Lesprit P., Authier F. J., Gherardi R. et al. Acute arterial obliteration: a new feature of the POEMS syndrome? Medicine 1996; 75: 226–32.
10. Dispenzieri A., Moreno-Aspitia A., Suarez G. A. et al. Peripheral blood stem cell transplantation in 16 patients with POEMS syndrome, and a review of the literature. Blood 2004; 104: 3400–7.
11. Dispenzieri A. Castleman disease. Cancer Treat. Res. 2008; 142: 293–330.
12. Dispenzieri A. POEMS syndrome. Blood Rev. 2007; 21(6): 285–99.
13. Soubrier M. J., Dubost J. J., Sauvezie B. J. POEMS syndrome: a study of 25 cases and a review of the literature. French Study Group on POEMS Syndrome. Am. J. Med. 1994; 97: 543–53.
14. Nakanishi T., Sobue I., Toyokura Y. et al. The Crow-Fukase syndrome: a study of 102 cases in Japan. Neurology 1984; 34: 712–20.
15. Nakamoto Y., Imai H., Yasuda T. et al. A spectrum of clinicopathological features of neuropathy associated with POEMS syndrome. Nephrol. Dial. Transplant. 1999; 14: 2370–8.
16. Gherardi R. K., Belec L., Soubrier M. et al. Overproduction of proinflammatory cytokines imbalanced by their antagonists in POEMS syndrome. Blood 1996; 87: 1458–65.
17. Watanabe O., Maruyama I., Arimura K. et al. Overproduction of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is causative in Crow-Fukase (POEMS) syndrome. Muscle Nerve 1998; 21: 1390–7.
18. Pagnoux C., Guillevin L. Peripheral neuropathy in systemic vasculitides. Curr. Opin. Rheumatol. 2005; 17: 41–8.
19. Черный В. И., Шраменко Е. К., Бувайло И. В. и др. Демиелинизирующие заболевания нервной системы и возможности дифференцированной терапии в остром и подостром периодах. Межд. неврол. журн. 2007; 3(13): 5–14.
20. Dinarello C. A. Anti-cytokine strategies. Eur. Cytokine Netw. 1992; 3: 7.
21. Yoshizaki K., Matsuda T., Nishimoto N. et al. Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castleman's disease. Blood 1989; 74: 1360.
22. Castleman B., Iverson L., Menendez V. P. Localized mediastinal lymphnode hyperplasia resembling thymoma. Cancer 1956; 9(4): 822–30.
23. Меликян А. Л., Капланская И. Б., Корнева Е. П., Франк Г. А. Болезнь Кастлемана. Тер. арх. 2005; 7: 48–53.
24. Sarrot-Reynauld F. Castleman's disease. Orph. Encycl. 2001: 1–4.
25. Bollen J. M., Polstra A. M., Kuyl A. C. et al. Multicentric Castleman's disease and Kaposi's sarcoma in a cyclosporin treated, HIV-1 negative patient: case report. BMC Blood Disorders 2003; 3: 3.
26. Casper C. The aetiology and management of Castleman disease at 50 years: translating pathophysiology to patient care. Br. J. Haematol. 2005; 129(1): 3–17.
27. Menke D. M., Chadburn A., Cesarman E. et al. Analysis of the human herpesvirus 8 (HHV-8) genome and HHV-8 vIL-6 expression in archival cases of Castleman disease at low risk for HIV infection. Am. J. Clin. Pathol. 2002; 117(2): 268–75.
28. Sinisalo M., Hietaharju A., Sauranen J., Wirta O. Thalidomide in POEMS syndrome: case report. Am. J. Hematol. 2004; 76: 66–8.
29. Lim Y. H., Park S. K., Oh H. S. et al. A case of primary plasmacytoma of lymph nodes. Korean J. Intern. Med. 2005; 20(2): 183–6.
30. Horny H. P., Menke D. M., Kaiserling E., Steinke B. Primary plasmacytoma of the lymph node (plasmocytic lymphoma). The differential diagnosis of nodal plasma-cell proliferates. Dtsch. Med. Wochenschr. 1995; 120(50): 1734–8.
31. Takakura Y., Yamaguchi Y., Miyoshi T. A case of Crow-Fukase syndrome with extramedullary plasmacytoma: marked clinical deterioration following a biopsy to plasmacytoma. Rinsho Shinkeigaku 2003; 43(4): 170–5.
32. Gherardi R. K., Blec L. B., Soubrier M. et al. Overproduction of Proinflammatory Cytokines Imbalanced by Their Antagonists in POEMS Syndrome. Blood 1996; 87(4): 1458–65.
33. Шевченко О. П. Белки острой фазы воспаления. Лаборатория. 1996; 1: 3–6.



Сложности дифференциальной диагностики лимфомы/лейкоза из TCR $\gamma\delta$ T-клеточных предшественников и лимфомы из плазматоидных дендритных клеток (описание случая)

Н. Н. Тупицын, А. М. Ковригина, Д. Ш. Османов, Е. Н. Шолохова, Н. А. Купрышина, О. Ю. Баранова, М. А. Френкель, М. Н. Синицына

РЕФЕРАТ

Difficulties in differential diagnosis of TCR $\gamma\delta$ precursor T-leukaemia/lymphoma from plasmacytoid dendritic cell lymphoma (a case report)

N. N. Tupitsyn, A. M. Kovrigina, D. S. Osmanov, E. N. Sholokhova, N. A. Kupryshina, O. Yu. Baranova, M. A. Frenkel, M. N. Sinitsyna

Summary:

Multiple skin lesions were the primary manifestations of disease in 23-year old patient. He received treatment during about 1 year for peripheral T-cell lymphoma and then was admitted to Cancer Research Center. Cutaneous tumor, lymph nodes and bone marrow (hyper cellular, 91.2 % blasts) were studied both morphologically and immunologically. Cutaneous tumor (paraffin sections) demonstrated phenotype of blastic NK/plasmacytoid dendritic cell lymphoma (CD4+CD56+TCL-1+CD3 ϵ -TCR β -TdT+/-). Bone marrow flow cytometry revealed CD3/TdT co-expression as well as TCR $\gamma\delta$ on blastic cells. Immunomorphological study of lymph node (cryostat sections, fluorescent method) was more in line with T-cell precursor tumor (CD7+, weak CD5 and CD3). The particular feature of the case was the expression of one from three CD3 epitopes studied. It was concluded that the final diagnosis is precursor TCR $\gamma\delta$ T-cell leukaemia/lymphoma.

Keywords:

blastic NK/plasmacytoid dendritic cell lymphoma, cutaneous tumor, TCR $\gamma\delta$ T-cell leukaemia/lymphoma.

N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow

Контакты: enshell@mail.ru

Принято в печать: 18 апреля 2008 г.

Пациент, 23 лет, с дебютом заболевания в виде множественного поражения кожи, с предварительным диагнозом периферическая T-клеточная лимфома. Проведено комплексное обследование, включавшее гистологический, иммуногистохимический, иммуноморфологический, морфоцитохимический методы, а также метод проточной цитометрии с использованием трехцветной флюоресцентной метки. Бластные клетки были гемопоэтической природы (экспрессировали CD45), мноморфно экспрессировали антигены CD56, CD4, TdT. С учетом данных литературы и полученных результатов — обнаружение маркеров CD7, CD5, CD3 и мембранных рецепторов TCR $\gamma\delta$ на TdT-позитивных бластных клетках — описанный случай был расценен как лейкоз/лимфома из предшественников $\gamma\delta$ -T-лимфоцитов (CD7+CD3+TdT+CD5+/-) с коэкспрессией антигенов NK-клеток (CD56 и CD16) и миелоидного антигена CD33.

Ключевые слова

лимфома из плазматоидных дендритных клеток, лимфома кожи, лимфома/лейкоз из TCR $\gamma\delta$ T-клеточных предшественников.

ВВЕДЕНИЕ

Поводом для написания данной статьи явились сложности в дифференциальной диагностике у молодого пациента с поражением кожи. При проведении комплексного обследования с применением современных морфологических и иммунологических методов при значительной схожести полученных результатов были выявлены некоторые противоречия в определении линейной принадлежности опухолевых клеток. Надеемся, что наш опыт еще раз убедительно продемонстрирует целесообразность одномоментного применения широкого спектра морфоиммунологических методов, что дает возможность для более тонкого подхода при установлении диагноза.

В последние годы, уже после опубликования классификации ВОЗ 2001 г. [1], в литературе появились описания новой нозологической единицы — опухоли из плазматоидных дендритных

клеток (ПДК). В классификации ВОЗ эти опухоли не выделялись в отдельную нозологическую единицу, и лимфомы с подобным фенотипом входили в раздел лимфом из естественных киллерных клеток (НК-бластных лимфом).

Первоначально неопухольевый нормальный эквивалент — ПДК — для ряда НК-бластных опухолей был установлен методами проточной цитометрии и функциональными тестами [1–4], однако в дальнейшем появились описания иммуногистохимической диагностики лимфом из ПДК [5]. Опухоли из ПДК часто характеризуются поражением кожи, что и обусловило одно из их названий — гематодермическая опухоль. Помимо классификации ВОЗ для опухолей гемопоэтической природы существует классификация ВОЗ для лимфом кожи [6, 7], включающая подкожные лимфомы, лимфомы из НК-клеток, НК/T-клеточные лимфомы и прочие лимфомы из цитотоксических T-клеток.

Принципиальной диагностической особенностью лимфом из ПДК является отсутствие какой-либо линейной принадлежности злокачественных клеток (Т-, В-, миелоидной), экспрессия НК-клеточного маркера CD56 в сочетании с CD4, а также дополнительных признаков — TCL-1, рецептора IL-3 (CD123), BDCA-2 [8]. Наибольшие сложности представляет дифференциальная диагностика пре-T-клеточных вариантов лимфом (лейкозов) и лимфом из ПДК. В случаях TCR $\alpha\beta$ T-клеточных лимфом эти вопросы в большинстве случаев можно решить на основе цитоплазматической экспрессии CD3 и α -, β -цепей T-клеточного рецептора [9]. Вместе с тем, как показывают зарубежные работы, при sCD3-позитивных T-лимфобластных лимфомах и лейкозах очень часто (примерно 1/3 случаев) мишенью злокачественной трансформации являются $\gamma\delta$ -T-клеточные предшественники [9–11]. Особенностью этих случаев является то, что они не содержат проторецептор pTCR α [12] и не имеют этапа цитоплазматической экспрессии γ - и δ -цепей TCR [9]. Диагностика этих случаев предполагает обязательную оценку мембранного CD3 в сочетании с оценкой мембранной экспрессии TCR $\gamma\delta$.

Важной особенностью лимфом из ПДК, как, впрочем, и других лимфом из клеток-предшественников, является частая лейкемизация, т. е. выявление бластных клеток в костном мозге.

В ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН иммуноморфологическая диагностика лимфом проводится по свежемороженому (криостатные срезы, люминесцентная микроскопия) и фиксированному (парафиновые срезы, иммуногистохимия) биопсийному материалу первичной опухоли с обязательным морфоцитохимическим и иммунологическим (проточная цитометрия) исследованием костномозгового лейкоэмического компонента [13–15]. Описываемый нами случай иллюстрирует необходимость комплексного подхода для диагностики лимфом с использованием методов иммуногистохимии и проточной цитометрии.

Клинический случай

Больной К., 23 лет. Дебют заболевания в июле 2006 г., когда в области нижней трети голени слева появилось мягкотканное образование синюшного цвета, плотноэластической консистенции, безболезненное, до 2 см в диаметре. Отмечался его медленный рост. За медицинской помощью больной обратился в сентябре 2006 г. В онкологическом диспансере была выполнена эксцизионная биопсия образования, размер которого к этому времени достиг 8 см. При гистологическом исследовании убедительных данных за неопластический процесс не получено. В ноябре 2006 г. появились множественные образования на коже туловища синюшного цвета, с четкими ровными краями плотноэластической консистенции, от 0,5 до 2,0 см в диаметре. При пересмотре готовых гистологических препаратов по месту жительства в январе 2007 г. установлен диагноз T-клеточной неходжкинской лимфомы. Исследование костного мозга на начальном этапе заболевания выполнено не было. С февраля 2007 г. больному проведено 8 курсов полихимиотерапии по схеме СНОР-14.

Полная регрессия кожных образований отмечалась уже после 1-го курса терапии. В августе 2007 г. проведена лучевая терапия на область нижней трети голени слева в СОД 40 Гр.

В сентябре 2007 г. отмечено прогрессирование заболевания в виде появления мягкотканного узлового образования в области верхней трети бедра слева размером до 5,1 × 4,7 см. Проведено 3 курса терапии по схеме СНОЕР с временным эффектом. В январе 2008 г. вновь отмечено уве-

личение узлового образования. Проведен 4-й курс химиотерапии в аналогичном режиме. В феврале 2008 г. больной обследован в ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.

Данные обследования

Общее состояние больного относительно удовлетворительное. Активных жалоб нет. Кожные покровы обычной окраски, чистые. Отмечается увеличение практически всех групп периферических лимфатических узлов, их размеры варьируют от 1,5 до 3,0 см в диаметре. Печень, селезенка при пальпаторном исследовании не увеличены.

В **гемограмме**: лейкоциты $11,32 \times 10^9$ /л (метамиелоциты 2 %, палочкоядерные 5 %, сегментоядерные 68 %, лимфоциты 22 %, моноциты 3 %), эритроциты $4,7 \times 10^{12}$ /л, уровень гемоглобина 135 г/л, тромбоциты 158×10^9 /л. Активность ЛДГ — 305 ЕД.

При **рентгенологическом исследовании** грудной клетки патологических изменений не выявлено.

При **УЗИ** отмечается увеличение периферических лимфатических узлов (их размеры колеблются от 1,6 до 3,0 см) — околоушных, подчелюстных, шейно-надключичных, подключичных, подмышечных, паховых. В воротах печени — лимфатические узлы до 2 см. В левой подвздошной области — несколько лимфатических узлов до 4 см в диаметре. Парааортально и в правой подвздошной области увеличенные лимфоузлы не определяются. В правой грудной железе — узел до 1 см в диаметре. Печень, желчный пузырь, поджелудочная железа, селезенка, почки — без патологии.

При исследовании спинномозговой жидкости количество клеточных элементов в 1 мм^3 составило 85 клеток, из них 90 % — бластные клетки.

Гистологическое исследование. В готовом препарате 2007 г. (кусочек кожи) во всех отделах дермы массивный диффузный инфильтрат из клеток среднего размера с бластной структурой хроматина, с округло-овальными и неправильными ядрами без отчетливых ядрышек. Видны митозы (до 4 в поле зрения, $\times 400$). Признаков эпидермотропизма не обнаружено (рис. 1).

Иммуногистохимическое исследование по парафиновым блокам. Материал — биоптат кожи 2007 г. Исследование проведено с использованием антител к CD1a, CD3 (клон эпсилон), CD4, CD5, CD8, CD10, CD20, CD23, CD45, CD56, CD68 (PG-M1), лизоциму, MUM.1, перфори-ну, BCL-2, TCL-1, TdT, TCR (bF1), панцитокератину, миелопероксидазе, TIA-1, Ki-67.

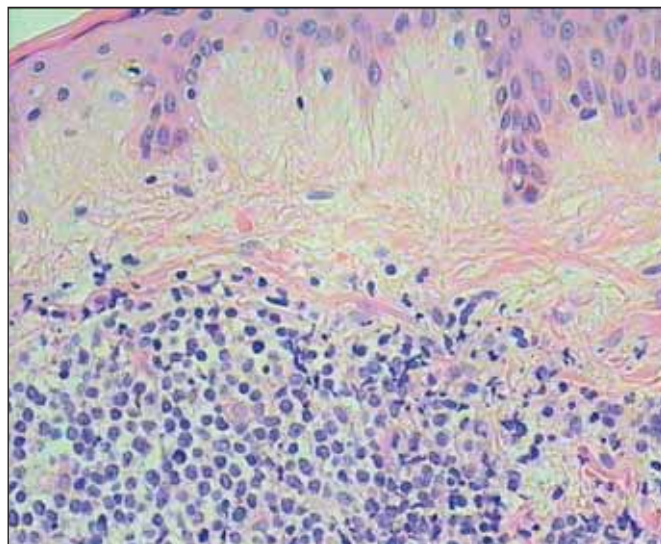


Рис. 1. В дерме диффузный инфильтрат из бластных клеток среднего размера, без признаков эпидермотропизма. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

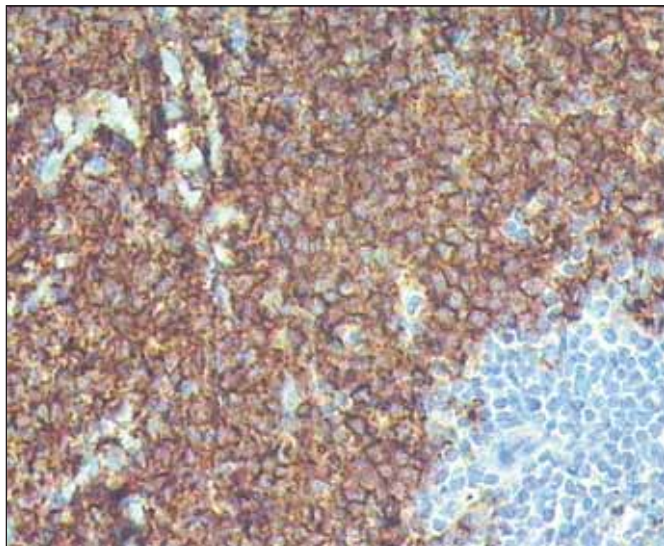


Рис. 2. Экспрессия опухолевыми клетками CD56 (интенсивная мембранная реакция, клетки реактивного микроокружения негативны). Иммуноферментный метод. $\times 400$

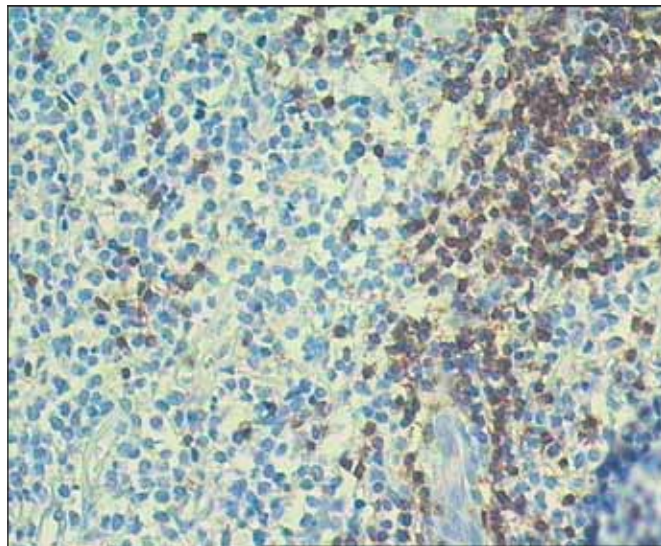


Рис. 5. Реакция с антителом к β -цепям Т-клеточного рецептора (bF1). Позитивны Т-клетки реактивного микроокружения. Опухолевые клетки негативны. Иммуноферментный метод. $\times 200$

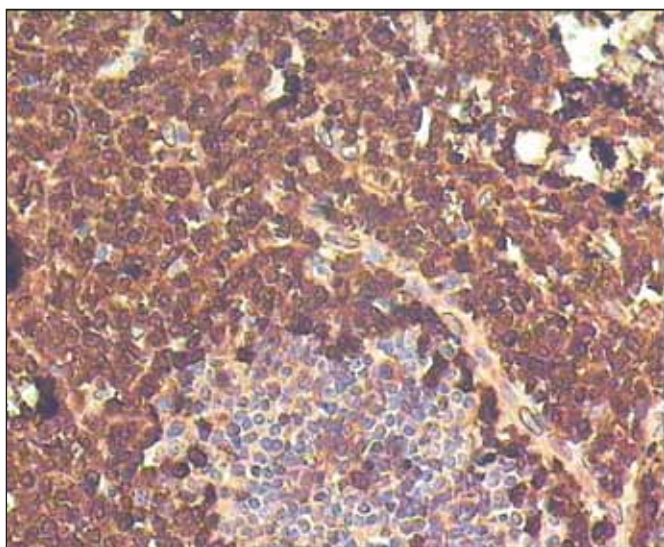


Рис. 3. Экспрессия опухолевыми клетками TCL-1 (ядерная реакция, клетки реактивного микроокружения негативны). Иммуноферментный метод. $\times 400$

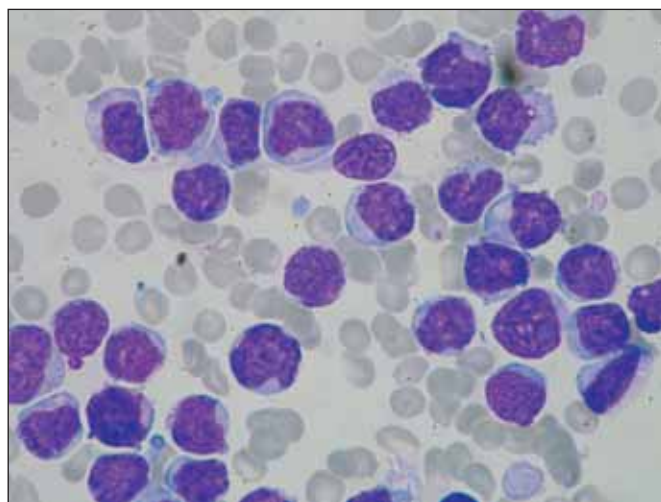


Рис. 6а. Морфоцитохимическая характеристика бластных клеток большого К. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

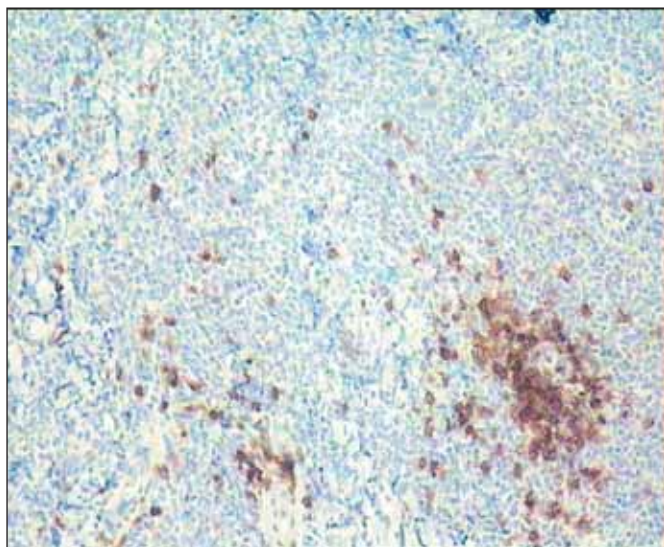


Рис. 4. Реакция с антителом к CD3 (клон эпсилон). Позитивны Т-клетки реактивного микроокружения. Опухолевые клетки негативны. Иммуноферментный метод. $\times 100$

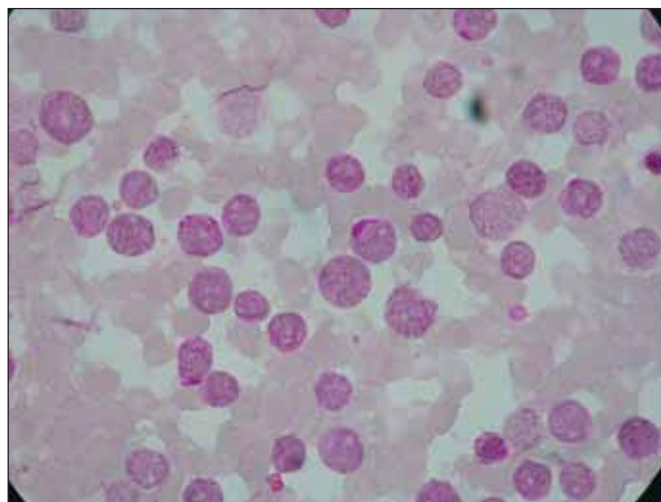


Рис. 6б. Гранулярно и крупногранулярно расположенное PAS-положительное вещество в бластных клетках. $\times 100$

Клетки опухолевого инфильтрата экспрессировали CD4 (интенсивно), CD45, CD56 (интенсивно) (рис. 2), TCL-1 (интенсивно) (рис. 3), BCL-2. Отсутствовала экспрессия TCR

(β F-1). Антиген Ki-67 обнаружен в 30–50 % клеток в различных полях зрения ($\times 400$). TdT-позитивны до 10 % клеток опухолевого инфильтрата. С другими маркерами в опухолевых клетках реакции негативны.

Т-клетки CD3+ (рис. 4), CD5+, CD8+, bF1+ (рис. 5) расположены в виде очаговых скоплений. В-клетки крайне немногочисленны (CD20+).

Заключение. Морфоиммуногистохимическая картина опухоли кожи соответствует бластной лимфоме из клеток естественных киллеров (NK) (гематодермическая опухоль).

Имунофлуоресцентное исследование биопсийного материала опухоли (шейный лимфатический узел) по криостатным срезам. Исследование проведено методом непрямой иммунофлуоресценции, в качестве вторых антител использованы F(ab)₂-фрагменты козьих антител к иммуноглобулинам мыши, меченные FITC. Антитела CD13, CD33, CD34, CD56 использованы в качестве прямых конъюгатов с фикоэритрином. Антитела к CD3 использованы как в непрямой РИФ, так и в качестве прямых конъюгатов с фикоэритрином.

Опухолевые клетки мonomорфно экспрессировали общелейкоцитарный антиген CD45, молекулы HLA-DR, CD7, CD33 (тип реакции неяркий) и CD56, CD4, CD38 (выраженная экспрессия).

На большинстве опухолевых клеток отмечена слабая экспрессия CD5. Крайне слабая экспрессия CD3 в части опухолевых клеток выявлялась лишь при использовании антител LT-3, меченных фикоэритрином (но не при использовании моноклональных антител ICO-90 в непрямой реакции иммунофлуоресценции).

Опухолевые клетки не содержали CD10, CD23, CD21. Присутствовали небольшие группы и отдельные нормальные Т-лимфоциты (CD3+, CD8+, CD2+). Экспрессия CD1a отсутствовала. В опухолевой ткани имелись единичные В-лимфоциты (CD19+, CD20+), отдельные дискретно расположенные гистиоциты (CD163+, CD13+), отдельные плазмциты (CD38+++). Антиген CD34 экспрессирован только на эндотелии сосудов. Отсутствовали фолликулярные дендритные клетки, выявляемые на основании реакции на CD21, CD23.

Заключение. Иммунофенотип опухолевых клеток соответствует лимфоме из предшественников Т-лимфоцитов с коэкспрессией NK-клеточных антигенов CD56 и миелоидных антигенов CD33.

Морфоцитохимическое исследование костного мозга. Пунктат богат клеточными элементами. Количество миелокарицитов составляет 683 × 10⁹/л. Мегакарициты определяются в достаточном количестве. Основную массу клеток (91,2 %) составляют бласты. Резко угнетены нормальные ростки гемопоэза.

Бласты представлены мonomорфной популяцией клеток преимущественно среднего размера (97 %), макроформы составляют 3 %. Очертания клеток правильные, округлые. Ядра неправильной формы, складчатые, с выемкой. Цитоплазма слабо базофильная, не содержит включений. Ядерно-цитоплазматическое отношение высокое (рис. 6а).

При цитохимическом исследовании бластов реакция на миелопероксидазу, липиды с суданом черным В и на неспецифическую эстеразу — отрицательны. PAS-положительное вещество определяется в 100 % бластов в значительном количестве в форме гранул и лакун (рис. 6б). При просмотре препаратов видны фигуры митозов с частотой 2 %.

Имунологическое исследование бластных клеток костного мозга (проточная цитометрия). Исследование проведено с использованием трехцветной флуоресцентной метки. Бластные клетки идентифицировали на основании слабой в сравнении с лимфоцитами экспрессии общелейкоцитарного антигена CD45 и низких показателей бокового рассеяния света лазерного луча (SSC — side

scattering в терминах проточной цитометрии), отражающих отсутствие зернистости в клетках. Этот принцип широко используется в иммунофенотипировании острых лейкозов и лимфом из клеток-предшественников [15, 16]. Этот подход полностью оправдал себя в данном случае, т. к. опухолевые клетки идентифицировались как предшественники, слабо экспрессирующие CD45 (рис. 7, а). Это очень важно, т. к. позволило отдельно оценить и сравнить уровень экспрессии CD3, TdT, TCR в опухолевых клетках и нормальных Т-лимфоцитах. Иммунофенотип бластов представлен в табл. 1.

Таблица 1. Иммунофенотип бластных клеток больного К. по данным проточной цитометрии

Маркер	Процент антиген-позитивных бластов (CD45 ± SSC low)
В-клеточные антигены	
CD19	0,5
CD20	1,9
Т/НК-клеточные антигены	
CD7	90,0
CD5	63,2w
CD3 (LT3)	66,5*
TCR $\alpha\beta$ (эпитоп CD3, WT-31)	63,0 (рис. 7, е)
TCR $\gamma\delta$	44,6 (рис. 7, ж)
CD1a	0,5
CD56	84,3 (рис. 7, з)
CD16	67,1
CD2	14,4
CD4	98,3
CD8	0,4
Миелоидные антигены	
CD13	3,8
CD33	93,7
Монокитарные антигены	
CD64	1,8
Маркеры клеток-предшественников	
CD34	0,2
TdT+, cCD3(LT3)+	82,2 (рис. 7, д)
Прочие	
HLA-DR	97,8
CD38	96,3

Примечания: w — weak, слабая экспрессия; cCD3 — цитоплазматическая экспрессия CD3.

* Положительная мембранная экспрессия CD3 выявлялась только с фикоэритриновым конъюгатом антител LT3 и была одинакова по уровню флуоресценции с Т-лимфоцитами (рис. 7, б); экспрессия CD3 FITC, выявляемых моноклональными антителами ICO-90, на бластах отсутствовала и была яркой на лимфоцитах (рис. 7, в).

Заключение. На основании данных морфоцитохимических и иммунологических исследований бластных клеток костного мозга сделано заключение о наличии острого лимфобластного лейкоза/лимфомы из Т-линейных предшественников $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов (CD7+CD3+TdT+CD5+/-) с коэкспрессией антигенов NK-клеток (CD56 и CD16) и миелоидного антигена CD33.

Проведена полихимиотерапия по схеме LOP. Выполнены три люмбальные пункции с интратекальным введением метотрексата в дозе 12 мг, цитозара 30 мг, дексаметазона 4 мг. Лечение сопровождалось выраженным противоопухолевым эффектом. Отмечено уменьшение размеров всех групп периферических лимфатических узлов на 50 %, отсутствие бластных клеток в ликворе.

В миелограмме от 06.03.08 г. бластные клетки составили 2,5 % при низкой клеточности костного мозга.

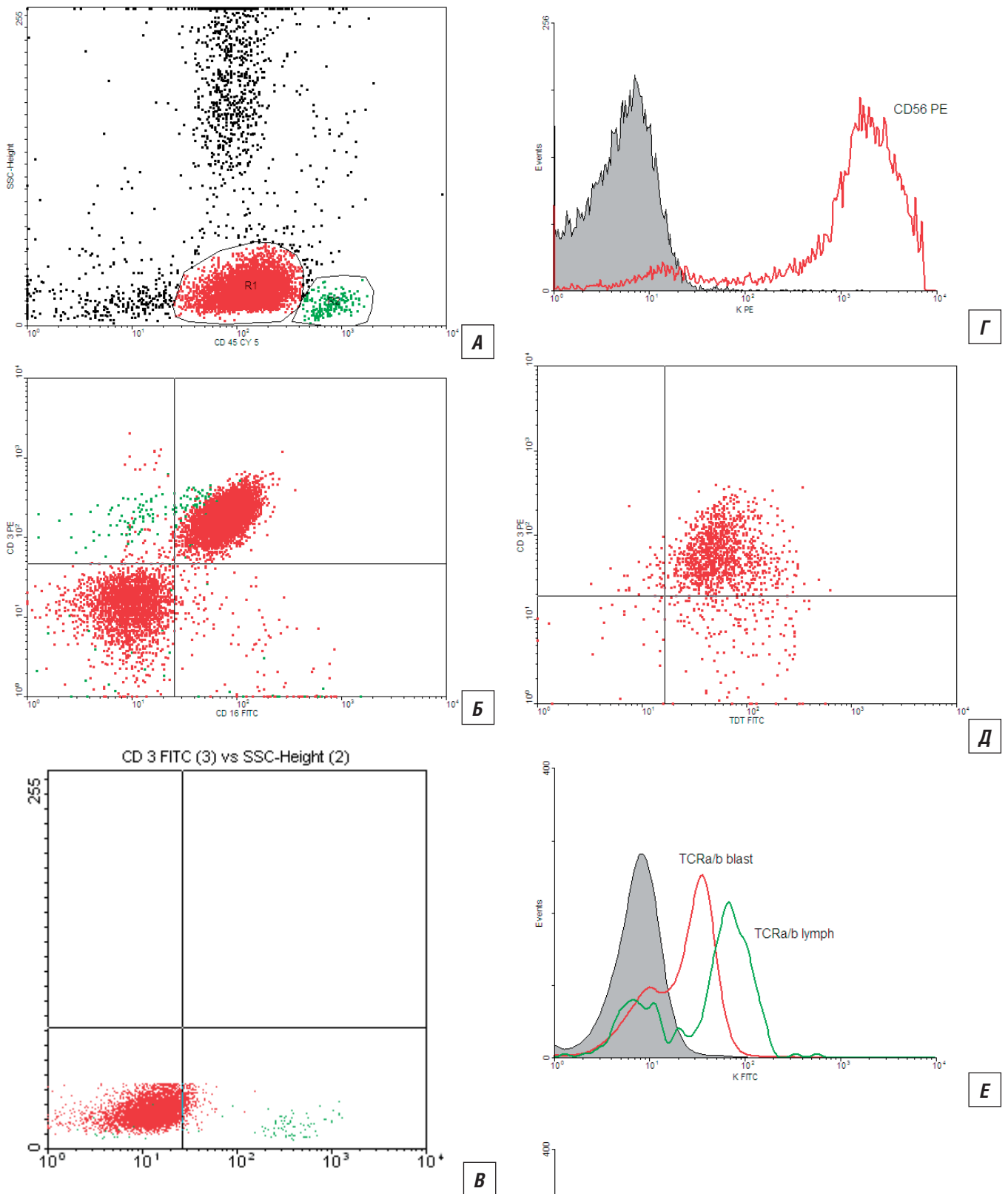


Рис. 7. Экспрессия на бластных клетках молекул CD45, CD3, TdT, CD56 и TCR. Проточная цитометрия на приборе FACScan:

а — CD45 vs SSC: blastные клетки (окрашены красным) более слабо экспрессируют CD45 в сравнении с лимфоцитами (окрашены зеленым); *б* — по оси ординат уровни экспрессии мембранного CD3-PE (LT-3) одинаковы на бластах (красные) и лимфоцитах (зеленые), по оси абсцисс — экспрессия CD16; *в* — экспрессия детерминанты CD3 (IC0-90-FITC) отсутствует на бластах (красные) и яркая на лимфоцитах (зеленые); *г* — выраженная экспрессия CD56 на бластных клетках; *д* — коэкспрессия TdT (FITC) и CD3 (LT-3, FITC) бластными клетками; *е* — экспрессия CD3 (WT-31) более выраженная на лимфоцитах (зеленая кривая), чем на бластах (красная кривая); *ж* — выраженная экспрессия TCR $\gamma\delta$ на небольшой пропорции лимфоцитов (TCR $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты), отсутствие TCR $\gamma\delta$ на большинстве лимфоцитов (зеленая кривая), слабая экспрессия TCR $\gamma\delta$ на бластах (красная кривая)

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты морфологических и иммунологических исследований, полученные разными методами, были во многом сходны, в чем-то дополняли друг друга, а в отдельных позициях были явно противоречивыми.

Сходство состояло в том, что бластные клетки были гемопозитической природы (экспрессировали CD45) и были мономорфно-положительными в реакциях на CD56 и CD4, экспрессировали TdT. Хотя процент TdT-позитивных клеток в проточной цитометрии и при иммуногистохимическом исследовании существенно различался (82 и 10 % соответственно), обнаружение терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы явилось дополнительным аргументом отнесения опухоли к лимфоме/лейкозу из клеток-предшественников. Сходство результатов, полученных различными методами, состояло также в отсутствии в бластах миелопероксидазы, Т-клеточных маркеров (CD8, CD2, CD1a), В-клеточных (CD20, CD19) миелоидных и гистиоцитарно-макрофагальных (CD13, CD64, CD68, CD163, CD64, лизоцима), CD10, а также маркеров фолликулярных дендритных клеток CD21 и CD23.

Методом иммуногистохимии по парафиновым блокам показано отсутствие в клетках перфорина и панцитокератинов. Отмечалась достаточно высокая пролиферативная активность (30–50 % Ki-67+), экспрессия BCL-2 и, что особенно важно в контексте обсуждаемой проблемы, TCL-1. Экспрессия TCL-1 является весьма важным диагностическим маркером ПДК, но не специфичным и выявляется при пре-Т-ОЛЛ/лимфомах [17, 18].

Дополнительная информация, полученная при исследованиях по криостатным срезам, а также при морфоцитохимическом и иммунологическом исследованиях костного мозга, состояла в том, что опухоль являлась цитохимически негативной с особым характером расположения гликогена, мономорфно экспрессировала CD7, CD38, HLA-DR, а также панмиелоидный антиген CD33.

Явные противоречия получены при оценке Т-линейной принадлежности бластных клеток по таким маркерам, как CD3, CD5, TCR.

Отмечено совпадение реакций по CD5 в проточной цитометрии и иммунофлюоресцентном исследовании по криостатным срезам — слабая экспрессия на большинстве бластов. Иммуногистохимически опухоль была CD5-негативной.

Очень сложна интерпретация данных по CD3. Мембранный маркер CD3 выявлялся только при использовании антител LT-3 к CD3, меченных фикоэритрином (PE), но не при использовании флюоресцентно меченных моноклональных антител ICO-90. На криостатных срезах опухоли CD3 выявлялся также только с PE-мечеными антителами LT-3 (крайне слабая экспрессия). Рассмотрим более подробно клоны антител и, соответственно, выявляемые ими эпитопы или цепи молекул (табл. 2).

Не менее сложной является интерпретация данных по TCR (табл. 3).

Таблица 3. Антитела к TCR и цепи рецептора, изученные в работе

Метод исследования	Клон	Цепь CD3	Эпитоп
Иммуногистохимия	β F1 (Endogen)	β	Каркас β -цепи
Проточная цитометрия	TCR $\alpha\beta$ -FITC (BD*, США)	WT-31	Конформационный эпитоп TCR/CD3 ϵ **
	TCR $\gamma\delta$ -FITC (BD, США)	11F2	δ 1

* BD — Becton Dickinson.

** Конформационный эпитоп молекулы CD3 ϵ . Образуется при связывании γ -, δ - или $\alpha\beta$ 1-цепей TCR с CD3 ϵ .

Согласно данным фирмы-производителя (Becton Dickinson, США), моноклональные антитела WT-31 распознают конформационный эпитоп, образующийся при взаимодействии молекулы CD3 с Т-клеточным рецептором, преимущественно это TCR $\alpha\beta$ Т-клетки. Вместе с тем доказано, что МКА WT-31 распознают эпитоп молекулы CD3, который не экспрессирован на CD3 в отсутствие мембранных молекул TCR (COS-клетки, трансфицированные геном CD3 [22]). В норме эпитоп преимущественно экспрессирован на TCR $\alpha\beta$ Т-клетках. Вместе с тем антитела реагируют и с TCR $\gamma\delta$ -клетками [23], а также с COS-клетками, экспрессирующими γ - и δ -цепи TCR [22].

Иными словами, реакция с антителами WT-31 свидетельствует о мембранной экспрессии на клетках ϵ -цепей CD3 в ассоциации с полипептидными цепями TCR, но не об экспрессии $\alpha\beta$ -цепей TCR. Таким образом, подтверждена мембранная экспрессия CD3, установленная с помощью МКА LT-3. В данном случае TCR относится к варианту $\gamma\delta$, что подтверждено антителами 11F2, специфичными к δ 1-цепям TCR. Экспрессия этих цепей указывает на то, что реаранжировки генов α -цепей TCR не произошло, т. к. не делегирован ген δ -цепей, расположенный в пределах локуса α -гена. Эти данные полностью согласуются с отсутствием экспрессии $\alpha\beta$ -цепей TCR на основе реакции с антителами β F1 в иммуногистохимическом исследовании по парафиновым блокам. Таким образом, речь идет о бластных клетках, экспрессирующих на мембране TCR $\gamma\delta$ в комплексе с молекулами CD3. Это клетки-предшественники, т. к. CD3 экспрессирован на TdT-позитивных клетках.

В нашем наблюдении определение Т-клеточной клональности проведено по костному мозгу после начала лечения и ответа на терапию — содержание бластов 2,5 %. В результате ПЦР-анализа клональности по реаранжировке генов γ -цепи Т-клеточного рецептора не выявлено, что может быть обусловлено низким бластозом.

Экспрессия молекул TCR в классификации Т-клеточных лейкозов/лимфом из Т-предшественников позволяет идентифицировать дискретные стадии дифференцировки этих опухолей и классифицировать эти неоплазии на основе уникальных признаков с использованием моноклональных антител (табл. 4) [9]. Эти антитела реагируют исключительно с CD3-позитивными ОЛЛ и не окрашивают В-линейные и

Таблица 2. Антитела к CD3, использованные в работе

Метод исследования	Клон	Цепь CD3	Эпитоп
Иммуногистохимия	F7.2.38 (Dako)**	ϵ -цепь	Цитоплазматический
Люминесцентная микроскопия по криостатным срезам	ICO-90 (немеченый), F(ab) ₂ -FITC	CD3*	Мембранный
	LT3-PE	CD3**	Мембранный
Проточная цитометрия	ICO-90-FITC	CD3*	Мембранный
	LT3-PE	CD3**	Мембранный

* Использованы антитела к CD3 [4] производства НПЦ «Медбиоспектр» (Москва), стандартизованные на V Международном рабочем совещании по лейкоцитарным антигенам [19]. Цепь CD3 неизвестна.

** Использованы антитела к CD3, полученные А. В. Филатовым, производства ООО «Сорбент» (Москва), стандартизованные на VI Международном рабочем совещании по лейкоцитарным антигенам CD3 [20]. Цепь CD3 неизвестна.

*** L. Alibaud и соавт., 2000 [21].

миелоидные клетки. На основании использования комплекса моноклональных антител, D. Campana и соавт. [9] удалось выделить пять стадий дифференцировки Т-клеточного лейкоза/лимфомы из предшественников Т-клеток (табл. 5).

Таблица 4. Моноклональные антитела, использованные в работе D. Campana и соавт. [9]

$\beta F1^*$	Общая детерминанта β -цепей TCR
$\alpha F1^*$	α -цепи TCR
WT-31	Мембранные TCR $\alpha\beta$. Антитела реагируют с эпитопом CD3 ϵ , доступным только после того, как полностью собранный комплекс CD3/TCR $\alpha\beta$ встроены в клеточную мембрану. Хотя антитела WT31 также слабо реагируют с TCR $\gamma\delta$ -клетками, условно их можно считать реагентом против TCR $\alpha\beta$, т. к. эти клетки метятся со значительно большей интенсивностью
TCR γ -1	Все TCR $\gamma\delta$, несущие Т-клетки
γ TCS-1	Подкласс TCR $\gamma\delta$ -клеток, использующих V $\delta 1$ -J $\delta 1$

* Эпитопы отсутствуют на мембране интактных клеток и проявляются после фиксации.

Таблица 5. Стадии дифференцировки Т-клеточного лейкоза/лимфомы из клеток-предшественников [9]

Группа	mTCR	cTCR	Кол-во
I	—	—	17
II	—	$\beta F1+$, $\alpha F1-$	9
III	—	$\alpha F1+$, $\beta F1-$	1
IV	—	$\alpha F1+$, $\beta F1+$	2
Va	TCR $\alpha\beta+$	—	9
Vb*	TCR γ -1+, γ TCS-1	—	2

* Оба случая sCD3+TCR $\delta 1$ +TdT+. Анализ реаранжировки генов TCR. 1-й случай: $\beta 1$ — D/R, $\beta 2$ — G/G; $\gamma 1$ — D/R, $\gamma 2$ — R/G; $\delta 1$ — R/R (один аллель V $\delta 1$ -J $\delta 1$, другой — D $\delta 2$ -J $\delta 1$); $\delta 2$ — G/G. 2-й случай: $\beta 1$ — R/G, $\beta 2$ — G/G; $\gamma 1$ — R/R, $\gamma 2$ — G/G; $\delta 1$ — R/R (один аллель V $\delta 1$ -J $\delta 1$, другой — V $\delta 2$ -J $\delta 1$); $\delta 2$ — G/G.

Конфигурация генов TCR β , γ и δ проанализирована в работе D. Campana и соавт. [9] в 23 случаях Т-ОЛЛ. Отсутствие экспрессии белка TCR было обусловлено отсутствием перестроек гена TCR лишь в 1 из 9 случаев. Во всех 5 случаях TCR β +, TCR α - гены TCR α были в зародышевой конфигурации (не обнаружено делеции гена TCR δ). В 7 из 8 случаев делеции гена TCR δ были экспрессированы белки TCR α , в то время как лишь в 12 из 20 Т-ОЛЛ с перестроенным геном TCR β имел место синтез соответствующего белка. Лишь в 2 из 16 случаев с перестроенными TCR δ -генами были экспрессированы δ -цепи TCR. По данным литературы, мембранный TCR $\gamma\delta$ более часто, чем TCR $\alpha\beta$, экспрессирован при Т-ОЛЛ [10]. Важно подчеркнуть, что TCR специфичны для Т-клеток и не экспрессируются на предшественниках В-лимфоцитов и миелоидных клеток. Это контрастирует с частым обнаружением начальных перестроек генов TCR, наблюдаемых при В-линейных ОЛЛ. Интересно отметить, что TCR δ в отличие от TCR β отсутствует в цитоплазме клеток, последовательные стадии (цитоплазматическая и мембранная) для этого антигена (δ -цепь) не определены.

Таким образом, установлено, что группы Т-ОЛЛ, выделяемые с помощью антител к TCR, не имеют дополнительных специфических иммунофенотипических характеристик и могут более точно соответствовать нормальным стадиям Т-клеточной дифференцировки, чем группы, выделяемые на основании экспрессии дифференцировочных антигенов [9]. Вообще, TCR $\gamma\delta$ Т-клеточные лейкозы/лимфомы из клеток-предшественников с экспрессией мембранного CD3 не являются редкостью. V. Asnafi и соавт. [12] при анализе 114 случаев Т-ОЛЛ у 23 пациентов выявили TCR $\gamma\delta$ Т-ОЛЛ с экспрессией мембранного CD3. К сожалению, экспрессию мембранного TCR $\gamma\delta$ не определяли и принадлежность к этой линии устанавливали на основании ПЦР-анализа. Исследование пре-TCR (pT α) позволило разделить эти лейкозы на две категории: pT α + и pT α -. Теоретически случаи pT α + могут соответствовать лейкозам из клеток-предшественников $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов. Среди sCD3+ TCR $\gamma\delta$ Т-ОЛЛ преобладали pT α - негативные варианты (62 %), которые можно рассматривать как лейкозы из истинных предшественников TCR $\gamma\delta$ Т-клеток. Бластные клетки этих больных имеют ряд особенностей: редко экспрессированы антигены CD34 (17 %), CD2 (53 %), миелоидные антигены CD13/CD33 (8 %), TdT (50 % в сравнении со 100 % в группе pT α +), CD56 (0 %), CD1a (15 vs 38 %), CD10 (30 vs 75 %). В 100 % случаев экспрессирован CD5, в 53 % — CD4. Экспрессия CD56 была более характерна для Т-ОЛЛ из незрелых предшественников (Им $\gamma\delta$) TCR $\gamma\delta$ -клеток, не экспрессирующих sCD3 и cTCR β , в этих случаях частота выявления антигена достигала 50 %.

С учетом данных литературы и полученных результатов описанный случай был расценен как лейкоз/лимфома из предшественников $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов. Основанием для этого явилось обнаружение CD7, CD5, CD3 и мембранных TCR $\gamma\delta$ на TdT-позитивных бластных клетках. По-видимому, для верификации данного варианта лейкоза в иммуногистохимическом методе необходимо использование моноклональных антител к TCR $\gamma\delta$ для диагностических целей, однако в настоящее время подобные антитела отсутствуют. Вместе с тем ряд вопросов, в частности различия в реакциях в зависимости от манифестации до начала лечения), выраженную экспрессию опухолевыми клетками CD4, CD56, нельзя исключить билинейный Т/НК-клеточный лейкоз с наличием общей коммитированной тимической клетки-предшественницы. Для решения данного вопроса необходимы дальнейшие исследования, в частности молекулярно-генетическое исследование наличия или отсутствия А-транскрипта CD94, химерного транскрипта AF10-CALM [24].

ЛИТЕРАТУРА

- Jaffe E. S., Harris L. N., Stein H., Vardiman J. W. (eds.) Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. — Lyon: IACR Press, 2001. — 351 p.
- Chaperot L., Bendris N., Manches O. et al. Identification of a leukemic counterpart of the plasmacytoid dendritic cells. Blood 2001; 97: 3210–7.
- Chaperot L., Perrot I., Jakob M. C. et al. Leukemic plasmacytoid dendritic cells share phenotypic and functional features with their normal counterparts. Eur. J. Immunol. 2004; 34: 418–26.
- Барышников А. Ю., Тоневский А. Г. Моноклональные антитела в лаборатории и клинике. — М.: Типография ВНИИЦ, 1997. — С. 14–21.
- Reichard K. K., Burks E. J., Foucar K. et al. CD4(+) CD56(+) lineage-negative malignancies are rare tumors of plasmacytoid dendritic cells. Am. J. Surg. Pathol. 2005; 29(10): 1274–83.
- World Health Organization. Skin Tumors. — Lyon, 2006. — P. 165–228.
- Massone C., Chott A., Metzger D. et al. Subcutaneous, blastic natural killer (NK), NK/T-cell, and other cytotoxic lymphomas of the skin (a morphologic, immunophenotypic, and molecular study of 50 patients). Am. J. Surg. Pathol. 2004; 28(6): 719–35.
- Jaye D. L., Geigerman C. M., Herling M. et al. Expression of the plasmacytoid dendritic cell marker BDCA-2 supports a spectrum of maturation among CD4+ CD56+ hematodermic neoplasm. Mod. Pathol. 2006; 19: 1555–62.
- Campana D., van Dongen J. J. M., Metha A. et al. Stages of T-cell receptor protein expression in T-cell acute lymphoblastic leukaemia. Blood 1991; 77(7): 1546–54.
- Gouttefangeas C., Bensussan A., Bousmell L. Study of the CD3-associated T-cell receptors reveals further differences between T-cell acute lymphoblastic lymphoma and leukemia. Blood 1990; 75: 931.
- Van Dongen J. J. M., Comans-Bitter W. M., Wolvers-Tetter I. L. M., Borst J. Development of human T lymphocytes and their thymus-dependency. Thymus 1990; 16: 207.
- Asnafi V., Beldjord K., Boulanger E. et al. Analysis of TCR, pT α , and RAG-1 in T-acute lymphoblastic leukemias improves understanding of early T-lymphoid lineage commitment. Blood 2003; 101(7): 2693–703.

- 13.** Ковригина А. М., Пробатова Н. А. Лимфома Ходжкина и крупноклеточные лимфомы. — М.: МИА, 2007.
- 14.** Тупицын Н. Н. Иммунодиагностика острых лейкозов и неходжкинских лимфом. В кн.: Клиническая онкогематология, 2-е изд. / Под ред. М. А. Волковой. — М.: Медицина, 2007. — С. 338–70.
- 15.** Тупицын Н. Н., Кадагидзе З. Г., Шатина Н. Н. и др. Иммунодиагностика гемобластозов человека: Пособие для врачей. — М., 2003.
- 16.** Луговская С. А., Почтарь М. Е., Тупицын Н. Н. Иммунофенотипирование в диагностике гемобластозов. — М.: Триада, 2005.
- 17.** Fu T.-B., Virgillio L., Narducci M. G. et al. Characterization and localization of the TCL-1 oncogene product. *Cancer Res.* 1994; 54: 6297–301.
- 18.** Herling M., Teitell M. A., Shen R. R. et al. TCL1 expression in plasmacytoid dendritic cells (DC2s) and the related CD4+ CD56+ blastic tumors of skin. *Blood* 2003; 101(12): 5007–9.
- 19.** Schlossman S. F., Boumsell L., Gilks W. et al. (eds.) *Leucocyte Typing V. White cell differentiating antigens.* — Oxford: Oxford University Press, 1995. — Vol. 1. — P. 262.
- 20.** Kishimoto T., Kikutani H., Von dem Borne A. E. G. K. et al. (eds.) *Leucocyte Typing V. White cell differentiating antigens.* — New York, London: Garland Publishing Inc., 1997. — P. 27.
- 21.** Alibaud L., Llobera R., Al Saati T. et al. A new monoclonal antibody reactive on paraffin sections. *J. Histochem. Cytochem.* 2000; 48(12): 1609–16.
- 22.** Salmerón A., Sánchez-Madrid F., Ursa M. A. et al. A conformational epitope expressed upon association of CD3-epsilon with either CD3-delta or CD3-gamma is the main target for recognition by anti-CD3 monoclonal antibodies. *J. Immunol.* 1991; 147(9): 3047–52.
- 23.** Van de Griend R. J., Borst J., Tax W. J. et al. Functional reactivity of WT31 monoclonal antibody with T cell receptor-gamma expressing CD3+4–8– T cells. *J. Immunol.* 1988; 140(4): 1107–10.
- 24.** Chung-Wu Lin, Ting-Yun Liu, Shee-Uan Chen et al. CD94 1A transcripts characterize lymphoblastic lymphoma/leukemia of immature natural killer cell origin with distinct clinical features. *Blood* 2005; 106(10): 3567–74.



Поражение центральной нервной системы при В-клеточном хроническом лимфолейкозе (клинический случай и обзор литературы)

В. А. Доронин [1], О. А. Худолева [2], Л. Е. Пашин [2], Ю. А. Криволапов [3]

РЕФЕРАТ

Central nervous system involvement in B-cell chronic lymphocytic leukemia (a case report and literature review)

V. A. Doronin [1], O. A. Khudoleeva [2], L. E. Paschin [2], Y. A. Krivolapov [3]

ABSTRACT:

Leukemic involvement of central nervous system resulting in neurological manifestations is a rare complication of B-cell chronic lymphocytic leukemia. We present a case report of leukemic symptomatic infiltration of brain and spinal cord with cerebrospinal fluid involvement. The diagnosis was confirmed by magnetic resonance imaging and flow cytometric analysis.

Keywords:

B-cell chronic lymphocytic leukemia, central nervous system.

[1] Central Railway Clinical Hospital No. 2 named N. A. Semashko, Moscow

[2] Hematology Research Center of Russia, Moscow

[3] Hematology an intensive care unit of Russian Academy of Postgraduate Education, Moscow

Контакты: vladimir_doronin@mail.ru

Принято в печать: 11 мая 2008 г.

Поражение центральной нервной системы (ЦНС) с наличием неврологической симптоматики является редким осложнением В-клеточного хронического лимфолейкоза (В-ХЛЛ). В статье представлен клинический случай поражения головного и спинного мозга, а также мозговых оболочек у пациента с В-ХЛЛ. Диагноз подтвержден с помощью магнитно-резонансной томографии и иммунофенотипирования лимфоцитов ликвора.

Ключевые слова

хронический лимфолейкоз, центральная нервная система.

ВВЕДЕНИЕ

В-клеточный хронический лимфолейкоз является наиболее часто встречающимся лимфопролиферативным заболеванием у взрослых. Однако в противоположность другим лимфатическим опухолям, таким как острый лимфобластный лейкоз, неходжкинские лимфомы, поражение ЦНС при В-ХЛЛ встречается крайне редко. В руководствах и статьях, посвященных В-ХЛЛ, этому аспекту в отличие от других осложнений (инфекционных, иммунных, трансформации в синдром Рихтера) практически не уделяется внимания. Большинство описанных случаев поражения нервной системы при В-ХЛЛ — проявление либо периферической полинейропатии, либо эпидуральной компрессии спинного мозга [1–5]. Поражение вещества и оболочек головного и спинного мозга, проявляющееся неврологической симптоматикой, регистрируется приблизительно в 1 % случаев [6]. Однако специфические изменения ЦНС при ХЛЛ, не сопровождающиеся неврологическим поражением прижизненно, встречаются значительно чаще. Так, по данным M. Vargos и соавт., при анализе 109 аутопсий больных ХЛЛ, выявленная частота поражения ЦНС составила 8 % [7]. В исследовании S. C. Srameg и соавт. риск возникновения симптомов поражения

ЦНС не зависел от стадии заболевания по Rai, длительности течения болезни, пола, возраста, иммунофенотипа, а также количества лейкоцитов [8].

Неврологические изменения гетерогенны и не являются специфичными. Начальными неврологическими симптомами могут являться: головная боль (23 %), нарушения памяти (28 %), симптомы поражения черепно-мозговых нервов (54 %), включая нейропатию зрительного нерва (28 %), снижение силы в нижних конечностях (23 %) и мозжечковые расстройства (18 %) [9]. К началу 2008 г., по данным международной литературы, описано 38 случаев специфического поражения ЦНС при В-ХЛЛ, когда поражение мозговых оболочек было доказано иммунофенотипированием лимфоцитов ликвора [9].

Клинический случай

Больному, 65 лет, в сентябре 2000 г. установлен диагноз В-ХЛЛ. В дебюте заболевания в крови: лейкоцитоз $60 \times 10^9/\text{л}$ с абсолютным лимфоцитозом, отсутствие анемии, тромбоцитопении, лимфаденопатии и органомегалии. Иммунофенотип лимфоцитов крови CD19+, CD20+, CD5+, CD23+. Больному было проведено два курса монотерапии лейкераном в суммарной дозе 150 мг каждый. Последний курс — в декабре 2002 г. Получен частичный эффект в виде снижения уровня лейкоцитов в 2 раза.

[1] ЦКБ № 2 им. Н. А. Семашко «ОАО» РЖД, Москва

[2] Гематологический Научный центр РАМН, Москва

[3] Кафедра гематологии и интенсивной терапии РМАПО, Москва

В сентябре 2003 г. пациент госпитализирован в стационар, где рентгенологически выявлена инфильтрация в верхней доле левого легкого, расцененная как пневмония. Назначенная антибактериальная терапия не дала эффекта, после чего было выполнено КТ-исследование органов грудной клетки. В паренхиме левого легкого, сегмент S₁, выявлен участок инфильтрации размером 9 × 8,5 см, в левой бронхопульмональной группе — единичные лимфатические узлы до 15 мм в диаметре, паратрахеально и парааортально — единичные лимфатические узлы до 10 мм в диаметре. В период пребывания в стационаре пациент перенес острое нарушение мозгового кровообращения в левой гемисфере, что привело к формированию правостороннего гемипареза.

Учитывая сохраняющуюся инфильтрацию паренхимы левого легкого, в декабре 2003 г. выполнена трансбронхиальная **биопсия участка легочного поражения**. При гистологическом исследовании выявлена лимфоцитарная инфильтрация. В декабре 2003 г. пациент госпитализирован в отделение гематологии ЦКБ № 2 им. Н. А. Семашко ОАО «РЖД». При физикальном обследовании увеличения периферических лимфатических узлов, печени и селезенки не обнаружено. **Анализ крови** от декабря 2003 г.: Hb — 139 г/л, эритроциты — $5,22 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты — $23,5 \times 10^9$ /л, лимфоциты — 42 %, тромбоциты — 230×10^9 /л. **При повторном гистологическом исследовании биоптата легкого** обнаружена объемная очаговая и местами диффузная инфильтрация мелкими лимфоцитоподобными клетками (рис. 1). **При иммуногистохимическом исследовании** лимфоидные клетки инфильтрата экспрессировали на мембране пан-В-клеточный антиген CD20, выявлялась слабовыраженная мембранная экспрессия CD5 и CD23. Не экспрессирован CD3, CD10 и в ядрах — циклин D1, что позволило констатировать специфическое поражение при В-ХЛЛ.

Больному проведено **два курса СНОР** без эффекта. При повторном КТ инфильтрация ткани легкого сохранялась в прежнем объеме.

Анализ крови от 02.2004 г.: Hb — 122 г/л, лейкоциты — $13,1 \times 10^9$ /л, лимфоциты — 57 %, тромбоциты — 230×10^9 /л.

С марта 2004 г. по сентябрь 2004 г. проведено **четыре курса ФМС** (флударабин, митоксантрон, циклофосфан). Достигнута ремиссия заболевания, которая выражалась в полном исчезновении легочной инфильтрации, нормализации уровня лимфоцитов и отсутствии лимфоидной инфильтрации в костном мозге. Ремиссия сохранялась в течение 2 лет, до ноября 2006 г.

В ноябре 2006 г. отмечено увеличение количества лейкоцитов до 20×10^9 /л (лимфоцитов — до 60 %) при отсутствии анемии, тромбоцитопении, увеличения лимфоузлов, печени, селезенки, признаков поражения ткани легких. Осуществлялось динамическое наблюдение. В марте 2007 г. отмечено снижение силы в нижних конечностях. **При КТ головного мозга** выявлены гипотрофические изменения коры головного мозга, постишемические изменения в обоих полушариях головного мозга различного срока давности. В



Рис. 1. Лимфоидная инфильтрация ткани легкого. × 200

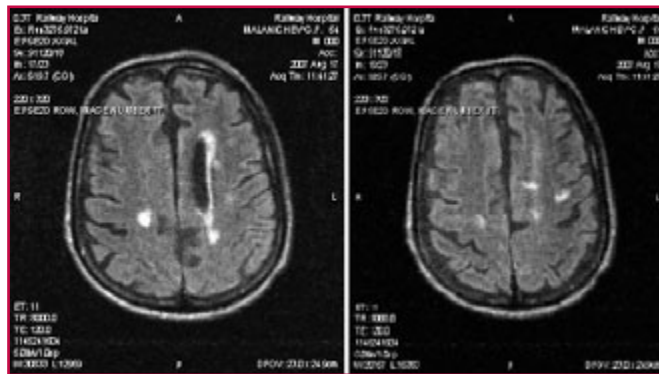


Рис. 2. МРТ головного мозга от 17.08.2007 г.

паравентрикулярных отделах обеих теменных долей определялись единичные очаги пониженной плотности диаметром до 7 мм. Указанные изменения трактовались как проявление энцефалопатии и как следствие перенесенного ранее нарушения мозгового кровообращения. Проводимое невропатологом лечение не привело к улучшению неврологической симптоматики. В августе 2007 г. повторно госпитализирован в гематологическое отделение. Неврологическая симптоматика характеризовалась пирамидным тетрапарезом. Сухожильные рефлексы на руках (D = S) резко ослаблены, на ногах отсутствовали. Определялся положительный симптом Бабинского с двух сторон.

Физикальное и рентгенологическое исследование, а также данные анализа крови не указывали на прогрессию В-ХЛЛ. **Анализ крови** от 08.2007 г.: Hb — 128 г/л, лейкоциты — $20,8 \times 10^9$ /л, лимфоциты — 62 %, тромбоциты — 144×10^9 /л.

При МРТ головного мозга в обоих полушариях головного мозга определялись множественные округлые очаги до 1 см в поперечнике с повышенным МР-сигналом без признаков объемного воздействия на структуры головного мозга и смещения срединных структур. Желудочки мозга обычного размера и формы, боковые симметричны (рис. 2).

Изменения, обнаруженные при МРТ головного мозга, не объясняли тяжесть неврологической симптоматики. Была выполнена **МРТ шейного и грудного отделов позвоночника**, при которой отмечалось утолщение спинного мозга на уровне С_{II}–С_{VII}, субарахноидальное пространство практически не определялось. При контрастном усилении определялось накопление контрастного препарата как в центральных отделах спинного мозга, так и по контуру фрагментарно (рис. 3). Данные изменения указывали на наличие интрамедуллярной опухоли.



Рис. 3. Утолщение спинного мозга на уровне С_{II}–С_{VII}. Отсутствие свободного субарахноидального пространства. Накопление контраста в веществе спинного мозга

При исследовании ликвора обнаружено повышение количества лимфоцитов до 300/мкл. Учитывая нормальную температуру тела, отрицательный результат анализа на наличие в спинномозговой жидкости микобактерий туберкулеза, инфекционная причина указанных изменений казалась маловероятной. Иммунофенотипические характеристики лимфоцитов крови и ликвора были идентичными. В обоих исследованиях В-лимфоциты были клональными по легкой λ -цепи иммуноглобулинов.

Иммунофенотип лимфоцитов крови: CD19/CD5+, CD19/CD23+, CD20+, CD19/ λ + (CD19/23+ 38 %). **Иммунофенотип лимфоцитов ликвора:** CD19/CD5+, CD19/ λ +. Учитывая низкий уровень экспрессии CD23, с целью дифференциальной диагностики с лимфомой мантийной зоны (ЛМЗ) исследовалась экспрессия циклинов группы D методом конкурентной ПЦР в реальном времени. Характерной для ЛМЗ гиперэкспрессии циклина D1 не выявлено (рис. 4).

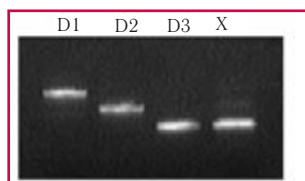


Рис. 4. Исследование гиперэкспрессии циклина D1:

D1 — прямой праймер общий для всех циклинов + обратный к циклину D1; D2 — прямой праймер общий для всех циклинов + обратный к циклину D2; D3 — прямой праймер общий для всех циклинов + обратный к циклину D3; X — смесь всех праймеров. В реакции конкуренции получен ПЦР-продукт, соответствующий циклину D3

Таким образом, на основании проведенного обследования было подтверждено специфическое поражение вещества и оболочек головного и спинного мозга.

Больному выполнено **эндолюмбальное введение цитостатиков** (цитозар 30 мг, метотрексат 15 мг, дексаметазон 4 мг) и параллельно начата **лучевая терапия** на шейный отдел позвоночника. Несмотря на предпринятые терапевтические мероприятия, на фоне прогрессирующей неврологической симптоматики констатирован летальный исход.

ОБСУЖДЕНИЕ

Специфическое поражение ЦНС при индолентных лимфо-пролиферативных заболеваниях встречается редко и, несомненно, представляет большой интерес с точки зрения как частоты встречаемости при разных нозологических формах, так и разработки эффективных методов диагностики и терапии. Поскольку в этой группе заболеваний анализ спинномозговой жидкости не входит в процедуру первичного обследования, то точную частоту поражения ЦНС, в особенности при отсутствии клинических симптомов, установить на настоящий момент не представляется возможным. По данным литературы, чаще всего симптомы опухолевого поражения ЦНС наблюдаются при ЛМЗ с частотой приблизительно 9 % (2–23 %) [10, 11]. Очевидно, что эти цифры могли бы быть выше, если бы исследование ликвора входило в процедуру стадирования, а в ранних аутопсийных исследованиях эта нозологическая форма выделялась бы среди дру-

гих лимфо-пролиферативных заболеваний, в первую очередь ХЛЛ [7].

В нашем случае, несмотря на низкий уровень экспрессии CD23-антигена на опухолевых лимфоцитах, отсутствие гиперэкспрессии циклина D1 позволило исключить ЛМЗ.

Интересно отметить, что наличие моноклональной популяции В-лимфоцитов в спинномозговой жидкости не всегда указывает на опухолевое поражение. Так, в работе G. S. Nowakowski и соавт. из 12 больных с наличием моноклональной популяции В-лимфоцитов в ликворе только трое имели клинические и радиологические признаки опухолевого поражения. У 4 пациентов при отсутствии лимфо-пролиферативного заболевания наличие минорной моноклональной популяции в спинномозговой жидкости было связано с воспалительными процессами (менингит) и при разрешении воспаления в последующем не определялось [12].

Лимфоциты при В-ХЛЛ, как и нормальные иммунокомпетентные клетки, могут попадать в зону воспаления, что требует исключения инфекционных причин наличия В-клеточной моноклональной популяции в ликворе.

Терапия при В-ХЛЛ с поражением ЦНС обычно включает системное применение кортикостероидов, интратекальную химиотерапию и краниоспинальное облучение [13–15]. В сообщении S. Кпор и соавт. 2 пациента получали лучевое лечение и интратекальную терапию метотрексатом и погибли через 5 и 6 мес. соответственно после констатации специфических изменений ЦНС. Продолжительность жизни третьего больного, получавшего в качестве интратекальной терапии цитарабин, метотрексат и дексаметазон, составила 3 мес. [15]. В литературе есть несколько сообщений об успешном лечении поражения ЦНС внутривенным введением флударабина [15, 16]. В работе S. Кпор и соавт. продолжительность ремиссии у 2 пациентов без признаков поражения ЦНС составила 11 и 20 мес. соответственно [15]. О способности проникновения флударабина в ЦНС косвенно может свидетельствовать тот факт, что вводимый в дозе 50 мг/м² в течение 5 дней препарат вызывает нейротоксический эффект [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При В-ХЛЛ в отличие от других видов лейкоза выраженной неврологической симптоматике может сопутствовать внешне достаточно благополучное течение заболевания с небольшим лимфоцитозом, когда в проведении системной химиотерапии, казалось бы, еще нет необходимости [13, 15]. Это требует со стороны клинициста повышенного внимания к неврологическим симптомам, чтобы своевременно начать лечение этого часто фатального осложнения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Thomas F. P., Vallejos U., Foitl D. R. et al. B cell small lymphocytic lymphoma and chronic lymphocytic leukemia with peripheral neuropathy: two cases with neuropathological findings and lymphocyte marker analysis. *Acta Neuropathol.* 1990; 80(2): 198–203.
2. Grisold W., Jellinger K., Lutz D. Human neurolymphomatosis in a patient with chronic lymphatic leukemia. *Clin. Neuropathol.* 1990; 9(5): 224–30.
3. Williams H. M., Diamond H. D., Craver L. F., Parsons H. The pathogenesis and management of neurological complications of malignant lymphomas and leukemia. *Acta Uni. Int. Contr. Cancrum.* 1960; 16: 831–41.
4. Michalevicz R., Burstein A., Razon N. et al. Spinal epidural compression in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1989; 64(9): 1961–4.
5. Majumdar G., Singh A. K. Cord compression: a rare complication of chronic lymphocytic leukaemia. *J. Clin. Pathol.* 1992; 45(3): 258–9.
6. Morrison C., Shah S., Flinn I. W. Leptomeningeal involvement in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Pract.* 1998; 6(4): 223–8. Review.
7. Barcos M., Lane W., Gomez G. A. et al. An autopsy study of 1206 acute and chronic leukemias (1958 to 1982). *Cancer* 1987; 60(4): 827–37.
8. Cramer S. C., Glaspy J. A., Efrid J. T., Louis D. N. Chronic lymphocytic leukemia and the central nervous system: a clinical and pathological study. *Neurology* 1996; 46(1): 19–25. Review.
9. Lange C. P., Brouwer R. E., Brooimans R., Vecht Ch. J. Leptomeningeal disease in chronic lymphocytic leukemia. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2007; 109(10): 896–901.
10. Montserrat E., Bosh F., Lopez-Guillermo A. et al. CNS involvement in mantle-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 1996; 14(3): 941–4.
11. Valdez R., Kroft S. H., Ross C. W. et al. Cerebrospinal fluid involvement in mantle cell lymphoma. *Mod. Pathol.* 2002; 15(10): 1073–9.
12. Nowakowski G. S., Call T. G., Morice W. G. et al. Clinical significance of monoclonal B cells in cerebrospinal fluid. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2005; 63(1): 23–7.
13. Brick W. G., Majumdar M., Hendricks L. K. et al. Leukemic leptomeningeal involvement in stage 0 and stage 1 chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2002; 43(1): 199–201. Review.

14. *Marmont A. M.* Leukemic meningitis in B-cell chronic lymphocytic leukemia: resolution following intrathecal methotrexate. *Blood* 2000; 96: 776–77.

15. *Knop S., Herlinger U., Ernemann U.* Fludarabine may induce durable remission in patients with leptomeningeal involvement of chronic lym-

phocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2005; 46(11): 1593–8.

16. *Elliott M. A., Letendre L., Chin-Yang Li et al.* Chronic lymphocytic leukaemia with symptomatic diffuse central nervous system infiltration responding to therapy with systemic fludarabine. *Br.*

J. Haematol. 1999; 104(4): 689–94. Erratum in: *Br. J. Haematol.* 1999; 106(1): 264.

17. *Cheson B. D., Vena D. A., Foss F. M., Sorensen J. M.* Neurotoxicity of purine analogs: a review. *J. Clin. Oncol.* 1994; 12(10): 2216–28. Review.



Исследование качества жизни в онкогематологии

А. А. Новик, Т. И. Ионова

Quality of life research in hematocology

A. A. Novik, T. I. Ionova

Summary:

Quality of life research is a simple, safe and effective way to study the status of a patient with hematological malignancy before treatment, during antitumor therapy and at follow-up. The modern standards of quality of life research make it possible to get reliable information about quality of life parameters of a patient both in clinical studies and in routine practice. The domestic and international experience of quality of life research in patients with hematological malignancies demonstrates perspectives of this method.

Keywords:

quality of life, symptoms, hematocology, QoL questionnaire.

Pirogov National Medical Surgical Center, Moscow

Контакты: nqolc@yandex.ru

Принято в печать: 20 апреля 2008 г.

РЕФЕРАТ

Исследование качества жизни — простой, надежный и эффективный инструмент оценки состояния больного со злокачественным заболеванием системы крови до лечения, в ходе противоопухолевой терапии и в период ремиссии. Современные стандарты исследования качества жизни обеспечивают получение достоверных данных о параметрах качества жизни больного как в клинической практике, так и при проведении клинических исследований. Накопленный отечественный и международный опыт изучения качества жизни у онкогематологических больных демонстрирует большие перспективы этого метода.

Ключевые слова

качество жизни, симптомы, онкогематология, опросник оценки качества жизни.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование качества жизни в клинической медицине — уникальный подход, во многом изменивший традиционный взгляд на проблему болезни и больного. Результаты исследований 80–90-х годов прошлого века позволили понять, что традиционные критерии оценки эффективности лечения, опирающиеся на широкий спектр лабораторных и инструментальных показателей, отражают лишь биологическую составляющую картины болезни, но не дают полного представления о состоянии пациента: его физическом, психологическом, эмоциональном, социальном и духовном функционировании. Понятие «качество жизни» появилось в Index Medicus в 1977 г. и с тех пор широко используется в различных разделах медицины.

В онкогематологии исследования качества жизни проводятся более 30 лет. Необходимость этого направления закреплена в ряде документов, которыми руководствуется международное онкологическое сообщество. Согласно рекомендациям Управления по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA,

1985), оценку качества жизни больного следует включать в клинические исследования, связанные с внедрением новых лекарственных препаратов в онкологию. В 2006 г. FDA подготовлены рекомендации, специально посвященные методам оценки качества жизни и симптомов при определении эффективности лекарственных препаратов в клинических исследованиях. На совместной конференции Национального института рака США (NCI) и Американского общества клинической онкологии (ASCO) в 1996 г. постулировано, что качество жизни является вторым по значимости критерием оценки результатов противоопухолевой терапии после выживаемости [1].

Концепция исследования качества жизни в онкогематологии разработана на основании общей концепции исследования качества жизни в клинической медицине [2]. Ее наиболее важными составляющими являются следующие:

- определение понятия «качество жизни»;
- методология исследования качества жизни;
- основные направления применения оценки качества жизни в клинической практике и в научных исследованиях.

Специфичность концепции исследования качества жизни в онкогематологии связана с таким обширным и сложным разделом, как методология исследования.

Понятие «качество жизни»

Содержание данного понятия является принципиальным, т. к. в значительной степени определяет предмет и методы исследования, а также возможности клинической интерпретации полученных результатов. Дискуссии о содержании этого понятия ведутся до настоящего времени. В международной научной периодике можно встретить более 20 различных формулировок, описывающих качество жизни человека. Наиболее конкретным, структурным и точным является следующее: **качество жизни — интегральная характеристика физического, психологического, эмоционального и социального функционирования здорового или больного человека, основанная на его субъективном восприятии** [2]. Это определение понятия «качество жизни» логично и структурно связано с дефиницией здоровья, данной Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ): «Здоровье — это полное физическое, социальное и психологическое благополучие человека, а не просто отсутствие заболевания».

Методология исследования качества жизни опирается на большой международный опыт. В настоящее время разработаны методологические стандарты исследования качества жизни в различных разделах медицины, в т. ч. в онкогематологии, соблюдение которых необходимо при проведении исследований качества жизни.

Методологические стандарты исследования качества жизни в онкогематологии

При обсуждении методологических основ исследования качества жизни необходимо учитывать ряд особенностей обсуждаемой концепции. К ним относятся следующие.

Многомерность изучаемых параметров. Качество жизни включает в себя информацию об основных сферах жизнедеятельности человека: физической, психологической, духовной, социальной, экономической. Качество жизни оценивает компоненты, не связанные и связанные с заболеванием, и позволяет дифференцированно определить влияние болезни и лечения на состояние больного.

Изменяемость во времени. Показатели качества жизни изменяются во времени в зависимости от состояния больного, обусловленного рядом эндогенных и экзогенных факторов. Данные о качестве жизни наряду с общепринятыми клиническими параметрами позволяют осуществлять полноценный мониторинг состояния больного и при необходимости проводить коррекцию терапии.

Участие больного в оценке его состояния. Максимально точная и всесторонняя оценка состояния возможна на основании анализа объективных данных и спектра субъективных переживаний больного. Субъективная составляющая, получаемая с помощью больного, важна на этапе первичной диагностики, в процессе лечения и при оценке результатов терапии. Оценка качества жизни позволяет получить ценную информацию, отражающую общее состояние больного. Оценку качества жизни должен проводить больной. По данным многочисленных исследований, оценка качества жизни, выполненная больным, часто не совпадает с оценкой врача [3–6].

Методологические стандарты оценки качества жизни в клинической медицине предполагают строгое соблюдение следующих этапов исследования [7].

1. Разработка протокола.
2. Обследование больного.

3. Сбор данных.
4. Формирование базы данных.
5. Шкалирование данных опросника.
6. Статистическая обработка данных.
7. Анализ и интерпретация результатов.

Методологические особенности исследования качества жизни в онкогематологии касаются следующих этапов: разработка протокола исследования, обследование больного, анализ и интерпретация результатов, их сопоставление с клиническими данными.

Разработка протокола — обязательный компонент при исследовании качества жизни. Основными разделами протокола являются:

- Цели и задачи исследования.
- Критерии включения/исключения больных.
- Дизайн исследования.
- Клиническая карта больного.
- Описание инструментов исследования.
- Обоснование объема выборки.
- Требования к мониторингу.
- Информированное согласие больного на участие в исследовании.
- Таблицы учета данных.
- Рекомендации по проведению исследования.

Среди разделов протокола особого внимания заслуживает **дизайн** исследования. Именно при разработке дизайна учитывают особенности оценки качества жизни больных со злокачественными заболеваниями системы крови. Дизайн исследования является структурно-логической схемой действий, обеспечивающих выполнение целей и задач протокола. Разработка дизайна включает характеристику этапов исследования и описание форм, которые заполняют в каждой точке исследования.

К основным формам в рамках протокола оценки качества жизни относятся клиническая карта больного, которая заполняется врачом-исследователем, и опросник, который заполняется больным.

Клиническая карта создается отдельно для каждого протокола исследования качества жизни. При разработке клинической карты учитывают следующие положения.

- Клиническая карта должна содержать сбалансированную демографическую и клиническую информацию, предназначенную для последующего статистического анализа.
- Объем данных, включенных в клиническую карту, определяется целями и задачами исследования.
- Формат карты должен быть простым и удобным для переноса информации в базу данных.

Результаты исследования качества жизни во многом зависят от правильного выбора **опросника**. Выбор опросника представляет собой сложную аналитическую задачу, которая должна быть решена в строгом соответствии с целью и задачами исследования.

Инструменты оценки качества жизни в онкогематологии

Для оценки качества жизни больных с онкогематологическими заболеваниями применяют как общие, так и специальные опросники качества жизни. Общие опросники предназначены для оценки качества жизни как здоровых, так и больных, независимо от вида заболевания. Специальные опросники ориентированы на определенные виды патологии или состояния.

Среди общих опросников наиболее распространенным в онкогематологии является RAND SF-36 [8]. Опросник разработан корпорацией RAND как часть многолетнего крупномасштабного проекта Medical Outcomes Study. Опро-

сник SF-36 может применяться как у здоровых людей, так и у больных, в т. ч. при онкологических заболеваниях. Возраст респондентов должен быть 14 лет и старше. Инструмент состоит из 36 вопросов, которые формируют 8 шкал. Количество вопросов в каждой из шкал опросника варьирует от 2 до 10, на каждый вопрос предлагаются различные варианты ответов. Количество возможных ответов колеблется от 2 до 6. Ответы на вопросы представлены в виде шкал Ликерта. Шкала Ликерта представляет собой горизонтально или вертикально расположенные оси с указанием вариантов ответов на вопрос, каждому из которых соответствует цифра. После шкалирования (т. е. перевода необработанных данных в баллы качества жизни) результаты исследования выражают в баллах от 0 до 100 по каждой из 8 шкал. Чем выше балл по шкале опросника SF-36, тем лучше показатель качества жизни.

Ниже представлены специальные опросники, которые используют у онкогематологических больных:

- EORTC QLQ-C 30;
- FACT-G;
- Rotterdam Symptom Checklist (RSC);
- Functional Living Index Cancer (FLIC);
- Cancer Inventory of Problem Situations (CIPS);
- Rehabilitation Evaluation System (CARES).

Наиболее распространенными являются EORTC QLQ-C 30 и FACT-G. Эти опросники широко используют в многоцентровых клинических исследованиях в Европе, США и Канаде.

Опросник Европейской организации исследования и лечения рака — EORTC QLQ-C30 — разработан Группой оценки качества жизни Европейской организации исследования и лечения рака (EORTC Quality of Life Study Group) [9]. Современная 3-я версия состоит из 30 вопросов и включает:

- 5 функциональных шкал — физическое функционирование (ФФ), ролевое функционирование (РФ), когнитивное функционирование (КФ), эмоциональное функционирование (ЭФ) и социальное функционирование (СФ);
- 3 шкалы симптоматики — слабость (С), тошнота/рвота (Т/Р) и боль (Б);
- шкалы общего качества жизни (ОКЖ);
- 6 одиночных пунктов — нарушения сна (НС), анорексия (А), констипация (К), диарея (Д), одышка (О), финансовые затруднения (ФЗ).

Обратим внимание на то, что, согласно интерпретации авторов опросника, шкала ролевого функционирования отражает ограничения, возникающие у больного при выполнении работы, включая работу по дому; шкала социального функционирования — уровень социальной активности (общения) больного.

Functional Assessment of Cancer Therapy-General (FACT-G) — опросник оценки функций онкологического больного, разработан D. Cella и соавт. в Центре исследования результатов лечения (США) [10]. Современная версия FACT-G включает 27 вопросов и оценивает качество жизни по 4 шкалам: физического, социального, эмоционального функционирования и благополучия в повседневной жизни.

Оба опросника (EORTC QLQ-C30 и FACT-G) модульные, т. е. включают базовый опросник, к которому может быть добавлен модуль — перечень специфичных вопросов с учетом того или иного типа опухоли или программы лечения. Особо отметим следующие модули EORTC QLQ-C30:

- модуль для больных лейкозами — EORTC QLQ-Leu;
- модуль для больных с лимфомами — EORTC QLQ-H8LQ;

- модуль для больных с множественной миеломой — EORTC QLQ-Mye.

При исследовании качества жизни у больных после трансплантации костного мозга (ТКМ)/трансплантации стволовых кроветворных клеток (ТСКК) основным инструментом является FACT-BMT [11]. Данный инструмент относится к специальным опросникам оценки качества жизни и является модулем общего опросника FACT-G [10].

Опросники оценки симптомов в онкогематологии

В последние годы в онкогематологии все большее внимание уделяется оценке симптомов.

К инструментам оценки субъективных симптомов относят:

- единичные шкалы: визуально-аналоговые, цифровые оценочные и вербально-аналоговые, или шкалы вербальных оценок;
- опросники для оценки одного симптома (например, боли, слабости);
- опросники для оценки спектра основных симптомов.

Наиболее распространенные инструменты для оценки боли:

- Brief Pain Inventory (BPI);
- McGill Pain Questionnaire;
- Memorial Pain Assessment Card.

Для оценки слабости применяют:

- Brief Fatigue Inventory (BFI);
- Pearson-Byars Fatigue Feeling Checklist;
- Fatigue Assessment Instrument;
- Fatigue Symptom Inventory;
- Cancer Fatigue Scale.

В связи с тем, что пациенты с онкогематологическими заболеваниями испытывают, как правило, не один, а множество симптомов, в ряде клинических ситуаций целесообразна комплексная оценка симптомов.

Для оценки спектра актуальных симптомов разработаны следующие опросники:

- M. D. Anderson Symptom Inventory;
- Symptom Assessment Scale;
- The Rotterdam Symptom Checklist;
- The Edmonton Symptom Assessment System.

Наиболее широкое распространение в международном сообществе получил опросник оценки основных симптомов M. D. Anderson Symptom Inventory — MDASI (авторы — Ch. Cleeland и др., Центр изучения рака M. D. Anderson Center, США) [12]. С его помощью можно получить информацию о выраженности 13 основных симптомов, а также оценить их влияние на основные стороны жизнедеятельности больного.

Опросник имеет следующую структуру:

- 13 цифровых (0–10) оценочных шкал для определения выраженности боли, слабости, тошноты, рвоты, сухости во рту, одышки, сонливости, нарушения сна, нарушения аппетита, нарушения памяти, чувства подавленности, грусти, а также онемения (покалывания) за последние 24 ч (от 0 — полное отсутствие симптома до 10 — максимальная выраженность симптома, которую можно представить);
- 6 цифровых (0–10) оценочных шкал для определения степени влияния симптомов на различные аспекты жизни больного за последние 24 ч: общая активность, настроение, отношения с другими людьми, работа, способность двигаться и радоваться жизни (от 0 — отсутствие влияния симптомов на ту или иную составляющую жизнедеятельности до 10 — симптомы полностью изменяют один из аспектов жизни).

Ценным качеством данного инструмента является сочетание простой структуры и многомерности получаемой информации. Опросник MDASI, так же как краткий опросник оценки боли BPI и краткий опросник оценки слабости BFI, переведен на русский язык в соответствии с международными требованиями [13]. Русские версии указанных выше опросников обладают необходимыми психометрическими свойствами и могут быть использованы в клинических исследованиях и клинической практике [14].

Основные направления применения оценки качества жизни в клинической практике и в научных исследованиях

Международный и отечественный опыт исследований качества жизни у больных с онкогематологическими заболеваниями свидетельствует о значительных перспективах метода. В настоящее время выделяют следующие направления исследования качества жизни в онкогематологии:

- Качество жизни как критерий эффективности лечения (в клинической практике и клинических исследованиях).
- Качество жизни как критерий эффективности лекарственного препарата (в клинических исследованиях).
- Качество жизни как прогностический фактор (в клинической практике и клинических исследованиях).
- Качество жизни в ремиссии (в клинической практике и клинических исследованиях).
- Качество жизни как компонент фармакоэкономических расчетов (в клинических исследованиях).

Рассмотрим на примерах некоторые возможности применения метода оценки качества жизни в онкогематологии.

Качество жизни как критерий оценки эффективности лечения

В рамках клинических исследований качество жизни может быть дополнительным или основным критерием оценки эффективности терапии в зависимости от целей и задач протокола. Качество жизни является основным критерием в том случае, когда не выявлены достоверные различия в выживаемости между группами больных, включенных в исследование. В этой ситуации именно на основании данных о качестве жизни может быть сделан выбор оптимальной программы лечения. К настоящему времени выполнено достаточно много исследований, в которых показатели качества жизни включены как один из критериев эффективности лечения онкогематологических больных [15–18].

В качестве примера приведем результаты многоцентрового рандомизированного исследования по сравнению эффективности стандартной химиотерапии СНОР и схемы МАСОР-В у больных с агрессивными неходжкинскими лимфомами (НХЛ), выполненного Северной лимфмойной группой [15]. В качестве критериев эффективности лечения использовали показатели выживаемости и качества жизни. В исследование включено 405 первичных больных с агрессивными НХЛ. Критерии включения были следующими: возраст 18–67 лет; агрессивная НХЛ высокой степени злокачественности согласно Кильской классификации (центробластная, иммунобластная, анапластическая крупноклеточная и периферическая Т-клеточная); II–IV стадия. Согласно международному прогностическому индексу (МПИ), распределение больных было следующим: 52 % пациентов низкого риска по МПИ; 28 % — низкого промежуточного риска по МПИ; 13 % — высокого промежуточного риска по МПИ; 7 % — высокого риска по МПИ. Для оценки качества жизни использовали опросник EORTC QLQ-C30: больные заполняли опросник до лечения и в различные сроки между 6-й и 56-й неделей лечения.

Между группами больных не было обнаружено различий ни в общей выживаемости (5-летняя выживаемость по программе МАСОР-В и СНОР — 60 и 59 % соответственно), ни в безрецидивной выживаемости (5-летняя выживаемость по программе МАСОР-В и СНОР — 47 и 44 % соответственно). При этом такие показатели, как физическое функционирование и общее качество жизни, были ниже в группе, получающей МАСОР-В (рис. 1). Кроме того, данная группа больных характеризовалась большим количеством и выраженностью симптомов, связанных с лечением. Особо следует отметить гораздо более высокий уровень слабости после завершения лечения у больных в группе, получающей МАСОР-В, по сравнению с группой СНОР. Таким образом, на основании комплексной оценки эффективности химиотерапии, включающей изучение параметров качества жизни, было показано, что схема СНОР остается «золотым стандартом» в лечении агрессивных лимфом низкой степени риска по МПИ. Поиск новых методов лечения с интенсификацией режимов химиотерапии для улучшения выживаемости необходим для группы больных высокого риска.

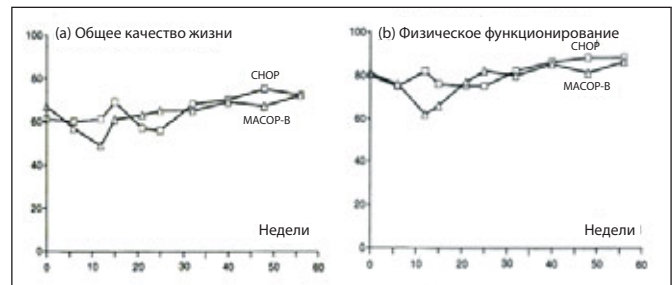


Рис. 1. Показатели общего качества жизни (а) и физического функционирования (б) больных с агрессивными НХЛ, получающих лечение по программе СНОР или МАСОР-В (опросник EORTC QLQ-C30)

Качество жизни как прогностический фактор

В ряде исследований доказано, что параметры качества жизни больного могут быть информативными факторами прогноза выживаемости. Заслуживают внимания данные о независимой прогностической значимости параметров качества жизни у онкогематологических больных [19]. Рассмотрим прогностические возможности показателей качества жизни у больных множественной миеломой [20]. Традиционными прогностическими факторами выживаемости у этих больных являются растворимый интерлейкиновый рецептор, β 2-микроглобулин и общесоматический статус, причем наиболее широко в клинической практике используют два последних критерия. Было показано, что независимыми прогностическими факторами выживаемости при множественной миеломе являются также параметры качества жизни: физическое, ролевое и когнитивное функционирование, общее качество жизни и такие симптомы, как слабость и боль. Причем общесоматический статус, определенной врачом, и физическое функционирование, оцененное самим больным, — это независимые прогностические факторы выживаемости. В группе больных высокого риска были очень низкие показатели физического функционирования (0–20 баллов) (рис. 2), в группе промежуточного риска — средние (40–60 баллов), в группе низкого риска — высокие (80–100 баллов).

Таким образом, оценка качества жизни до лечения позволяет получить ценную дополнительную информацию для стратификации и прогнозирования течения ряда онкогематологических заболеваний.

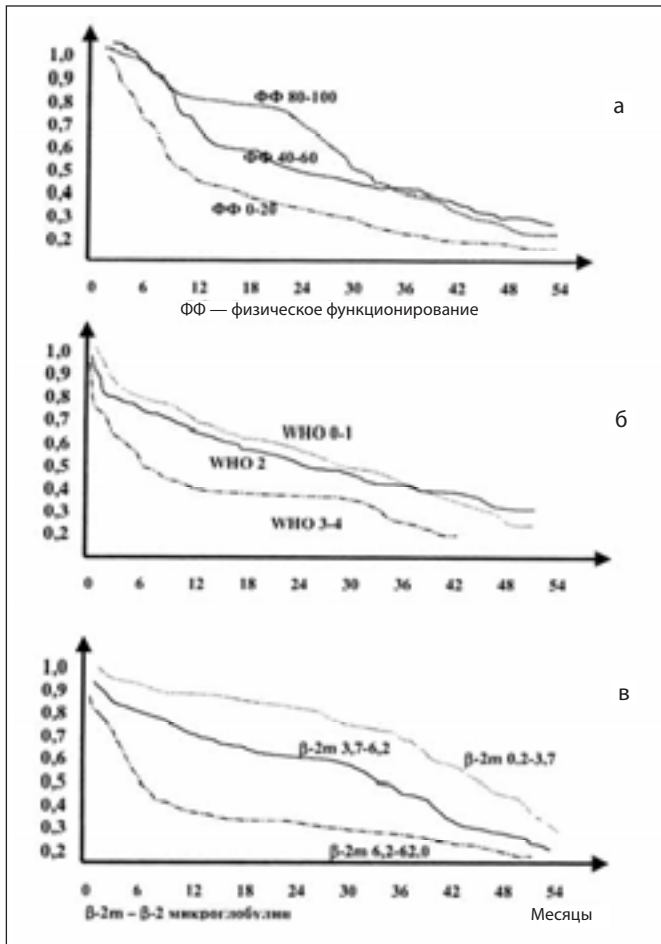


Рис. 2. Кривые выживаемости больных множественной миеломой (мелфалан/преднизолон ± интерферон-α) в зависимости от (F. Wisloff et al., 1997):
 а — уровня физического функционирования; б — общесоматического статуса; в — уровня β2-микроглобулина (мг/л)

Качество жизни в ремиссии

Данные о качестве жизни в фазе ремиссии позволяют сравнить эффективность различных терапевтических программ, применяемых в дебюте заболевания или при его обострении. В целом можно говорить о том, что при онкогематологических заболеваниях в фазе полной ремиссии качество жизни является основным критерием оценки состояния больного. Примером, иллюстрирующим данное утверждение, является изучение качества жизни у респондентов, имеющих в анамнезе лимфому Ходжкина (ЛХ) [21]. У всех лиц, включенных в исследование, полная ремиссия составила 10 лет и более. Качество жизни оценивали с помощью

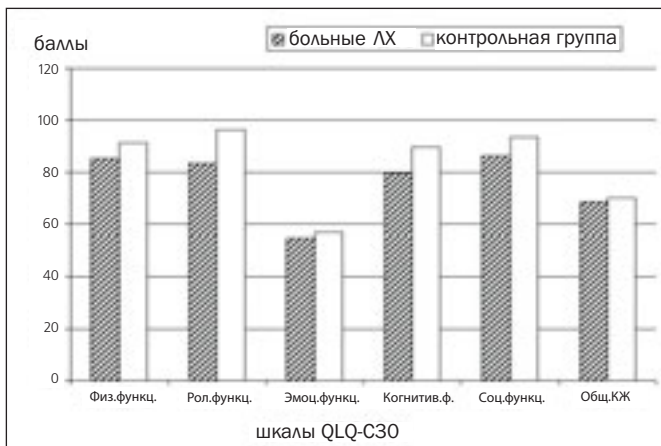


Рис. 3. Показатели качества жизни по шкалам функционирования у лиц, излеченных от лимфогранулематоза, и в контрольной группе. По оси абсцисс — шкалы функционирования опросника EORTC QLQ-C30, по оси ординат — баллы

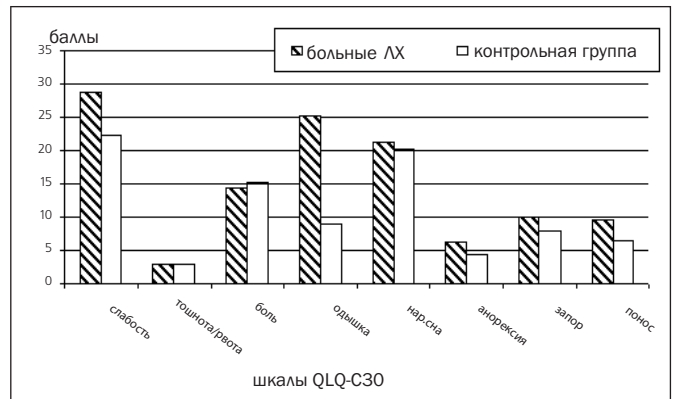


Рис. 4. Показатели качества жизни по шкалам симптоматики у лиц, излеченных от лимфогранулематоза, и в контрольной группе. По оси абсцисс — шкалы симптоматики опросника EORTC QLQ-C30, по оси ординат — баллы.

опросника EORTC QLQ C-30. Контрольную группу составили здоровые лица. Сравнительная характеристика показателей качества жизни у обследованных с ЛХ в анамнезе и у здоровых лиц представлена на рис. 3 и 4. Проведенное исследование показало, что параметры качества жизни практически по всем шкалам опросника EORTC QLQ C-30 у лиц, перенесших ЛХ, отличаются в худшую сторону по сравнению со здоровыми. Так, у них были значительно ниже показатели физического, психологического и социального функционирования. Наибольшие различия наблюдались по шкалам симптоматики: у перенесших ЛХ были более выражены одышка и слабость.

Анализ результатов обсуждаемого протокола, а также данных многочисленных исследований, посвященных этой проблеме, позволяет сделать ряд принципиальных заключений:

- излечение больного от опухоли не является эквивалентом его выздоровления, т. е. полного восстановления параметров его физического, психологического и социального функционирования, нарушенных вследствие болезни и лечения;
- традиционных клинических, лабораторных и инструментальных тестов недостаточно для того, чтобы верифицировать полное выздоровление пациента;
- наряду с традиционными клиническими, лабораторными и инструментальными исследованиями при верификации полноты ремиссии и/или излечения пациента необходима оценка параметров качества его жизни.

Качество жизни в фармакоэкономических расчетах

Вопросы планирования противоопухолевого лечения сложны не только с патогенетической, этической или психологической стороны, но и с точки зрения расчета и прогнозирования эффекта «цена-качество». В современных фармакоэкономических расчетах широко используют данные о качестве жизни. Одним из примеров применения метода оценки качества жизни в фармакоэкономических расчетах при выборе оптимального метода лечения агрессивных НХЛ является проведенное в Голландии многоцентровое рандомизированное исследование, опирающееся на анализ «стоимость-эффективность» [22]. Оценивали эффективность двух программ лечения больных с агрессивными НХЛ, достигших частичного ответа на стандартную терапию СНОР. После проведения трех курсов СНОР больные, достигшие частичной ремиссии, были рандомизированы на две группы: 1-я группа получала высокодозную химиотерапию с аутологичной трансплантацией костного мозга (АТКМ), 2-я группа продолжала стандартную химиотерапию по программе СНОР (от 3 до 5 курсов). Через 3 года после завершения лечения между группами не было обнаружено статистически

значимых различий в общей и безрецидивной выживаемости. Вместе с тем результаты оценки качества жизни показали более низкие параметры качества жизни в группе, получившей АТКМ. При этом средняя стоимость лечения по программе СНОР была значительно ниже, чем при АТКМ.

Проведенный расчет соотношения «стоимость-эффективность» с вычислением параметра QALY (год жизни больного, прожитый с поправкой на его качество) показал, что АТКМ у больных с агрессивными НХЛ с частичным ответом на индукционную терапию не имеет преимуществ по сравнению с терапией по программе СНОР. Таким образом, высокодозная химиотерапия с АТКМ у больных с агрессивными НХЛ с частичным ответом на стандартную индукционную терапию не может быть рекомендована как программа выбора, т. к. она не приводит к улучшению показателей выживаемости и качества жизни и является более дорогостоящей.

Следует особо отметить, что одна из задач фармакоэкономических расчетов состоит в определении такого метода лечения больного, который обеспечивает больному максимально высокое качество жизни при минимальных затратах на лечение.

В заключение отметим, что исследование качества жизни — простой, надежный и эффективный инструмент оценки состояния онкогематологического больного до лечения, в ходе противоопухолевой терапии и в период ремиссии. Оценка качества жизни позволяет получить ценную дополнительную информацию о пациенте и способствует улучшению результатов лечения. Хорошо разработанная методология обеспечивает получение достоверных данных о параметрах качества жизни больного как в клинической практике, так и при проведении клинических исследований. Исследования качества жизни, основанные на международных стандартах, открывают новые возможности точного описания и измерения многоплановых функциональных нарушений у онкогематологического больного, связанных с заболеванием и его лечением. Накопленный отечественный и международный опыт изучения качества жизни в онкогематологии показывает, что это исключительно перспективный метод, позволяющий вернуться на новом витке эволюции к важнейшему принципу клинической практики «лечить не болезнь, а больного».

ЛИТЕРАТУРА

1. American Society for Clinical Oncology. Outcomes of cancer treatment for technology assessment and cancer treatment guidelines. JCO 1996; 14 (3): 671–9.
2. Новик А. А., Ионова Т. И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине. — Санкт-Петербург: ОЛМА-ПРЕСС Звездный мир, 2002. — 315 с.
3. Ganz J. Do We Need a New End Point in Clinical Trials Today? Natl. Cancer Inst. 1989; 81: 1105–6.
4. de Haes J. C., van Knippenberg F. C. Quality of life instruments for cancer patients: "Babel's tower" revisited. J. Clin. Epidemiol. 1989; 42: 1239–41.
5. de Haes J. C. J. M., van Knippenberg F. C. E. Quality of life of cancer patients. Review of the literature. In: The quality of life of cancer patients / N. K. Aaronson, J. H. Beckmann (eds.). — New York: Raven Press, 1987. — P. 167–82.
6. Williams G. H. Assessing patient wellness: new perspectives on quality of life and compliance. AJN 1998; 11(1–2): 186–91.
7. Новик А. А., Ионова Т. И. Исследование качества жизни в медицине: Учеб. пос. /Под ред. Ю. Л. Шевченко. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004. — С. 294.
8. Hays R. D., Sherbourne C. D., Mazel R. M. User's Manual for Medical Outcomes Study (MOS) Core measures of health-related quality of life. RAND Corporation, MR-162-RC (available at www.rand.org).
9. Aaronson N. K., Ahmedzai S., Bergman B. et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: A quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. J. Nat. Cancer Inst. 1993; 85: 365–76.
10. Bonomi A. E., Cella D. F., Hahn E. A. et al. Multilingual translation of the Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT) Quality of Life Measurement System. Qual. Life Res. 1996; 5: 1–12.
11. McQuellon R. P., Russell G. B., Cella D. F. et al. Quality of life measurement in bone marrow transplantation; development of the functional assessment of cancer therapy/bone marrow transplant (FACT-BMT) scale. Bone Marrow Transplant. 1997; 19: 357–68.
12. Cleeland C. S., Mendoza T. R., Wang X. S. et al. Assessing symptom distress in cancer patients: the M. D. Anderson Symptom Inventory. Cancer 2000; 89: 1634–46.
13. Cleeland C. S., Mendoza T. R., Wang X. S. et al. Assessing symptom distress in cancer patients: the M. D. Anderson Symptom Inventory. Cancer 2000; 89: 1634–46.
14. Калядина С. А., Иванова М. О., Успенская О. С. и др. Валидация русских версий опросников для оценки симптомов у онкологических больных: краткого опросника оценки боли (BPI-R), краткого опросника оценки слабости (BFI-R) и опросника оценки основных симптомов (MDASI-R). Вестн. межнац. центра исслед. качества жизни. 2004; 3–4: 37–44.
15. Новик А. А., Ионова Т. И. Исследование качества жизни у больных лимфомами. Вестн. межнац. центра исслед. качества жизни 2006; 7/8: 121–37.
16. Jerkeman M., Anderson H., Cavallin-Stahl E. et al. CHOP versus MACOP-B in aggressive lymphoma — a Nordic Lymphoma Group randomized trial. Ann. Oncol. 1999; 10: 1079–86.
17. Aviles A., Duque G., Talavera A. et al. Interferon alpha 2b as maintenance therapy in low grade malignant lymphoma improves duration of remission and survival. Leuk. Lymphoma 1996; 20: 495–9.
18. Hetzel-Sesterheim M., Schnabel K., Nestle U. Primary cerebral non-Hodgkin's lymphomas. The results of radiotherapy. Leukemia 1996; 10(4): 707–12.
19. Guha-Thakurta N., Damek D., Pollack C. et al. Intravenous methotrexate as initial treatment for primary central nervous system lymphoma response to therapy and quality of life of patients. J. Neurooncol. 1999; 43: 259–68.
20. Jerkeman M., Kaasa S., Hjermstad M. et al. Health-related quality of life and its potential prognostic implications in patients with aggressive lymphoma: a Nordic Lymphoma Group Trial. Med. Oncol. 2001; 18(1): 85–94.
21. Wisloff F., Hjorth M. Health-related quality of life assessed before and during chemotherapy predicts for survival in multiple myeloma. Nordic Lymphoma Group. Br. J. Haematol. 1997; 97: 29–37.
22. Joly F., Henry-Amar M., Arveux P. et al. Late psychosocial sequelae in Hodgkin's disease survivors: a French population-based case control study. J. Clin. Oncol. 1996; 14(9): 2444–53.
23. Uyl-de Groot C. A., Hagenbeek A., Verdonck L. F. et al. Cost-effectiveness of ABMT in comparison with CHOP chemotherapy in patients with intermediate- and high-grade malignant non-Hodgkin's lymphoma (NHL). Bone Marrow Transplant. 1995; 16: 463–70.

Свертывание крови: методы исследования и механизмы регуляции (часть 2)

М. А. Пантелеев, Ф. И. Атауллаханов

Blood coagulation: methods of research and mechanisms of regulation

M. A. Panteleev, F. I. Ataullakhanov

Keywords:

hemostasis, thrombosis, blood coagulation, clotting assays, thrombelastography, thrombin generation, spatial dynamics.

National Research Center for Hematology, Moscow

Контакты: mpanteleev@yandex.ru

Принято в печать: 24 марта 2008 г.

Ключевые слова

гемостаз, тромбоз, свертывание крови, тесты свертывания, тромбэластография, генерация тромбина, пространственная динамика.

ВВЕДЕНИЕ

Система свертывания крови является частью системы гемостаза, функция которого заключается в остановке кровотечения при повреждении кровеносного сосуда. Чаще всего в гемостазе выделяют следующие основные элементы: 1) **сосудистый гемостаз** — сокращение гладких мышц при повреждении сосуда ведет к вазоконстрикции и уменьшению потери крови; 2) **тромбоцитарный гемостаз** — тромбоциты, специализированные клетки крови, прилипают к месту повреждения и друг к другу, формируя агрегаты, препятствующие кровопотере; 3) **плазменный гемостаз, или свертывание**, — в месте повреждения происходит полимеризация белка фибрина, приводящая к формированию геля и локальному превращению плазмы крови в плотный сгусток, полностью блокирующий потерю крови; 4) **фибринолиз** — по мере восстановления поврежденных тканей система фибринолиза разрушает фибриновый сгусток.

Само по себе формирование фибринового сгустка осуществляется в результате всего лишь одной, хотя и достаточно сложной реакции — полимеризации белка фибрина [1]. Однако для того, чтобы эта полимеризация происходила в нужное время и в нужном месте (а в остальное время не происходила, ибо неконтролируемое свертывание смертельно опасно), в организме существует крайне сложная система свертывания. Она состоит из десят-

ков белков, взаимодействующих в сотнях реакций друг с другом, со стенками нормальных и поврежденных сосудов, с клетками крови. Ее устройство на настоящий момент достаточно хорошо изучено, но принципы этого устройства и механизмы регуляции системы до сих пор остаются плохо понятными. И поэтому сейчас исследователи редко могут с уверенностью предсказать, как поведет себя свертывание при том или ином воздействии. А это сильно ограничивает развитие методов диагностики и лечения заболеваний, связанных с нарушениями свертывания.

Лишь в последние десятилетия постепенно наметились черты нового подхода к изучению свертывания. Недавние открытия новых белков и реакций в этой системе знаменовали собой переход в ее познании от стадии анализа к стадии синтеза, произошедший в начале 1990-х годов. С тех пор количество работ, посвященных различным видам теоретического и экспериментального моделирования свертывания, возросло лавинообразно [2–7]. Работы последних лет привели к появлению новых методов, моделей и концепций — экспериментальных, математических, умозрительных. К исследователям в этой области постепенно приходит осознание того, что невозможно понимать свертывание, основываясь исключительно на его биохимии. Процессы диффузии белков и переноса их кровотоком являются ключевыми в регуляции этой системы, которая по своему устройству является принципиально пространственно неоднородной.

Настоящая статья является второй в нашей серии обзоров, посвященных современным представлениям о каскаде свертывания крови. Первая часть была сосредоточена на детальном рассмотрении биохимического устройства системы свертывания. Здесь же мы делаем следующий логический шаг, пытаемся ответить на вопрос: а как эта система работает? С этой целью рассматриваются методы исследования свертывания и существующие сведения о том, как оно функционирует в организме. Темой заключительной, третьей части обзора будет использование современных знаний о регуляции свертывания крови для практических задач: разработки лекарственных препаратов, диагностики и терапии нарушений свертывания.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящее время регуляция свертывания крови находится в состоянии интенсивного изучения, состояние знания о ней остается достаточно неустойчивым. Исследователи нередко получают противоречащие друг другу результаты, используя различные подходы. По этой причине обсуждение используемых методов должно предшествовать любому обсуждению полученных результатов.

Особенности свертывания *in vivo* и их исследование *in vitro*

Какими качествами эти методы должны обладать, чтобы корректно отражать свертывание *in vivo*?

1. Биохимия: в экспериментальной модели должны присутствовать все те же биохимические реакции, что и в организме, и они должны проходить с теми же скоростями. Подавляющее большинство реальных экспериментальных систем не удовлетворяет этому требованию. Например, тест активированного частичного тромбопластинового времени проводится в условиях, очень далеких от условий в организме, что, однако, не помешало ему успешно использоваться для фундаментальных исследований и диагностики на протяжении многих десятилетий. Это хорошо иллюстрирует общий принцип, применимый к данному и последующим требованиям: они должны выполняться не абсолютно точно, но в достаточной степени, чтобы полученные результаты имели физиологический смысл.

2. Компоненты системы: в модели должны присутствовать не только белки свертывания, но и прочие участники процесса свертывания — клетки крови, эндотелия и субэндотелия. Подавляющее большинство работ по свертыванию выполняется на бедной тромбоцитами плазме. Достаточно редко исследования проводятся в богатой плазме или цельной крови. Как и в предыдущем случае, такое упрощение не является абсолютно запрещенным, но накладывает ограничения на применимость получаемых результатов.

3. Пространство: система должна учитывать неоднородность свертывания *in vivo*. Иначе говоря, факторы свертывания, активированные в одном месте, диффундируют в другое для того, чтобы выполнить там свою функцию.

4. Поток: физиологическое свертывание функционирует в присутствии кровотока. Этот поток непрерывно приносит к месту повреждения новые факторы свертывания взамен израсходованных, а также уносит активные факторы. Строго говоря, нужно также учесть, что этот поток является пульсирующим.

5. Какое свертывание изучается? В зависимости от состояния системы свертывания и от типа активации экспериментальная система может моделировать разные процессы. Например, она может хорошо имитировать тромбоз (формирование патологического сгустка ВНУТРИ сосуда,

препятствующего нормальному кровоснабжению), но полученные данные о регуляции свертывания могут быть неприменимы к гемостазу (формирование физиологического сгустка, обычно ВНЕ сосуда, препятствующего кровопотере). Процесс свертывания может протекать по-разному и регулироваться различными механизмами в зависимости от скорости потока и размера сосуда (артерия, вена, капилляр), от величины активации (глубокое повреждение или соскабливание эндотелия), от локализации активатора (точечное ранение или массовое попадание тканевого фактора в кровь при тяжелой операции).

6. Удобство использования. Этот последний показатель не имеет прямого отношения к тому, насколько правильно модель имитирует свертывание в организме, скорее, наоборот. Тем не менее его уместно привести в списке требований, которые мы предъявляем к диагностическим и исследовательским системам. Речь идет о том, что эти системы должны быть оптимальными не только с точки зрения соответствия реальному свертыванию, но и с точки зрения стоимости, воспроизводимости, объема и ценности получаемой информации, неинвазивности и т. д. В настоящее время уже существуют методы, позволяющие изучать формирование тромба *in vivo* [8]. Однако стоимость оборудования, затруднительность изменения условий, низкая воспроизводимость, обилие экспериментальных артефактов делают такие методы плохо подходящими для большинства исследовательских задач. А высокая инвазивность почти исключает их использование в диагностике.

Подводя итог, можно заключить, что экспериментальные и математические модели свертывания должны быть максимально адекватными свертыванию *in vivo*, но не больше, чем нужно для выполнения поставленной задачи.

Экспериментальные модели свертывания *in vivo*

Основа практически всех используемых подходов такого рода заключается в нанесении подопытному животному контролируемого повреждения с тем, чтобы вызвать гемостатическую или тромботическую реакцию. Можно рассмотреть несколько наиболее типичных конкретных методов, фигурирующих в современных работах.

Время кровотечения [9]. Человеку или лабораторному животному наносится контролируемый надрез или прокол, после чего регистрируется время прекращения кровотечения. В клинической практике надрез обычно делается поверхностным, и тест служит для характеристики первичного, сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. При исследованиях на лабораторных животных стандартным и широко распространенным подходом является вариант «хвостового кровотечения». В зависимости от величины повреждения и условий эксперимента этот тест позволяет наблюдать нарушения разных частей системы гемостаза. Из всех подходов *in vivo* этот тест — самый простой и дешевый. Он также единственный, который допустимо использовать на человеке.

FeCl₃-индуцированный тромбоз [10]. Крупный сосуд животного (обычно сонная артерия) хирургически обнажается, фиксируется и термостатируется. К нему прикладывается небольшой кружок фильтровальной бумаги, пропитанной раствором FeCl₃, который вызывает химический ожог, повреждение стенки сосуда и формирование тромба. Обычно несколько выше по потоку крови размещается электромагнитный датчик, который регистрирует изменение потока по мере перекрытия артерии. Данный подход используется только для исследования тромбоза. Метод относительно прост и недорог, но не позволяет детально наблюдать рост тромба в реальном времени и применим только к достаточно крупным сосудам.

Лазер-индуцированный тромбоз [8]. В этом подходе лазерный луч используется для того, чтобы повредить эндотелий сосуда, расположенного под кожей и доступного для наблюдения. Формирование тромба регистрируется оптически с помощью конфокального микроскопа. Для этого в кровь мыши вводятся антитела к факторам свертывания, и их накопление в тромбе может быть зарегистрировано по флуоресценции в реальном времени. Типичный эксперимент подобного рода изображен на рис. 1. Этот метод используется только для исследования тромбоза. Его преимущество — возможность нанесения очень точных микроскопических повреждений, высокая временная и пространственная разрешающая способность. Исследования с его помощью возможны лишь в небольших подкожных сосудах. Существенный недостаток такого подхода — артефактное воздействие антител на формирующийся тромб.

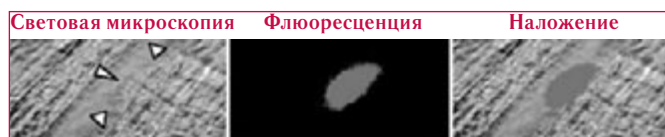


Рис. 1. Формирование тромба *in vivo* в модели тромбоза, индуцированного лазером. Повреждение наносится лазерным лучом, сфокусированным на стенке артериолы мыши. В кровь мыши предварительно вводятся антитела к различным компонентам тромба (в данном случае — к активированным тромбоцитам). Путем наложения фотографий, снятых без ультрафиолетового освещения и в различных каналах флуоресценции (авторы работы использовали до трех каналов, одновременно измеряя тромбоциты, фибрин и тканевый фактор), можно получить комбинированное изображение структуры растущего тромба. Делая снимки с короткими промежутками на протяжении нескольких минут, можно получить видеопленку тромба, растущего в организме. Воспроизведено из [8]

Поскольку каждая из существующих моделей обладает ограниченной областью применения, для максимальной эффективности обычно используется комбинация как минимум двух моделей: одной для гемостаза и одной для тромбоза.

В настоящее время общепринятым животным для изучения свертывания и первичного тестирования лекарственных препаратов стали мыши — сравнительно недорогие, небольшие, быстро растущие и размножающиеся. Для них существует большое количество генетических линий с разнообразными мутациями факторов свертывания. К сожалению, тут есть и обратная сторона: мыши достаточно далеки от человека и имеют некоторые серьезные отличия в системе гемостаза [11] (например, у них не существует тромбинового рецептора PAR-1 на тромбоцитах и не бывает атеросклероза).

Экспериментальные модели свертывания *in vitro*: классические

Классическая постановка эксперимента по свертыванию *in vitro* заключается в том, что плазма крови (или кровь) смешивается в некоторой емкости с активатором, после чего проводится наблюдение за процессом свертывания.

По типу активации эти постановки можно разделить на активируемые по:

- 1) внутреннему пути (тест активированного частичного тромбопластинового времени — АЧТВ; время рекальцификации — ВР);
- 2) внешнему пути (например, тест протромбинового времени — ПВ).

По типу исследуемого объекта можно выделить следующие группы методов:

- 1) в бедной тромбоцитами плазме (АЧТВ, ПВ, ВР, генерация тромбина);
- 2) в богатой тромбоцитами плазме (генерация тромбина);
- 3) в цельной крови (тромбоэластография).

По методу наблюдения все методы подразделяются на две группы:

- 1) наблюдение за самим процессом свертывания по свето-пропусканию или вязкости (АЧТВ, ПВ, ВР, тромбоэластография);
- 2) наблюдение за кинетикой факторов свертывания (генерация тромбина).

Эта классификация не является жесткой, т. к. многие подходы могут быть адаптированы к иным условиям. Например, для генерации тромбина и тромбоэластографии они могут быть активированы по любому пути. К тому же, как мы увидим ниже, для всех методов существуют модификации, позволяющие проводить измерения в любой среде — от бедной плазмы до цельной крови.

Рассмотрим конкретные методы.

Тесты времени свертывания. Наиболее распространенными методами исследования свертывания являются АЧТВ и ПВ. Тесты обычно выполняются на бедной тромбоцитами плазме, в некоторых случаях они могут проводиться и на цельной крови. Обычно эти варианты используются в тех случаях, когда доступно очень мало крови, или когда лабораторное оборудование недоступно, или когда некогда центрифугировать (анализы у новорожденных, домашний контроль за приемом оральных антикоагулянтов, исследование свертывания у аквариумных рыбок).

Тест ПВ был создан в 1935 г. Армандом Квиком [12]. В этом тесте активация производится высокой концентрацией тромбопластина, что ведет к быстрому (10–15 с) свертыванию нормальной плазмы. При недостатке факторов VII, X, V, II это время увеличивается. Изначально этот тест предназначался только для выявления протромбина, единственного известного на тот момент белка каскада свертывания (за исключением фибриногена). Однако последующие исследования обнаружили удлинение ПВ у некоторых пациентов с нормальным протромбином, что привело к открытию новых факторов свертывания. ПВ также увеличивается при назначении многих антикоагулянтов, и этот тест сыграл значительную роль в открытии некоторых из них, в т. ч. варфарина.

Использование различных тромбопластинов нередко дает сильно различающиеся зависимости ПВ от концентрации факторов свертывания. Поэтому результаты теста обычно выражают с использованием международного нормализованного отношения. Этот параметр рассчитывается по формуле:

$$MHO = \left(\frac{PV_{\text{образец}}}{PV_{\text{контроль}}} \right)^{MICH}$$

где *MHO* — международное нормализованное отношение, *PV*_{образец} — время свертывания исследуемой плазмы, *PV*_{контроль} — время свертывания контрольной нормальной плазмы, а *MICH* — международный индекс чувствительности тромбопластина, который определяется каждым производителем для своего тромбопластина.

В тесте ПВ используется очень сильная активация по внешнему пути. Она приводит к тому, что фактор X очень быстро активируется внешней теназой и внутренний путь свертывания не успевает внести заметного вклада. Поэтому ПВ не меняется при дефиците факторов внутреннего пути, в т. ч. при всех видах гемофилии. Для того чтобы диагностировать гемофилию, в 1953 г. был создан тест АЧТВ.

В АЧТВ активация свертывания производится по контактному пути, обычно с добавлением каолина. Само название «активированное частичное тромбопластиновое время» является неправильным и вводящим в заблуждение, т. к. тромбопластина в современном понимании там как раз нет. Но тест и название для него появились задолго до того, как молекулярное устройство тканевого фактора и состав тромбопластина были выяснены. В норме плазма в АЧТВ свора-

чивается за 30–40 с. Это время увеличивается при дефиците факторов свертывания II, X, V, VIII, IX, XI, а также факторов контактной активации. Как и ПВ, АЧТВ увеличивается не только при простых дефицитах, но и при использовании разнообразных антикоагулянтов, волчаночном антикоагулянте, коагулопатии потребления и других сложных нарушениях свертывания.

Как видно из этих описаний, оба теста не являются специфичными. Для выяснения конкретных причин нарушения обычно необходимы дополнительные исследования. Стандартной стратегией в таких случаях является определение времени свертывания при смешивании исследуемой плазмы с плазмами, дефицитными по разным факторам свертывания, в соотношении 1:1. Дело в том, что АЧТВ и ПВ обладают низкой чувствительностью и начинают увеличиваться только при падении активности факторов до 30 % нормы. Поэтому смешивание исследуемой и дефицитной плазмы дает нормальное время свертывания почти всегда, за исключением единственного случая, когда в этих плазмах не хватает одного и того же фактора.

Время свертывания в обоих тестах почти не меняется при прокоагулянтных изменениях в плазме (тромбофилии и гиперкоагуляционные состояния).

Считается, что в совокупности эти два теста более или менее характеризуют оба пути свертывания и их комбинация является стандартной для анализа крови. Иногда, в зависимости от показаний и от финансовых затруднений медицинского учреждения, они дополняются более специальными (тромбиновое время, активация некальцифицированной плазмы тромбином; этот тест позволяет диагностировать дефицит фибриногена и антитромбина III) или более дешевыми тестами (ВР, свертывание плазмы при простом добавлении кальция; плохо поддается стандартизации, т. к. по существу активация свертывания происходит от контакта с поверхностью пробирки, зато не требует никаких реагентов, кроме кальция).

Важной модификацией стандартных тестов является так называемый анализ формы сигнала (waveform analysis). При обычном измерении АЧТВ приборы обычно регистрируют только время свертывания плазмы. В новом же подходе коагулометр непрерывно измеряет и записывает величину светопропускания как функцию времени, а сама форма этой кривой является важным диагностическим показателем. Обнаружено, что изменение светопропускания в тесте АЧТВ при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания имеет характерный двухфазный вид (рис. 2, А); в норме светопропускание начинает падать только после некоторой задержки, а при патологии падение начинается немедленно после рекальцификации, а затем ускоряется [13]. Было показано, что это изменение светопропускания вызвано не свертыванием, а преципитацией одного из плазменных белков в присутствии кальция [13]. Чувствительность и специфичность раннего обнаружения диссеминированного внутрисосудистого свертывания таким методом составили 97,6 и 98 % соответственно [14].

Тромбоэластография. Метод тромбоэластографии был создан Хеллмуттом Хартертом в 1948 г. Она основана на измерении физической прочности сгустка. Небольшое количество крови (обычно около 0,4 мл) помещается в кювету, которая совершает медленные (6 раз в минуту) вращательные колебания на несколько градусов (4,5°). В камеру помещается стержень датчика и добавляются активаторы свертывания. Когда в кювете формируется сгусток, стержень начинает вращаться вместе со сгустком. Амплитуда отклонения стержня регистрируется как функция времени. Типичная кривая тромбоэластографии изображена на рис. 2, Б.

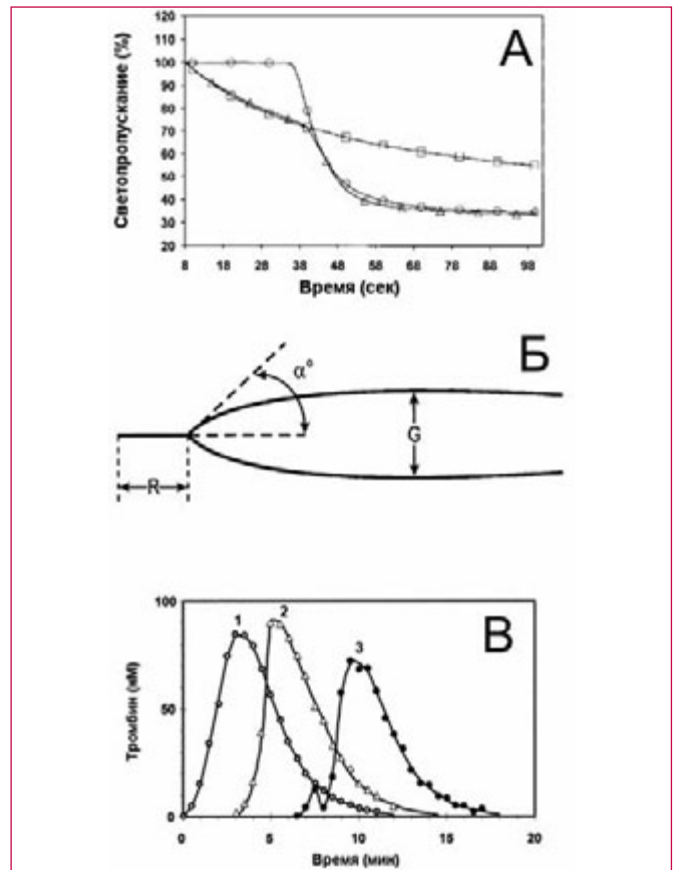


Рис. 2. Современные тесты свертывания крови:

А — анализ формы сигнала в АЧТВ: светопропускание регистрируется как функция времени для нормальной плазмы (O), плазмы с двухфазной формой сигнала (Δ) и ее же при добавлении гирудина (□). Воспроизведено из [13]. Вместо традиционного времени свертывания в этом методе снимается вся кривая (символы на рисунке показаны лишь для того, чтобы пометить кривые). Различия в ее форме позволяют выявить ранние фазы диссеминированного внутрисосудистого свертывания; Б — тромбоэластограмма (по [52]). Изображены стандартные параметры: время реакции (R , мин), скорость формирования сгустка (α , градусы); В — генерация тромбина: 1 — бедная тромбоцитами плазма при активации тканевым фактором, 2 — бедная тромбоцитами плазма при активации каолином, 3 — богатая тромбоцитами плазма, запущена свертыванием рекальцификацией. Воспроизведено из [15]

Хотя кривая практически симметрична относительно оси абсцисс вследствие того, что амплитуд на самом деле две (для колебаний в каждую сторону), в тромбоэластографии традиционно изображают обе половинки кривой. На ней можно выделить разнообразные параметры, характеризующие как скорость формирования сгустка, так и его финальные характеристики.

Основные достоинства тромбоэластографии: 1) возможность измерить свертывание в цельной крови — это ближе к ситуации *in vivo* и позволяет не тратить время на подготовку плазмы; 2) возможность измерять реальную прочность сгустка, а не условные оптические характеристики типа светопропускания, которые могут ее отражать недостоверно; 3) возможность использовать все разнообразие активаторов свертывания и фибринолиза, позволяет изучать и диагностировать нарушения разных элементов системы свертывания.

Генерация тромбина. Тромбин — главный фермент системы свертывания крови. Исследование кинетики тромбина может принести массу дополнительной информации, которая недоступна из простого наблюдения за процессом полимеризации фибрина. Оно обычно проводится с помощью хромогенных или флюорогенных субстратов [15, 16]. Такой синтетический субстрат представляет собой молекулу, которая распознается и разрезается сериновой протеиназой. Этот разрез ведет к отщеплению от субстрата сигнальной молекулы, метки. Метка либо изменяет оптическую

плотность раствора (хромогенный, т. е. окрашивающий субстрат), либо способна флюоресцировать при освещении (флюорогенный субстрат). Скорость увеличения сигнала пропорциональна концентрации тромбина, так что зависимость тромбина от времени получается из экспериментальной кривой путем простого дифференцирования. Начиная с 1990-х годов метод генерации тромбина начал активно использоваться в клинике. Разработанный и развиваемый Конрадом Хемкером в Нидерландах, этот подход с каждым годом все более активно применяется в Европе, в последние годы он также стал доступен почти по всему миру. Обзор этого метода на русском языке можно найти в работе Х. К. Хемкера и С. Бегуина [17].

Типичная кривая генерации тромбина приведена на рис. 2. В. Как правило, в этой кривой выделяют два основных параметра: лаг-тайм (время задержки свертывания) и тромбиновый потенциал (площадь под кривой генерации тромбина). Многочисленные эксперименты и испытания показали, что эти два параметра — эффективные показатели патологических процессов.

Как и при тромбозластографии, результаты теста генерации тромбина существенно зависят от условий эксперимента: метода активации, концентрации активатора, использования бедной или богатой плазмы, добавления вспомогательных веществ. Меняя эти параметры, можно выявлять разнообразные нарушения свертывания. Стандартная активация небольшим количеством тканевого фактора в бедной плазме используется для выявления дефицита факторов свертывания [18]. Она удобна для массового анализа образцов, особенно когда требуется их транспортировка или заморозка. Генерация тромбина в богатой плазме может дополнительно выявлять нарушения тромбоцитарного свертывания, успешно обнаруживая склонность к кровотечениям при тромбастении Гланцманна, болезни Бернара—Сулье, приеме антитромбоцитарных препаратов [19]. Если добавить в плазму тромбомодулин, то этот тест становится максимально близким к ситуации *in vivo* и начинает определять даже некоторые тромбофилические нарушения: мутацию фактора свертывания Лейден V, последствия приема оральные контрацептивов и др. [20].

***In vitro*: учет пространственной неоднородности и потока**

Легко заметить колоссальный разрыв, существующий между описанными выше экспериментальными моделями *in vivo* и гомогенными диагностическими тестами *in vitro*. Свертывание в организме протекает неоднородно. Иначе говоря, формирование сгустка происходит в пространстве. Оно запускается внешней теназой на поврежденной стенке, распространяется с участием протромбиназы на активированных тромбоцитах в объеме плазмы и тормозится реакциями с участием тромбомодулина на здоровом эндотелии. Адекватно изучить эти процессы с помощью гомогенных методов невозможно. Вторым важным фактором является наличие потока крови.

Осознание этих проблем привело к появлению начиная с 1970-х годов разнообразных проточных экспериментальных систем *in vitro* [21–24]. Несколько больше времени потребовалось на осознание пространственных аспектов проблемы. Только в 1990-х годах стали появляться методы, учитывающие пространственную неоднородность и диффузию факторов свертывания [3, 25, 26], и только в последние десятилетия они стали активно использоваться в научных лабораториях [4, 27–35]. Коммерчески доступных вариантов таких методов для диагностики пока не существует.

Основные принципы устройства пространственно неоднородных экспериментальных постановок можно пояснить

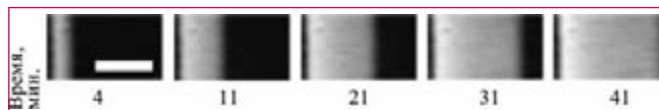


Рис. 3. Рост фибринового сгустка в экспериментальной модели свертывания в реакционно-диффузионной системе. Свертывание активировалось в тонком слое неперемешиваемой рекальцифицированной плазмы монослоем клеток, экспрессирующих тканевый фактор. Формирование фибринового сгустка регистрировалось по светорассеянию методом темного поля. Темная полоска слева — активатор (пленка с фибробластами). Серая расширяющаяся полоса — растущий от активатора фибриновый сгусток. Белая линия на первом кадре показывает масштаб 1 мм, белый прямоугольник — область около активатора. Воспроизведено из [30]

на примере установки, разработанной в нашей лаборатории (рис. 3). В этом приборе свертывание происходит в кювете, содержащей неперемешиваемую рекальцифицированную плазму. В качестве активатора используется поверхность с иммобилизованными фибробластами, клетками с большим количеством поверхностного тканевого фактора. При контакте плазмы с этой поверхностью на ней начинается свертывание, которое затем распространяется от активатора в глубь плазмы и которое можно наблюдать по светорассеянию от растущего сгустка. Такая экспериментальная модель хорошо себя зарекомендовала в исследовательской работе и продемонстрировала хорошую чувствительность к различным нарушениям системы свертывания [25, 27, 29–31, 34].

РЕГУЛЯЦИЯ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Каскадное устройство системы свертывания

Начнем наш анализ регуляции свертывания с самого простого и очевидного вопроса: какова функция его каскадного устройства? Есть один фермент, который распознает место повреждения, — это фактор VIIa, который связывается с тканевым фактором. Есть другой фермент, который делает сгусток, — это тромбин, который производит фибрин и активирует фибринстабилизирующий фактор XIII. Для чего же нужны все остальные факторы? Нельзя ли было сделать систему попроще?

Первая гипотеза, объясняющая необходимость ферментативного каскада, появилась в 1960-х годах [36], сразу после того, как концепция каскада утвердилась в свертывании. Эта идея, навеянная физическими соображениями, предполагала, что каскад работает простым усилителем. Представим себе каскад из N ферментов, каждый из которых активирует следующий фермент ниже по каскаду. Для простоты пусть все реакции происходят с одинаковыми скоростями. Пусть за некий промежуток времени первый фермент каскада может активировать 10 молекул второго фермента. Тогда за следующий промежуток каждая из этих 10 сможет активировать 10 молекул третьего. Увеличивая длину каскада, мы можем получить громадное усиление исходного сигнала.

Но эксперимент показал, что такая гипотеза вряд ли правильна. В системе свертывания возможность каскадного усиления не реализуется. Напротив, при взгляде на систему вообще возникает ощущение, что дополнительное усиление ей не нужно. Дело в том, что скорости реакций свертывания как будто бы нарочно замедлены: они идут на много порядков медленнее, чем обычно протекают реакции такого типа. Например, одиночный фактор Ха практически не активирует протромбин [37]. Зачем так сделано? Никаких физических законов, запрещающих сделать эту реакцию быстрой, не существует. Это свидетельствует о том, что усиление сигнала не является тем принципом, из-за которого эволюция привела к появлению каскадной структуры. Если бы было нужно простое усиление, этого можно было бы добиться с помощью одной реакции, работающей на несколько порядков быстрее.

Точного ответа на вопрос о роли каскадной структуры пока не существует. Однако некоторые соображения высказывались.

Прежде всего, зависимость конечного сигнала от времени для ферментативного каскада кардинально отличается от зависимости для одного фермента. Один фермент, работающий с постоянной скоростью, дает линейную зависимость концентрации продукта от времени. У каскада из N ферментов, эта зависимость будет иметь вид t^N , где t — время [36]. Скорее всего, для эффективной работы системы важно, чтобы ответ носил именно такой, «взрывной» характер. Именно это может объяснить распространенность ферментативных каскадов в биологии.

Кроме того, можно видеть, что ни одна из ступеней каскада не работает как просто ступень, к каждой подключена какая-то регуляция. На факторы XI, IX, X идут разнообразные положительные и отрицательные обратные связи. А тромбин, наоборот, является источником этих многочисленных обратных связей. Таким образом, структура каскада эффективно и удобно используется для того, чтобы «навешивать» на него управляющие элементы. Можно также отметить, что добавление положительных обратных связей превращает кинетику каскада из степенной (вида t^N) в экспоненциальную (вида e^{kt}), еще более усиливая «взрывность» ответа системы. Так мы естественно переходим к теме следующего раздела.

Запуск свертывания и роль положительных обратных связей

Как упоминалось выше, многие реакции свертывания «преднамеренно» замедлены. Так, факторы IXa и Xa сами по себе являются очень «плохими» ферментами и для эффективного функционирования нуждаются в кофакторах — факторах VIIIa и Va соответственно. Эти кофакторы активируются тромбином в петлях положительных обратных связей. В нашем рассмотрении системы свертывания мы и раньше сталкивались с примерами «намеренной порчи» ферментов с регуляторной целью. Например, так устроена работа фактора VIIa, который нуждается в тканевом факторе для запуска свертывания. Там идея ясна: нужно, чтобы свертывание запускалось только в присутствии тканевого фактора. А зачем же портить остальные реакции каскада?

Существование и устройство этих реакций стали известными к концу 1970-х годов [38–40], но только 10 лет спустя были высказаны первые обоснованные предположения об их предназначении. В теоретической работе М. А. Ханина [2] показано, что добавление в каскад положительных обратных связей может приводить к появлению в системе нескольких устойчивых состояний, между которыми возможно переключение. Позднее эти положения были развиты в других работах [32, 41–43].

В совокупности они привели к следующей концепции. Положительные обратные связи в сочетании с ингибиторами факторов свертывания способны формировать порог — свойство системы почти не реагировать на малую активацию, но быстро срабатывать при появлении большой. Подобное качество представляется весьма ценным для свертывания. Несмотря на то что система тканевый фактор — фактор VIIa сама по себе способна распознавать места повреждения, эта система на любые повреждения отвечает пропорционально их размеру. Иными словами, одна-единственная молекула тканевого фактора, попавшая в кровоток, теоретически могла бы вызвать свертывание, пусть и через долгое время. Система с положительными обратными связями и ингибиторами способна более продуманно реагировать на повреждения: она будет почти полностью игнорировать маленькие, случай-

но присутствующие молекулы активатора, но при превышении порога ответит всей своей мощью.

Роль внутреннего пути в пространственной динамике свертывания

«Золотой эпохой» исследования свертывания крови принято называть период с середины 1940-х по начало 1960-х годов [12]. Именно за этот промежуток времени было открыто подавляющее большинство факторов системы свертывания и в итоге сформулирована гипотеза о ее каскадной структуре. Разгадывать смысл и функцию открытых факторов пришлось последующим поколениям.

Одной из интригующих загадок, преследовавших биохимиков на протяжении многих лет после «золотой эпохи», была загадочная роль фактора XI. Как и прочие факторы свертывания, он был обнаружен в функциональном тесте: плазма от больного гемофилией С не свертывалась в тесте АЧТВ [12]. Смешивание дефицитных плазм от разных доноров и комбинирование АЧТВ и ПВ позволили выяснить, что фактор XI работает во внутреннем пути свертывания и находится в каскаде между факторами IX и XII. Но, к величайшему удивлению исследователей, фактор XII (единственный известный тогда активатор фактора XI) не имел никакой наблюдаемой роли в гемостазе. Его дефицит в отличие от дефицита фактора XI не сопровождался нарушениями свертывания [44].

Частично тайна была раскрыта почти 40 лет спустя, когда с развитием биохимии была обнаружена активация фактора XI тромбином [45]. По-видимому, эта медленная реакция (само существование которой было предметом споров еще на протяжении 10 лет) объясняет физиологическую активацию фактора XI в организме при активации по внешнему пути. Из-за избытка тромбопластина в тесте ПВ вклад этой реакции не виден — он становится заметным только при уменьшении активации [46]. Но зачем же дополнительно активировать фактор IX с помощью фактора XIa, когда фактор IX и так прекрасно активируется внешней теназой? Более того, если подумать, то и фактор IX не кажется очень нужным. Фактор X тоже активируется напрямую внешней теназой в мощной реакции, и необходимость в дополнительной активации внутренней теназой выглядит непонятной. Как мы помним, ответы типа «внешняя теназа слишком медленна и потому нужна внутренняя» неправильны: нет никаких физических запретов, которые помешали бы эволюции сделать эту реакцию быстрее.

Один из наиболее правдоподобных вариантов разгадки роли внутреннего пути был предложен с появлением пространственно неоднородных экспериментальных систем [27, 29–31, 43, 47]. Как описывалось выше, в отличие от традиционных подходов АЧТВ, ПВ, генерации тромбина и тромбоэластографии, в пространственно неоднородных системах активатор свертывания локализован в небольшой области экспериментальной кюветы. Из-за этого начинает иметь значение диффузия факторов свертывания. Обнаружено, что положительные обратные связи имеют большое значение именно для распространения свертывания. Эффективная активация фактора X внешней теназой на активаторе не поможет сформировать сгусток вдали от активатора, т. к. фактор Xa быстро ингибируется в плазме и не может далеко отойти от активатора. Зато фактор IXa, который ингибируется на порядок медленнее, вполне на это способен. А там, куда тяжело дойти и ему, начинает работать фактор XIa, активированный тромбином. Таким образом, наличие петли положительных обратных связей помогает создать трехмерную структуру сгустка, позволяя ему эффективно формироваться вдали от активатора.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Blomback B.* Fibrinogen and fibrin — proteins with complex roles in hemostasis and thrombosis. *Thromb. Res.* 1996; 83(1): 1–75.
2. *Khanin M. A., Semenov V. V.* A mathematical model of the kinetics of blood coagulation. *J. Theor. Biol.* 1989; 136(2): 127–34.
3. *Ataullakhanov F. I., Guria G. T., Sarbash V. I., Volkova R. I.* Spatiotemporal dynamics of clotting and pattern formation in human blood. *Biochim. Biophys. Acta* 1998; 1425(3): 453–68.
4. *Hoffman M., Monroe D. M.* A cell-based model of hemostasis. *Thromb. Haemost.* 2001; 85(6): 958–65.
5. *Ataullakhanov F. I., Pantelev M. A.* Mathematical modeling and computer simulation in blood coagulation. *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 2005; 34(2–3): 60–70.
6. *Mann K. G., Brummel-Ziedins K., Orfeo T., Butenas S.* Models of blood coagulation. *Blood Cells Mol. Dis.* 2006; 36(2): 108–17.
7. *Pantelev M. A., Ananyeva N. M., Ataullakhanov F. I., Saenko E. L.* Mathematical models of blood coagulation and platelet adhesion: clinical applications. *Curr. Pharm.* 2007; 13(14): 1457–67.
8. *Falati S., Gross P., Merrill-Skoloff G.* et al. Real-time *in vivo* imaging of platelets, tissue factor and fibrin during arterial thrombus formation in the mouse. *Nat. Med.* 2002; 8(10): 1175–81.
9. *Dejana E., Villa S., de Gaetano G.* Bleeding time in rats: a comparison of different experimental conditions. *Thromb. Haemost.* 1982; 48(1): 108–11.
10. *Kurz K. D., Main B. W., Sandusky G. E.* Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride. *Thromb. Res.* 1990; 60(4): 269–80.
11. *Jirouskova M., Shet A. S., Johnson G. J.* A guide to murine platelet structure, function, assays, and genetic alterations. *J. Thromb. Haemost.* 2007; 5(4): 661–9.
12. *Owen C. A.* A History of Blood Coagulation. — Rochester: Mayo Foundation, 2001.
13. *Toh C. H., Samis J., Downey C.* et al. Biphasic transmittance waveform in the APTT coagulation assay is due to the formation of a Ca(++)-dependent complex of C-reactive protein with very-low-density lipoprotein and is a novel marker of impending disseminated intravascular coagulation. *Blood* 2002; 100(7): 2522–9.
14. *Downey C., Kazmi R., Toh C. H.* Early identification and prognostic implications in disseminated intravascular coagulation through transmittance waveform analysis. *Thromb. Haemost.* 1998; 80(1): 65–9.
15. *Hemker H. C., Beguin S.* Phenotyping the clotting system. *Thromb. Haemost.* 2000; 84(5): 747–51.
16. *Hemker H. C., Al Dieri R., De Smedt E., Beguin S.* Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. *Thromb. Haemost.* 2006; 96(5): 553–61.
17. *Хемкер Х. К., Бегуин С.* Фенотипирование системы свертывания. Новое в трансфузиол. 2004; 39: 53–69.
18. *Al Dieri R., Peyvandi F., Santagostino E.* et al. The thrombogram in rare inherited coagulation disorders: its relation to clinical bleeding. *Thromb. Haemost.* 2002; 88(4): 576–82.
19. *Hemker H. C., Al Dieri R., Beguin S.* Thrombin generation assays: accruing clinical relevance. *Curr. Opin. Hematol.* 2004; 11(3): 170–5.
20. *Dargaud Y., Trzeciak M. C., Bordet J. C.* et al. Use of calibrated automated thrombinography +/- thrombomodulin to recognise the prothrombotic phenotype. *Thromb. Haemost.* 2006; 96(5): 562–7.
21. *Baumgartner H. R.* The role of blood flow in platelet adhesion, fibrin deposition, and formation of mural thrombi. *Microvasc. Res.* 1973; 5(2): 167–79.
22. *Weiss H. J., Turitto V. T., Baumgartner H. R.* Role of shear rate and platelets in promoting fibrin formation on rabbit subendothelium. Studies utilizing patients with quantitative and qualitative platelet defects. *J. Clin. Invest.* 1986; 78(4): 1072–82.
23. *Balasubramanian V., Grabowski E., Bini A., Nemerson Y.* Platelets, circulating tissue factor, and fibrin colocalize in *ex vivo* thrombi: real-time fluorescence images of thrombus formation and propagation under defined flow conditions. *Blood* 2002; 100(8): 2787–92.
24. *Sakariassen K. S., Turitto V. T., Baumgartner H. R.* Recollections of the development of flow devices for studying mechanisms of hemostasis and thrombosis in flowing whole blood. *J. Thromb. Haemost.* 2004; 2(10): 1681–90.
25. *Атауллаханов Ф. И., Волкова Р. И., Гурия Г. Т., Сарбаш В. И.* Пространственные аспекты свертывания крови. III. Рост сгустков *in vitro*. Биофизика 1995; 40(6): 1320–8.
26. *Hoffman M., Monroe D. M., Oliver J. A., Roberts H. R.* Factors IXa and Xa play distinct roles in tissue factor-dependent initiation of coagulation. *Blood* 1995; 86(5): 1794–801.
27. *Ovanesov M. V., Krasotkina J. V., Ul'yanova L. I.* et al. Hemophilia A and B are associated with abnormal spatial dynamics of clot growth. *Biochim. Biophys. Acta* 2002; 1572(1): 45–57.
28. *Hoffman M., Monroe D. M. III.* The action of high-dose factor VIIa (FVIIa) in a cell-based model of hemostasis. *Dis. Mon.* 2003; 49(1): 14–21.
29. *Ovanesov M. V., Lopatina E. G., Saenko E. L.* et al. Effect of factor VIII on tissue factor-initiated spatial clot growth. *Thromb. Haemost.* 2003; 89(2): 235–42.
30. *Ovanesov M. V., Ananyeva N. M., Pantelev M. A.* et al. Initiation and propagation of coagulation from tissue factor bearing cell monolayers to plasma: initiator cells do not regulate spatial growth rate. *J. Thromb. Haemost.* 2005; 3(2): 321–31.
31. *Pantelev M. A., Ovanesov M. V., Kireev D. A.* et al. Spatial propagation and localization of blood coagulation are regulated by intrinsic and protein C pathways, respectively. *Biophys. J.* 2006; 90(5): 1489–500.
32. *Kastrup C. J., Runyon M. K., Shen F., Ismagilov R. F.* Modular chemical mechanism predicts spatiotemporal dynamics of initiation in the complex network of hemostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006; 103(43): 15747–52.
33. *Hoffman M., Monroe D. M.* Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol. Oncol. Clin. N. Am.* 2007; 21(1): 1–11.
34. *Sinauridze E. I., Kireev D. A., Popenko N. Y.* et al. Platelet microparticle membranes have 50– to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb. Haemost.* 2007; 97(3): 425–34.
35. *Faxalv L., Tengvall P., Lindahl T. L.* Imaging of blood plasma coagulation and its propagation at surfaces. *J. Biomed. Mater. Res.* 2007.
36. *Levine S. N.* Enzyme amplifier kinetics. *Science* 1966; 152: 651–3.
37. *Monkovic D. D., Tracy P. B.* Activation of human factor V by factor Xa and thrombin. *Biochemistry* 1990; 29(5): 1118–28.
38. *Nesheim M. E., Mann K. G.* Thrombin-catalyzed activation of single chain bovine factor V. *J. Biol. Chem.* 1979; 254(4): 1326–34.
39. *Nesheim M. E., Taswell J. B., Mann K. G.* The contribution of bovine Factor V and Factor Va to the activity of prothrombinase. *J. Biol. Chem.* 1979; 254(21): 10952–62.
40. *van Dieijen G., Tans G., Rosing J., Hemker H. C.* The role of phospholipid and factor VIIa in the activation of bovine factor X. *J. Biol. Chem.* 1981; 256(7): 3433–42.
41. *Beltrami E., Jesty J.* The role of membrane patch size and flow in regulating a proteolytic feedback threshold on a membrane: possible application in blood coagulation. *Math. Biosci.* 2001; 172(1): 1–13.
42. *Jesty J., Beltrami E.* Positive feedbacks of coagulation: their role in threshold regulation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25(12): 2463–9.
43. *Zarnitsina V. I., Pokhilko A. V., Ataullakhanov F. I.* A mathematical model for the spatio-temporal dynamics of intrinsic pathway of blood coagulation. II. Results. *Thromb. Res.* 1996; 84(5): 333–44.
44. *Colman R. W., Schmaier A. H.* Contact system: a vascular biology modulator with anticoagulant, profibrinolytic, antiadhesive, and proinflammatory attributes. *Blood* 1997; 90: 3819–43.
45. *Gailani D., Broze G. J. Jr.* Factor XI activation in a revised model of blood coagulation. *Science* 1991; 253(5022): 909–12.
46. *He R., Xiong S., He X.* et al. The role of factor XI in a dilute thromboplastin assay of extrinsic coagulation pathway. *Thromb. Haemost.* 2001; 85(6): 1055–9.
47. *Oliver J. A., Monroe D. M., Roberts H. R., Hoffman M.* Thrombin activates factor XI on activated platelets in the absence of factor XII. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999; 19(1): 170–7.
48. *Walker F. J., Fay P. J.* Regulation of blood coagulation by the protein C system. *FASEB J.* 1992; 6(8): 2561–7.
49. *Esmon N. L., DeBault L. E., Esmon C. T.* Proteolytic formation and properties of gamma-carboxyglutamic acid-domainless protein C. *J. Biol. Chem.* 1983; 258: 5548–53.
50. *Fay P. J.* Activation of factor VIII and mechanisms of cofactor action. *Blood Rev.* 2004; 18(1): 1–15.
51. *Dorffler-Melly J., deKruif M., Schwarte L. A.* et al. Functional thrombomodulin deficiency causes enhanced thrombus growth in a murine model of carotid artery thrombosis. *Basic Res. Cardiol.* 2003; 98(6): 347–52.
52. *Nielsen V. G., Lyster R. T. III, Gurley W. Q.* The effect of dilution on plasma coagulation kinetics determined by thrombelastography is dependent on antithrombin activity and mode of activation. *Anesth. Analg.* 2004; 99(6): 1587–92, table.

Резолюция совещания группы экспертов по диагностике и лечению хронического лимфолейкоза, Москва, 15 мая 2008 г.

УЧАСТНИКИ ЭКСПЕРТНОГО СОВЕЩАНИЯ

Д-р мед. наук, проф. Майя Александровна Волкова [1]; д-р мед. наук, проф. Андрей Юрьевич Зарицкий [2]; канд. мед. наук Тамара Павловна Загоскина [3]; Марина Евгеньевна Голубева [4]; Валентина Захаровна Молостова [5]; канд. мед. наук Евгений Александрович Никитин [6]; канд. мед. наук Татьяна Евгеньевна Бялик [1]

[1] ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

[2] Санкт-Петербургский университет им. Павлова, Федеральный центр сердца, крови, эндокринологии им. Алмазова, Санкт-Петербург

[3] ФГУ «Кировский НИИ гематологии и переливания крови Росмедтехнологии», г. Киров

[4] Краевая клиническая больница № 1, г. Хабаровск

[5] Городской гематологический центр, г. Пермь

[6] ГУ Гематологический научный центр РАМН, Москва

Инициативная группа гематологов, имеющих опыт в лечении хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), обсудили современные подходы к лечению заболевания на основании данных крупных международных исследований и анализа отечественного опыта лечения ХЛЛ.

ХЛЛ является самым частым видом лейкозов у взрослых. Благодаря достижениям современной медицины для многих таких пациентов существуют препараты, которые позволяют достигать долгосрочной ремиссии, продлевать жизнь без болезни, улучшая ее качество. Стандартом такой терапии на сегодняшний день являются флударабинсодержащие режимы и моноклональные антитела (ритуксимаб и алемтузумаб).

Вместе с тем существует группа пациентов с ХЛЛ высокого риска с генетическими нарушениями (такими, как делеция хромосомы 17p), для которых стандартная терапия неэффективна. К такой группе пациентов также относятся больные с ранним рецидивом заболевания после стандартной терапии.

Общее число больных с неблагоприятным прогнозом ХЛЛ, нуждающихся в терапии Кэмпасом, в России составляет примерно 450 пациентов в год.

Единственным выбором терапии для таких пациентов с точки зрения доказательной медицины, данных клинических исследований, а также опыта участников заседания является моноклональное антитело Кэмпас® (алемтузумаб). Применение этого препарата позволяет получать полные ремиссии, даже в случае резистентности к другому лечению, в т. ч. молекулярные, при которых не обнаруживаются опухолевых клеток в костном мозге и крови больного. Накопленный опыт свидетельствует о возможности получать терапию в стационаре и амбулаторно, что повышает качество жизни больных и снижает риск внутрибольничных инфекций.

В связи со всем вышеизложенным участники совещания считают целесообразным:

- повышение уровня знаний гематологов в области диагностики и лечения больных ХЛЛ;
- более широкое внедрение диагностических методов, выявляющих группу пациентов высокого риска (делеция хромосомы 17p), в клиническую практику;
- государственное финансирование лекарственного обеспечения данной группы больных ХЛЛ, включающее диагностику и таргетную терапию.

Материалы конференции Европейского общества по трансплантации костного мозга (ЕВМТ), 2008

Подготовлено канд. мед. наук К. Н. Мелковой

Принято в печать: 29 апреля 2008 г.

ОБЩИЙ ОБЗОР

С 30 марта по 2 апреля 2008 г во Флоренции (Италия) проходила очередная 34-я ежегодная конференция Европейского общества по трансплантации костного мозга (ЕВМТ — European Group for Blood and Marrow Transplantation). На сегодняшний день членами ЕВМТ являются 549 центров 59 стран. За последний год в ЕВМТ вступили 16 трансплантационных центров. Аккредитацию в ЕВМТ имеют 265 центров, в т. ч. 98 — для проведения аллогенной трансплантации костного мозга, 104 — аутологичной трансплантации, 97 — для заготовки гемопоэтических стволовых клеток (ГСК).

По словам президента конференции Alberto Bosi Riccardo, при составлении программы конференции считали необходимым сочетать обсуждение практических вопросов, которые специалистам, занимающимся трансплантацией ГСК, приходится решать ежедневно и освещать новые научные и клинические факты и события, с которыми пришлось столкнуться в последнее время.

На конференцию было представлено рекордное количество (1036!) рефератов и заявок на выступления. Все они были включены в программу 19 секционных заседаний и двух 90-минутных представлений материалов стендовых докладов.

Два пленарных заседания были посвящены проблемам, представления о которых, по мнению организаторов конференции, претерпевают наиболее быстрое развитие, влияя тем самым на изменения в клинической практике. В первую очередь это эволюция наших знаний о биологических аспектах развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), технологиях подбора доноров, профилактике и лечении острой и хронической РТПХ при трансплантациях различных видов и после разных режимов кондиционирования. Столь же важен факт превращения трансплантации ГСК пуповинной крови из экспериментальной терапии в жизненную реальность. В материалах конференции приведены данные по использованию трансплантата этого вида у нескольких сотен больных различными гемобластозами.

На конференции впервые широко обсуждались возможности использования высокодозной химиотерапии с аутологичной трансплантацией ГСК в качестве иммунотерапии при рассеянном склерозе, системной красной волчанке и др. Достаточно много работ было посвящено темам противoinфекционной терапии при трансплантациях, ранним и поздним побочным эффектам этого способа лечения.

При обсуждении (на отдельном рабочем заседании) результатов лечения злокачественных новообразо-

ваний, включая трансплантации ГСК, у подростков (в возрасте 14–19 лет) было отмечено, что результаты у подростков идентичны результатам лечения взрослых пациентов и статистически достоверно отличаются от «детских» протоколов. На будущее организация отдельных «подростковых» лечебных подразделений была признана целесообразной только из-за психологических и социальных возрастных особенностей данной когорты пациентов.

Впервые на отдельной сессии ЕВМТ обсуждалась необходимость подготовки европейских ЕВМТ-центров к ликвидации медицинских последствий возможных радиационных аварий, включая терроризм, по аналогии с принятыми в США схемами аварийного реагирования.

В отличие от предыдущей конференции материалы о трансплантациях при хронических лейкозах оказались относительно немногочисленными. Изменения представлений о роли трансплантации в программе лечения таких пациентов не отмечено.

В настоящем обзоре мы хотели бы остановиться более подробно на материалах конференции, посвященных дальнейшему изучению возможностей использования трансплантации ГСК при трех видах гемобластозов: острый лейкоз (ОЛ), множественная миелома (ММ) и лимфомы.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ОСТРОМ ЛЕЙКОЗЕ

Рабочей группой ЕВМТ были представлены некоторые статистические данные о трансплантационной активности при ОЛ. Регистр ЕВМТ содержит информацию о 40 936 трансплантациях при ОЛ у взрослых, выполненных с 1994 по 2008 г.

При острых миелобластных лейкозах (ОМЛ) выполнено 24 578 трансплантаций, в т. ч. 35 % аутологичных, 43 % родственных от HLA-идентичных доноров, 14 % HLA-идентичных неродственных, 8 % не полностью HLA-совместимых доноров (в 3 %

случаев — гаплоидентичные, в 4 % — неродственные и в 1 % — ГСК пуповинной крови).

При острых лимфобластных лейкозах (ОЛЛ) выполнено 10 932 трансплантации, в т. ч. 23 % аутологичных, 44 % HLA-идентичных родственных,

21 % HLA-идентичных неродственных, 12 % не полностью HLA-совместимых (в 4 % случаев — гаплоидентичные, в 6 % — неродственные и в 2 % — ГСК пуповинной крови).

При трансплантации от HLA-идентичного сиблинга в первой ремиссии ОЛ 5-летняя общая выживаемость составила 57 %, после аутологичной и HLA-идентичной неродственной трансплантации — 49 %.

Трансплантация аутологичных ГСК (АуТ) при ОМЛ была широко распространена для консолидации ремиссии с конца 1970-х годов. Регистр EBMT содержит информацию приблизительно о 10 000 таких трансплантаций.

В последние годы, судя по ежегодным отчетам членов EBMT, активность использования АуТ уменьшилась при параллельном увеличении применения в аналогичных клинических ситуациях аллогенной трансплантации (АлТ), в т. ч. после кондиционирования сниженной интенсивности (редуцированной интенсивности кондиционирование — РИК) и с использованием в качестве источника ГСК пуповинной крови (ПК). Возраст пациентов, у которых в настоящее время выполняется АуТ, постепенно повысился до 70 лет. Снизилось число пациентов, которым перед АуТ проводили тотальное терапевтическое облучение (ТТО), обладающее высоким антилейкемическим эффектом (до 15 % больных).

В качестве трансплантата все чаще используют гемопоэтические стволовые клетки периферической крови (СКПК), что приводит к увеличению частоты рецидивов лейкоза. Результаты многоцентрового исследования свидетельствуют, что вероятность развития рецидива после АуТ зависит не только от возраста больного (> 45 лет) и позднего (> 40 дней) достижения ремиссии, но и от вида трансплантата. При использовании СКПК и костного мозга (КМ) частота рецидивов составляет 51 vs 43 % ($p = 0,003$), уменьшается безрецидивная выживаемость (disease free survival — DFS) — 44 vs 50 % ($p = 0,04$), хотя смертность в связи с трансплантацией (transplantation related mortality — TRM) существенно не меняется (9 vs 12 %; $p = 0,1$). Те же тенденции просматриваются при анализе результатов АуТ у 2333 больных ОМЛ, представленных в регистре GITMO (Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo).

Одно из последних ретроспективных исследований рабочей группы EBMT показывает важность не только вида трансплантата, но и сроков выпол-

нения АуТ. Так, 3-летняя DFS у пациентов, получивших в качестве трансплантата КМ, СКПК ранее 80 дней и СКПК позднее 80 дней от констатации ремиссии, составила 52, 46 и 36 % соответственно.

Вопрос о месте АуТ в программе лечения ОМЛ подробно рассматривался рабочей группой EBMT. В эру до высоких доз цитозара (HD ARA-C) консолидацию с АуТ, безусловно, считали целесообразной для всех категорий ОМЛ. При проведении АуТ в группе пациентов с inv(16) и t(8;21) отдаленные результаты оказались сходными с АлТ: 3-летняя DFS составила около 70 %. EBMT считает, что в настоящее время АуТ считается одним из возможных методов лечения следующих категорий: больные ОМЛ пожилого возраста, так называемые химиочувствительные больные ОМЛ (быстро достигшие ремиссии или имеющие t(8;21) и inv(16)), а также пациенты, которым показана неродственная АлТ, в т. ч. после РИК. Последнюю группу составляют пациенты, безусловно нуждающиеся в АлТ, но не имеющие совместимого родственного донора. У них АуТ, выполненная в период иногда очень длительного поиска неродственного донора, может помочь сохранить ремиссию до АлТ либо будет еще одним курсом консолидации ремиссии в случае, если неродственного донора найти не удастся. При этом подчеркивается, что больные из группы высокого риска должны получить только АлТ, если это выполнимо.

Проведение аутологичной трансплантации ГСК показано в качестве консолидации первой ремиссии ОМЛ у пациентов, индукционная химиотерапия у которых не включала HD ARA-C. В данной группе больных АуТ уменьшает частоту рецидивов и улучшает общую выживаемость.

Трансплантацию аллогенных ГСК при ОЛ до последнего времени не удавалось выполнять всем нуждающимся в этом лечении пациентам. Причины — либо отсутствие подходящего донора, либо прогнозируемая высокая TRM (вследствие токсичности режима подготовки и РТПХ) у больных пожилого возраста и имеющих сопутствующее заболевание.

В настоящее время **проблема поиска донора** не стоит столь остро в связи с улучшением технологий типирования. По мнению, представленному на конференции, можно подобрать альтернативного донора почти всем больным, не имеющим HLA-идентичного сиблинга, в т. ч. совместимого неродственного донора, гаплоидентичного

донора, либо трансплантировать ГСК пуповинной крови. Трансплантационные центры все шире изучают ПК в связи с наличием у этого вида трансплантата определенных преимуществ (быстрая доступность, легкость получения без вреда матери и новорожденному, малый риск РТПХ). Некоторую проблему представляет малое количество клеток в таком трансплантате, обуславливающее сложность применения у детей старшего возраста и взрослых. Для ее решения предлагают использовать два трансплантата («Double UCB»). Предварительные результаты таких трансплантаций после миелоаблативного кондиционирования (МАК) и РИК показывают безопасность, высокую частоту восстановления гемопоэза и хорошие отдаленные результаты по сравнению с трансплантацией одного трансплантата ПК.

Результаты сравнения трансплантаций неродственного КМ и ПК у 965 больных миелодисплазиями и ОМЛ представили японские исследователи. После трансплантации ПК пациенты имели более медленное восстановление числа нейтрофилов и тромбоцитов периферической крови. Частота острой и хронической РТПХ существенно не различалась. При трансплантации КМ (по сравнению с ПК) отмечены более низкая частота TRM (25 vs 38 % в течение 1 года; $p < 0,01$) и рецидива (15 vs 26 % в течение 3 лет; $p < 0,01$), более высокая 3-летняя DFS (57 vs 29 %; $p < 0,01$).

Интересно, что в группе больных, получивших режимы кондиционирования, содержащие тотальное терапевтическое облучение (ТТО-содержащие) (> 8 Гр), кондиционирование и циклоsporин (или tacrolimus) в сочетании с метотрексатом для профилактики РТПХ, не наблюдалось статистически достоверных различий после трансплантации КМ и ПК по уровню TRM в первый год (25 vs 23 %; $p = 0,64$) и 3-летней DFS (57 vs 51 %; $p = 0,16$), хотя частота рецидива оставалась более низкой после трансплантации КМ (16 vs 21 % за 3 года; $p = 0,017$). Авторами делается заключение, что трансплантация ПК может быть безопасна и эффективна при адекватно подобранном плане лечения.

Для решения задачи снижения TRM вследствие токсичности режима подготовки к АлТ и РТПХ было предложено **использование РИК**. К настоящему моменту накопился уже достаточно большой опыт такого лечения, некоторые результаты сравнительного исследования РИК и МАК были представлены на конференции.

Влияние РИК на исход АлТ от HLA-идентичного родственного донора у больных ОЛЛ в первой ремиссии изучалось в ретроспективном исследовании 601 пациента старше 45 лет. РИК выполнено у 97 больных. Частота рецидивов за 2 года в группах МАК/РИК составила 30 vs 42 % ($p = 0,0007$), смертность, не связанная с рецидивом, — 32 vs 22 % ($p = 0,04$), DFS — 38 vs 37 % ($p = 0,42$). Поскольку в группе РИК были представлены преимущественно пациенты с серьезными сопутствующими заболеваниями, делается вывод, что для больных ОЛЛ старше 45 лет проведение АлТ с РИК является правомерным методом лечения при невозможности выполнения стандартного МАК.

Аналогичные результаты получены при лечении 160 больных ОЛЛ группы высокого риска (больные с лейкозом Ph+, комплексными хромосомными аберрациями, про-В-ОЛЛ, В-ОЛЛ с исходным лейкоцитозом более $30\,000 \times 10^9/\text{л}$, случаи с медленным достижением ремиссии). При проведении АлТ с РИК в первой ремиссии вероятность выживания в течение 5 лет не отличалась от МАК (0,6 и 0,51 соответственно).

Целесообразность использования аллогенной трансплантации с РИК у больных ОМЛ, имеющих родственного HLA-идентичного донора, но не подходящих для стандартного МАК (25 больных), исследовалась в сравнении с пациентами, леченными только химиотерапией без трансплантации ГСК (60 больных). TRM составила 12 %. 7-летняя DFS оказалась значительно выше в группе АлТ (60 vs 23 %; $p = 0,003$). Авторы заключают, что АлТ с РИК должны использоваться у больных ОМЛ, нуждающихся в АлТ, если стандартный режим кондиционирования противопоказан.

При сравнении РИК (488 трансплантаций) и МАК (1596 трансплантаций) в качестве подготовки к нерод-

ственной АлТ при ОМЛ не обнаружено существенно значимых различий DFS и TRM у больных старше и моложе 50 лет. Частота рецидива после АлТ во 2–3-й ремиссии ОМЛ оказалась значительно выше в группе с РИК.

Другие способы улучшения результатов лечения с использованием трансплантации ГСК продолжают исследоваться. На конференции представлены результаты применения новых видов МАК, обладающего меньшей органной токсичностью, например на основе внутривенного введения бусульфана. Добавление ТТО (179 больных ОМЛ) в относительно невысокой дозе (400 Гр) к режиму кондиционирования, включающему флударабин/бусульфан/тимоглобулин, позволило снизить риск рецидива после АлТ с 69 до 34 % ($p = 0,004$) без увеличения уровня TRM. У больных ОМЛ с высоким риском (цитогенетические маркеры плохого прогноза, недостаточный ответ на первый курс химиотерапии, наличие мутаций *FLT-3* тирозинкиназы) предлагается приблизить АлТ ко времени установления диагноза. Несколько исследователей начинали выполнять РИК в период аплазии костного мозга, вызванной индукционной терапией в первом или втором курсе лечения. Такое изменение программы позволило улучшить общую и безрецидивную выживаемость в этой прогностически неблагоприятной группе больных. Вероятность общей и безрецидивной выживаемости (OS и DFS) в течение 24 мес. составила около 70 %. У больных Ph+ ОЛЛ для профилактики рецидивов после АлТ применяется иматиниб пред- или посттрансплантационно. Для уменьшения смертности вследствие РТПХ после неродственных АлТ к режиму кондиционирования предлагается добавлять алемтузумаб.

Рабочей группой EBMT проведен анализ результатов аллогенных совместимых родственных трансплантаций у больных ОЛ в Западной Европе

в последние годы. В 1990–2006 гг. выполнено 459 родственных совместимых трансплантаций при ОМЛ, 181 — при ОЛЛ. Миелоаблативный режим кондиционирования был применен у 90 % пациентов, костный мозг в качестве источника ГСК использовался в 54 % случаев. DFS выросла (с 57 % в 1990–2002 гг. до 60 % в 2003–2006 гг.) как результат сокращения смертности вне рецидива (с 22 до 15 %; $p = 0,02$). Частота рецидива осталась прежней. Вероятность 2-летней общей выживаемости составила 65 ± 2 %. Безрецидивная выживаемость была выше при трансплантации КМ по сравнению со СКПК (63 vs 51 %; $p = 0,015$). Безрецидивная выживаемость при выполнении ТТО-содержащих режимов кондиционирования оказалась существенно выше по сравнению с только химиотерапевтическими режимами (63 vs 55 %; $p = 0,03$). Результаты и их различия правомочны как для больных ОМЛ, так и для больных ОЛЛ. Кроме того, статистический анализ выявил отрицательное влияние на показатель DFS возраста больного старше 40 лет ($p = 0,03$) и диагноза ОЛЛ ($p = 0,02$). Факторами, ассоциированными с высоким риском рецидива, оказались: кондиционирование без ТТО ($p = 0,007$), использование в качестве источника ГСК СКПК ($p = 0,01$), интервал от диагноза до трансплантации менее 9 мес. ($p = 0,03$), соотношение полов донор/реципиент — любое, кроме женщина/мужчина ($p = 0,01$).

Таким образом, авторы установили улучшение результатов аллогенных совместимых родственных трансплантаций у больных ОЛ в Западной Европе в последние годы за счет уменьшения смертности, не связанной с рецидивом. Они считают целесообразным включение в режим кондиционирования ТТО. Необходимо дальнейшее исследование причины увеличения рецидивов при использовании СКПК. Рецидив лейкоза остается основной проблемой.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

Индукционная химиотерапия с последующей аутологичной трансплантацией в настоящее время является стандартной практикой ведения пациента со впервые выявленной множественной миеломой (ММ). Это лечение, тем не менее, не приводит к излечению. У пациентов, достигших ремиссии, развивается рецидив. Неудача лечения заставляет постоян-

но искать и апробировать новые программы терапии.

Использование АлТ после МАК ограничено высокой смертностью в связи с трансплантационными осложнениями, а результаты АлТ после кондиционирования сниженной интенсивности до последнего времени оставались противоречивыми.

На конференции рабочая группа EBMT привела предварительные результаты лечения 356 больных ММ по программам, включающим либо АуТ (мелфалан $200 \text{ мг}/\text{м}^2$), либо АуТ/АлТ-РИК (флудара по $30 \text{ мг}/\text{м}^2$ 3 раза + ТТО 2 Гр, донор-сиблинг). При отсутствии значимых различий в TRM (4 vs 11 %; $p = 0,05$) частота рецидива составила 48 и 43 % соответственно, без-

рецидивная выживаемость — 46 % в обеих группах. Общая выживаемость также существенно не различалась (70 vs 67 %), однако кривая общей выживаемости в группе АуТ/АлТ-РИК после 3 лет наблюдения стойко оставалась на уровне 60 %, в группе АуТ формирования плато не произошло.

При сравнении программ двойной АуТ и АуТ/АлТ-РИК зафиксирована TRM 5 vs 15 % соответственно ($p = 0,09$). Частота полной ремиссии оказалась значительно выше в группе с АлТ-РИК (10 vs 35 %; $p = 0,02$). Несмотря на отсутствие существенных различий в общей выживаемости, ее кривая в группе АлТ-РИК также сформировала плато после 3 лет. Аналогичные результаты получены в еще одном подобном исследовании.

При использовании в программе АуТ/АлТ-РИК неродственного донора отмечено быстрое восстановление гемопоеза, сравнимое по скорости с родственной трансплантацией. 2-летняя общая выживаемость составила при неродственной и родственной трансплантации 62 и 82 %, выживаемость без прогрессирования (PFS) — 55 и 20 % соответственно.

Таким образом, результаты исследований, представленных на конференции EBMT, свидетельствуют, что использование АлТ после кондиционирования сниженной интенсивности

приводит к выраженному противоопуховому эффекту при ММ и предупреждает прогрессирование болезни более эффективно, чем двойная АуТ.

Представлены также интересные данные об использовании двойной АуТ или АуТ/АлТ-РИК у больных ММ, первично рефрактерных к VBAD. Выживаемость таких больных оказалась сходной с наблюдаемой у «химиочувствительных» пациентов, получавших аналогичную высокодозную терапию.

Поскольку длительная выживаемость зависит от полноты ремиссии ММ перед трансплантацией, делаются попытки выявления наиболее эффективной предтрансплантационной терапии. Предлагается использование доксорубина и дексаметазона в сочетании с бортезомибом (Velcade, Велкейд) (31 % полных ответов до трансплантации), сочетание Велкейда, талидомида и дексаметазона (82 % полных ответов до трансплантации).

Для оценки влияния на исход АуТ режима кондиционирования выполнялось сравнение стандартного (мелфалан 200 мг/м²) и исследуемого протоколов. Последний включал этопозид (200 мг/м² в сутки, дни с -6 до -4), тилотепа (60 мг/м² в сутки, дни с -5 до -3) и мелфалан (60 мг/м² в сутки, дни с -4 до -2). В обеих группах смертности,

связанной с трансплантацией, не наблюдалось. В группе больных, лечившихся мелфаланом, живы 60 % пациентов, медиана наблюдения составила 41 мес., медиана общей выживаемости достигнута на 71-м месяце. В группе больных, получивших кондиционирование тремя препаратами, живы также 60 % пациентов, медиана наблюдения составила 79 мес., медиана общей выживаемости не достигнута.

Предварительные результаты еще одного протокола кондиционирования перед АуТ, включающего бортезомиб и мелфалан, были представлены в сообщении из Южной Кореи.

Достаточно много внимания на конференции было уделено программам лечения рецидива ММ после трансплантации ГСК как аутологичных, так и аллогенных. При рецидиве после АлТ применяли леналидомид, бортезомиб, талидомид и переливание лимфоцитов донора (DLI). При рецидиве после АуТ использовалась вторая АуТ, АлТ с РИК, химио/иммуноterapia (бендамустин, талидомид, преднизолон). Рабочая группа EBMT представила результаты исследования двух программ лечения рецидивов ММ после аутологичной трансплантации: VTD (Velcade-Thalidomide-Dexamethasone) и TD (Thalidomide-Dexamethasone). Выявлено преимущество терапии VTD по сравнению с TD.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ЛЕЧЕНИИ ЛИМФОМ

Аутологичная трансплантация при лимфомах выполняется в течение длительного периода времени, ее место в программе лечения наиболее часто встречающихся лимфом определено. Объем информации о результатах АлТ при лимфомах значительно меньше.

Ориентировочно оценить активность и результаты использования АлТ при лимфомах можно по данным, представленным German Registry for Stem Cell Transplantation за период с 1998 по 2006 г. Аллогенная трансплантация выполнена 947 больным с неходжкинскими лимфомами (НХЛ) и 120 больным с лимфомой Ходжкина (ЛХ). Частота использования АлТ при НХЛ возросла с 38 трансплантаций в 1998 г. до 181 — в 2006 г. Частота АлТ по поводу ЛХ колеблется, максимальное количество — 20 процедур — было выполнено в 2001 г. С 2002 г. проводятся преимущественно HLA-совместимые неродственные пересадки. Гистоло-

гические варианты НХЛ, при которых проводилась трансплантация: диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома — 26 %, фолликулярная лимфома — 21 %, лимфома зоны мантии — 16 %, анаплазированная Т-крупноклеточная лимфома — 7 %. ТТО-содержащие режимы кондиционирования были использованы перед трансплантацией у 43 % больных НХЛ и только у 32 % больных ЛХ ($p = 0,02$). Протоколы кондиционирования сниженной интенсивности применяли у 37 % больных НХЛ и 40 % — ЛХ. 5-летняя общая выживаемость составила 34 и 32 % в группах Т- и В- НХЛ и только 13 % в группе больных ЛХ.

При диффузной В-крупноклеточной лимфоме (DLBCL) аутологичная трансплантация является методом выбора при химиочувствительном рецидиве. У пациентов старшей возрастной группы это лечение ис-

пользуется значительно реже, эффективность его оценена плохо. В регистре EBMT зафиксировано 463 АуТ у пациентов 60 лет и старше (311 больных в возрасте 60–64 лет, 139 — 65–69 лет, 13 — 70–74 года). Результаты сравнивались с полученными у пациентов более молодой возрастной группы. Смертность вне связи с рецидивом в течение 100 дней после трансплантации составила 4,4 vs 2,8 %, в течение 1 года — 8,7 vs 4,7 % и в течение 3 лет — 10,8 vs 6,5 % ($p = 0,002$). Риск рецидива был 38 и 32 % соответственно ($p = 0,006$), 3-летняя выживаемость без прогрессирования — 51 vs 62 % ($p < 0,001$) и общая выживаемость — 60 vs 70 % ($p < 0,001$). Таким образом, АуТ представляется методом лечения, который вполне может быть использован у некоторых больных DLBCL старшей возрастной группы.

Аллогенная трансплантация при DLBCL используется преимущественно

но в случаях рецидива после АуТ. Группа GITMO приводит результаты такой терапии 75 пациентов (81 % больных имели родственного донора и 19 % — неродственного). У 33 % пациентов АлТ выполнялась в стадии частичного ответа или стабилизации, остальным — в фазе прогрессирования. После трансплантации 75 % больных достигли полной или частичной ремиссии, у 25 % не было эффекта. TRM оказалась высокой и составила 32 % (в т. ч. 58 % в группе, получившей миелоаблативную подготовку и 20 % в группе РИК). Общая выживаемость составила 45 % и была значительно выше у пациентов с РИК ($p = 0,001$). Авторы делают заключение об эффективности АлТ даже в такой прогностически неблагоприятной группе больных.

Использование АлТ при DLBCL увеличилось в связи с улучшением технологии подбора неродственных доноров. На конференции рабочая группа ЕВМТ представила результаты неродственных трансплантаций у 118 больных, в 52 % случаев трансплантация осуществлена после РИК. Смертность вне связи с рецидивом в течение 3 лет у пациентов, получивших РИК и МАК, составила 23 и 41 % соответственно ($p = 0,02$). Частота рецидива в этот же период отличалась несущественно — 46 vs 30 % ($p = 0,2$), при этом общая выживаемость и выживаемость, свободная от прогрессирования, были сходны и составили 38,5 и 30 % соответственно.

Таким образом, АлТ дает реальный шанс излечения некоторым больным DLBCL, у которых стандартная терапия оказалась неэффективной, особенно если АлТ выполняется у больного с сохраненной чувствительностью к химиотерапии.

При лимфоме Ходжкина в настоящее время АуТ является стандартным методом лечения при рефрактерности к химиотерапии первой линии и в рецидиве болезни. На конференции два центра представили результаты использования АуТ в группах таких больных, результаты практически совпадают. По данным немецких исследователей, в группе из 60 больных, получивших АуТ после миелоаблативной химиотерапии, общая выживаемость в течение 12 мес. составила 71 %, плато формируется после 65 мес. на уровне 55,5 %. По данным бразильской группы, у 77 больных 8-летняя общая выживаемость после АуТ составляет 55 %.

Безопасность и эффективность кондиционирования редуцированной интенсивности с последующей АлТ у больных рефрактерной ЛХ или в рецидиве ЛХ еще недостаточно исследована. На конференции приводились следующие результаты такого лечения в малых группах больных:

Канадский опыт: у 24 больных молодого возраста (10–39 лет, медиана 20 лет) при проведении трансплантации с РИК от сиблингов (16 случаев) или совместимых неродственных доноров TRM в течение 2 лет составила 27 %, общая выживаемость — 40 %, выживаемость, свободная от прогрессирования, — только 19 %. Учитывая молодой возраст больных, результаты лечения разочаровывают.

Итальянская группа: у 11 больных TRM составила 27 %, медиана общей выживаемости и выживаемости, свободной от прогрессирования, — 1 год. Делается заключение о допустимости использования АлТ с РИК в качестве «терапии спасения» таких больных.

Лимфома зоны мантии — агрессивная НХЛ с короткой (3–4 года) продолжительностью жизни. Использо-

вание АуТ (кондиционирование — режим BEAM) в качестве терапии первой линии увеличивает частоту полной ремиссии с 47 до 94 % и 3-летнюю общую выживаемость с 51 до 81 % по сравнению с лечением без АуТ. Тем не менее рецидив обычно возникает у всех больных. По результатам небольшого пилотного исследования, добавление к режиму кондиционирования бортезомиба улучшает результаты лечения.

На конференции представлялись данные небольших пилотных исследований применения АлТ при грибковидном микозе и синдроме Сезари, рефрактерных Т-НХЛ. Отдаленные результаты этого лечения пока оценить трудно.

Несколько сообщений было посвящено важности определения статуса лимфом перед трансплантациями с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). Позитивность ПЭТ после индукционной химиотерапии расценивается как фактор, позволяющий прогнозировать короткую продолжительность жизни больных ЛХ и НХЛ. В таких случаях дополнительная химиотерапия второй линии с использованием новых для пациента химиопрепаратов перед АуТ и лучевая терапия после нее могут улучшить отдаленные результаты лечения.

Рабочей группой ЕВМТ по лечению лимфом приводился опыт использования трансплантации гемопоэтических клеток пуповинной крови в программе терапии больных с лимфомами в продвинутой стадии (104 пациента). Делается заключение, что трансплантация ПК — возможный метод лечения таких пациентов. Диагноз индолентной лимфомы, химиочувствительность перед трансплантацией и использование в кондиционировании низких доз ТГО — факторы хорошего прогноза при этом лечении.

