

ВАРИАНТЫ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ В ИСХОДНО ФЕНОТИПИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЛИМФОСАРКОМАХ

Евгения Игоревна ВОРОНИНА¹, Александра Васильевна СЕНЬКОВА²,
Татьяна Августовна АГЕЕВА¹, Марина Аркадьевна ЗЕНКОВА²

¹ ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет
Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

² ФГБУ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8

В эксперименте изучены эффекты полихимиотерапии (ПХТ) на опухолевую ткань в перевиваемых опухолях RLS и RLS40, проявляющих фенотип резистентности к терапии цитостатиками. После воздействия трех курсов ПХТ в опухоли RLS повысилась экспрессия генов *mdr1b* (в 1,8 раза) и *bcl-2* (в 1,3 раза), в опухоли RLS40 эти показатели выросли более значительно. Объемная плотность апоптозов в RLS40 оставалась неизменной, а в RLS число апоптозов нарастало от курса к курсу. Проведение четырех курсов ПХТ сопровождалось увеличением экспрессии маркера пролиферации Ki-67 в опухолевых клетках RLS, что свидетельствует об интенсификации пролиферативного режима в опухоли, обеспечивающего прирост опухоли на фоне активных процессов апоптоза в ней.

Ключевые слова: множественная лекарственная устойчивость, резистентная лимфосаркома, полихимиотерапия, апоптоз, экспрессия генов.

Согласно теории опухолевой прогрессии происходит постоянный стадийный прогрессирующий рост опухоли с нарастанием ее злокачественных свойств, появлением гетерогенной популяции опухолевых клеток. Основными характеристиками опухолевой прогрессии являются усиление пролиферативного потенциала, нарушение механизмов апоптоза, ангиогенез и формирование множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) [1, 2]. Существует большое количество работ, посвященных проблеме опухолевой прогрессии, но при всем многообразии исследований остается много не изученных аспектов. К числу важнейших из них относится формирование МЛУ, что является серьезным препятствием в лечении большинства злокачественных новообразований и приводит к нарастанию злокачественности опухоли и снижению эффективности лечения, это особенно проявляется в опухолях, подвергающихся воздействию полихимиотерапии (ПХТ). Развитие МЛУ может осуществляться за счет нескольких механизмов – это и активное выведе-

ние химиопрепаратов посредством трансмембранного белка Р-гликопротеина, кодируемого геном MDR1, и нарушение механизмов апоптоза в результате гиперэкспрессии гена *bcl-2* и мутаций в гене *p53* [3, 4]. В целом эти механизмы известны, но большой интерес представляет изучение прогрессирования МЛУ в опухолях, изначально имеющих фенотип устойчивости к цитостатикам.

Цель – в фенотипически различных опухолях RLS и RLS40 исследовать эффекты курсовой полихимиотерапии на опухолевую ткань, экспрессию генов множественной лекарственной устойчивости, апоптоза и пролиферативный потенциал опухолевых клеток.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на мышах-самцах линии СВА из питомника Института цитологии и генетики СО РАН. Животных содержали в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных

Воронина Е.И. – аспирант кафедры патологической анатомии, e-mail: e.voronina83@mail.ru

Сенькова А.В. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории нуклеиновых кислот, e-mail: alsenko@mail.ru

Агеева Т.А. – д.м.н., проф. кафедры патологической анатомии, e-mail: ageta@mail.ru

Зенкова М.А. – д.б.н., проф., зав. лабораторией нуклеиновых кислот, e-mail: marzen@niboch.nsc.ru

животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986), в виварии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН группами по 8–11 особей при естественном режиме освещения и свободном доступе к воде и пище. Животным внутримышечно перевивали клетки лимфосаркомы RLS и лимфосаркомы RLS40 [5], являющихся изначально устойчивыми к циклофосфану, эффект которого опосредуется путем запуска в опухолевых клетках апоптоза. Обе опухоли получены из чувствительной к циклофосфану лимфосаркомы LS и по биологическому поведению и влиянию на организм животных соответствуют агрессивной В-клеточной неходжкинской лимфоме человека. Устойчивость к апоптогенам была достигнута путем многократных внутримышечных перевивок рецидивов этой опухоли, возникающих после воздействия низких доз циклофосфана. В результате последовательной культивации клеток линии RLS на среде с повышающейся концентрацией винбластина была получена клеточная линия RLS40, которая характеризуется увеличением экспрессии генов МЛУ и поддерживается в культуре при концентрации винбластина 40 нмоль [6]. Суспензию опухолевых клеток RLS в физиологическом растворе (2×10^4 клеток/мл) и RLS40 в физиологическом растворе (1×10^6 клеток/мл) объемом 0,1 мл трансплантировали мышам внутримышечно в правое бедро для роста и формирования солидной опухоли. Через 7 суток роста перевитых опухолей с интервалом в 7 дней животным с RLS провели 4 последовательных введения комплекса цитостатиков (курса ПХТ), а мышам с опухолью RLS40 – 3 курса ПХТ. В качестве комбинации антибластомных средств использовали стандартную схему СНОР (50 мг/кг циклофосфана, 4 мг/кг доксорубина, 0,1 мг/кг винкристина в хвостовую

вену, 5 мг/кг преднизолона внутривенно), применяемую для лечения гемобластозов в клинике. Были сформированы группы контрольных животных (по 20 особей) с перевитой опухолью RLS или RLS40, которым не проводили ПХТ. Динамику роста опухоли у животных экспериментальных и контрольных групп отслеживали путем измерения размеров опухолевого узла в пораженной лапе штангенциркулем. Забор материала для гистологического и молекулярно-биологического исследования проводили на 7-е сутки после проведения каждого курса ПХТ. В опухолевых клетках методом ОТ-ПЦР с использованием в качестве внутреннего стандарта мРНК β -актина определяли экспрессию генов, участвующих в формировании МЛУ (*mdr1a*, *mdr1b*, *bcl-2* и *p53*). Для гистологического и иммуноморфологического исследования ткань опухоли экспериментальных животных фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, далее образцы ткани опухоли подвергали стандартной обработке. Приготавливали парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм, окрашивали их гематоксилином и эозином [7]. В опухолевой ткани на гистологических срезах определяли численную плотность (Nv) апоптозов для опухоли RLS и объемную плотность (Vv) – для RLS40 [8,9]. Проводили иммуноморфологический анализ пролиферативной активности клеток опухоли RLS с помощью первичных антител к белку Ki-67 (Abscam, Великобритания), выполняя иммуногистохимическое исследование с использованием непрямого иммунопероксидазного метода согласно общепринятой методике [10] и инструкциям фирмы-производителя. По окрашенным препаратам определяли индекс мечения Ki-67 ядер опухолевых клеток (% позитивно окрашенных ядер). Для выявления статистической значимости различий использовали параметрический критерий Стьюдента.

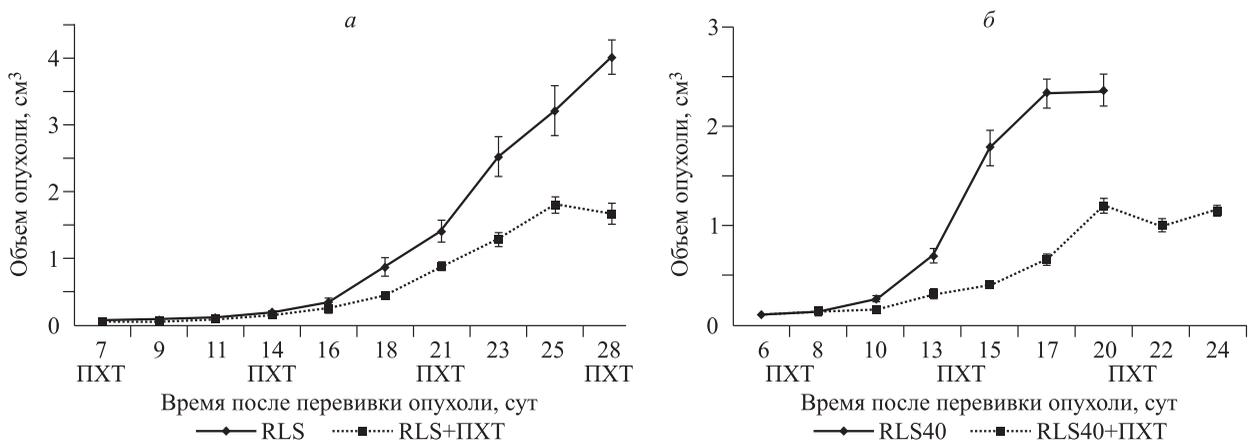


Рис. 1. Динамика роста опухоли RLS (а) и RLS 40 (б) без лечения и после проведения курсов полихимиотерапии

РЕЗУЛЬТАТЫ

К 7-м суткам у всех животных в месте трансплантации опухолевых клеток RLS и RLS40 формировался солидный узел. Микроскопически ткань обеих опухолей имела одинаковое строение: была представлена ростом крупных атипичных мноморфных лимфоидных клеток с большим количеством патологических митозов в ядрах, определялся инвазивный рост опухоли с разрушением мышц бедра. На фоне ПХТ у мышей с опухолью RLS40 и RLS отмечали эффект торможения роста опухоли, однако только в случае опухоли RLS40 это сопровож-

далось увеличением продолжительности жизни животных по сравнению с контролем (рис. 1, б). У мышей с опухолью RLS эффекты торможения роста опухоли в сравнении с животными без лечения были менее выраженными, размеры узла поступательно увеличивались (рис. 1, а). При сопоставимых размерах солидных опухолевых узлов в месте введения продолжительность жизни животных контрольной и опытной групп мышей с RLS достигла 29 суток, в то время как у мышей с перевитой RLS40 она составляла 20 и 24 дней соответственно. Это позволило животным с опухолью RLS провести

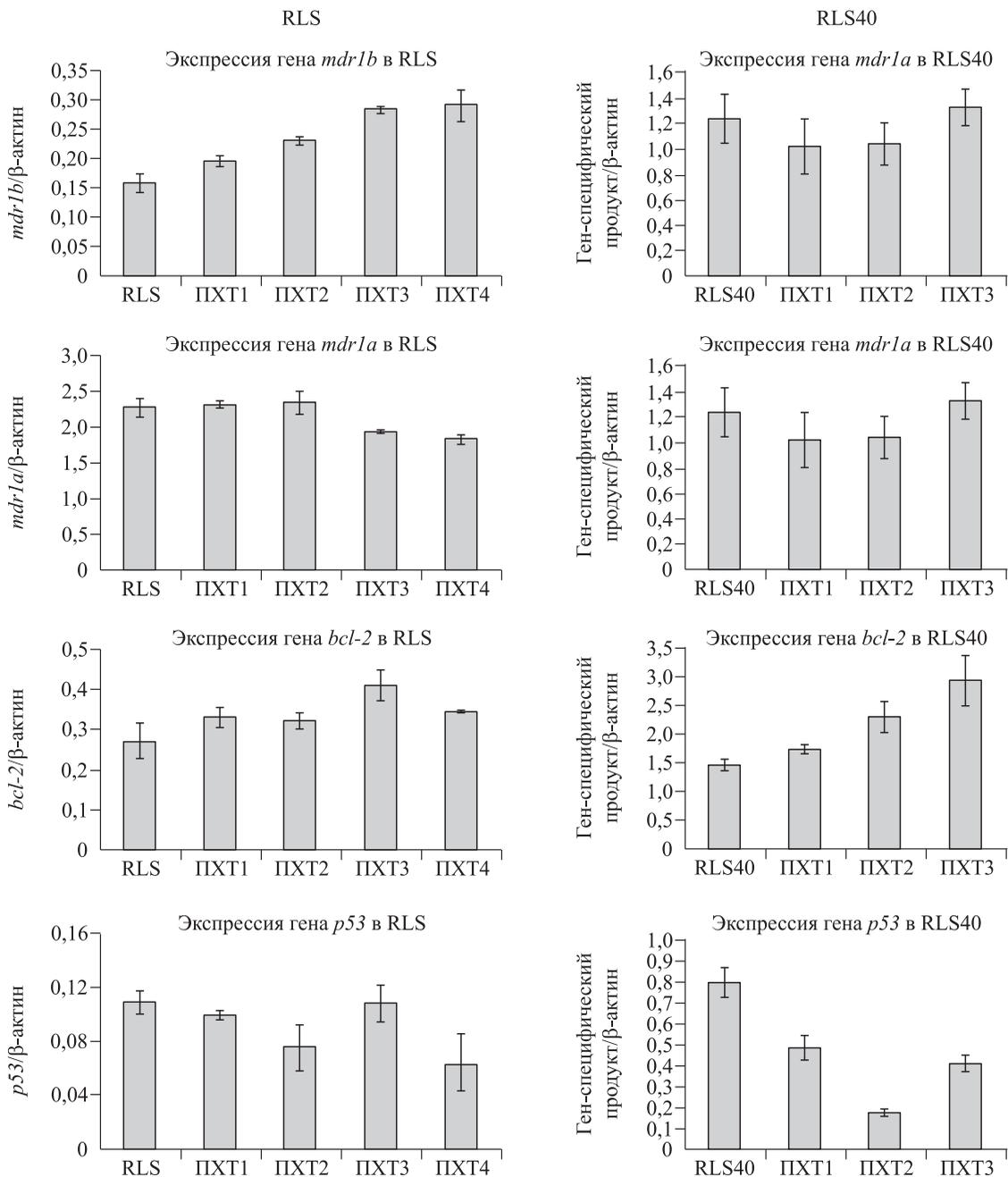


Рис. 2. Экспрессия генов в опухолях RLS и RLS40 до и после проведения полихимиотерапии

4 курса введения комплекса цитостатиков, а с RLS40 – только 3 курса.

Методом ОТ-ПЦР установлено, что до проведения курсов ПХТ в клетках опухоли RLS преобладала экспрессия гена *bcl-2*, а RLS40 характеризовалась увеличением экспрессии *mdr1b* (рис. 2). После воздействия трех курсов ПХТ в клетках опухоли RLS повысилась экспрессия генов *mdr1b* (в 1,8 раза) и *bcl-2* (в 1,3 раза), в то время как в опухоли RLS40 эти показатели выросли более значительно: в 2,8 и 2,0 раза соответственно (см. рис. 2). Экспрессия гена *p53* изначально была выше в опухоли RLS40, после первого курса ПХТ сначала существенно снизилась (в 4,4 раза), затем, после третьего курса ПХТ, несколько повысилась (рис. 3) при неизменной объемной плотности апоптозов независимо от количества проведенных курсов ПХТ: $12,2 \pm 1,5\%$ в RLS40 до лечения и $12,5 \pm 2,3\%$ после трех курсов ПХТ. В клетках опухоли RLS экспрессия гена *p53* после первого введения комплекса цитостатиков также сначала снизилась на 32 %, а затем повысилась до исходного уровня (см. рис. 3) при незначительно нарастающей от курса к курсу численной плотности апоптозов в опухолевой ткани, которая после первого курса составляла $0,56 \pm 0,08$, а после 4 курса – $1,27 \pm 0,08$.

Выявленный диссонанс в молекулярно-биологическом поведении опухоли RLS (низкий эффект торможения опухоли после ПХТ при снижении экспрессии *p53* и нарастающей численной плотности апоптозов в опухолевых клетках) обосновал целесообразность оценки пролиферативного режима опухоли RLS. Оказалось, что проведение четырех курсов ПХТ сопровождается увеличением экспрессии Ki-67 в опухолевых клетках: до проведения ПХТ индекс мечения составил $34,03 \pm 0,95$, после проведения 1 курса ПХТ он возрос на 8,8 %, затем продолжал по-

вышаться и к 4 курсу ПХТ увеличился на 50 % от исходного значения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на фоне 4-кратного введения комплекса цитостатиков, несмотря на изначально разный уровень экспрессии гена *mdr1b*, продолжает нарастать МЛУ в клетках как опухоли RLS, так и опухоли RLS40 с селекцией еще более лекарственно устойчивого клона опухолевых клеток. При этом в изначально более агрессивной опухоли RLS40 на фоне цитостатического лечения наращивание лекарственной устойчивости идет интенсивнее за счет активации гена *mdr1b*. Однако опухоль RLS, являющаяся изначально фенотипически более «благоприятной» и имеющая меньший прирост экспрессии гена *mdr1b* на фоне курсов ПХТ, продемонстрировала более значимую опухолевую прогрессию за счет интенсификации пролиферативного режима и возможного формирования вторичных мутаций генома. Выявленные молекулярно-биологические особенности опухолевой прогрессии изначально фенотипически различающихся экспериментальных лимфосарком RLS и RLS40, формирующихся под воздействием введения комплекса цитостатиков, свидетельствуют о том, что в клинической онкологии индивидуальные молекулярные характеристики микроскопически однотипных опухолей могут в итоге определять прогноз болезни и эффективность лечения у каждого пациента. Данное обстоятельство диктует необходимость дальнейшего изучения механизмов опухолевой прогрессии для индивидуализации и повышения эффективности программ лечения онкобольных.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН в рамках ГК № 16.522.11.7057.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Поспелова Т.И., Лосева М.И., Ковынев И.Б. и др. Основы опухолевой прогрессии гемобластозов // Бюл. СО РАМН. 2004. (2). 73–76.
2. Fuller G.M., Shields D. Molecular basis of medical cell biology. Stamford: Appleton & Lange, 1998. 231 p.
3. Filipits M. Mechanisms of cancer: multidrug resistance // Drug Discov. Today. 2004. 1. 229–234.
4. Ставровская А.А. Клеточные механизмы множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток // Биохимия. 2000. 65. (1). 112–126.

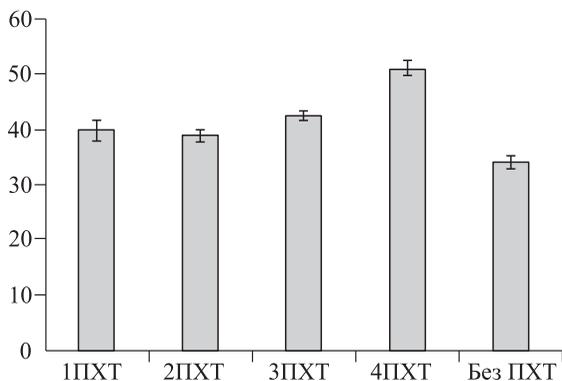


Рис. 3. Индекс мечения Ki-67 в клетках опухоли RLS

5. Сенькова А.В., Агеева Т.А., Зенкова М.А. Взаимоотношение процессов прогрессирования множественной лекарственной устойчивости в опухоли и морфологических изменений в печени у мышей с перевиваемой лимфосаркомой RLS₄₀ в условиях полихимиотерапии // Бюл. СО РАМН. 2011. (2). 87–93.
6. Mironova N., Shklyayeva O., Andreeva E. et al. Animal model of drug-resistant tumor progression // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006. 1091. 490–500.
7. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника. М., 1996. 542 с.
8. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М., 1990. 382 с.
9. Weibel E.R. Stereological methods. London: Acad. Press., 1979. 415 p.
10. Dabbs D.J. Diagnostic immunohistochemistry. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2006. 848 p.

THE VARIANTS OF NEOPLASTIC PROLIFERATION IN INITIALLY PHENOTYPIC DIFFERENT EXPERIMENTAL LYMPHOSARCOMAS

Evgeniya Igorevna VORONINA¹, Aleksandra Vasil'yevna SEN'KOVA²,
Tat'yana Avgustovna AGEEVA¹, Marina Arkad'yevna ZENKOVA²

¹ Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52

² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS
630090, Novosibirsk, Academic Lavrent'yev av., 8

The effects of polychemotherapy (PCT) on the tumor tissue in transplanted tumors RLS and RLS40 manifested a phenotype of resistance to cytotoxic therapy have been investigated in the study. After the 3-course of polychemotherapy exposure to tumors RLS the level of gene expression increased: for *mdr1b* – in 1.8 times, for *bcl-2* – in 1.3 times; after the exposure to tumor RLS40 the gene expression indices increased more significantly. The volume density of apoptosis in RLS40 remained unchanged after polychemotherapy but in RLS the number of apoptosis increased from course to course. The 4th courses of polychemotherapy realization was accompanied with the increase in expression of proliferation marker Ki-67 in tumor cells RLS, that testified to the intensification of proliferative regime in tumor which supported the neoplasm increases against the background of apoptosis active processes in it.

Key words: multidrug resistance, resistant lymphosarcoma, polychemotherapy, gene expression.

Voronina E.I. – postgraduate student of the chair for pathological anatomy, e-mail: e.voronina83@mail.ru

Sen'kova A.V. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory for nucleonic acids,

e-mail: alsenko@mail.ru

Ageeva T.A. – doctor of medical sciences, professor of the chair for pathological anatomy, e-mail: ageta@mail.ru

Zenkova M.A. – doctor of biological sciences, professor, head of the laboratory for nucleonic acids,

e-mail: marzen@niboch.nsc.ru

ЗНАЧЕНИЕ СЫВОРОТОЧНОЙ ТИМИДИНКИНАЗЫ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ОТВЕТА НА ТЕРАПИЮ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

Тамара Павловна ЗАГОСКИНА¹, Екатерина Николаевна ЗОТИНА¹,
Мария Геннадьевна КРЮКОВА¹, Виктор Иванович ШАРДАКОВ¹,
Ирина Владимировна ГРИШИНА²

¹ ФГБУН Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России
610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72

² ГБОУ ВПО Кировская ГМА Минздрава России
610027, г. Киров, ул. Карла Маркса, 112

Проведена оценка прогностического значения содержания сывороточной тимидинкиназы у 230 больных хроническим лимфолейкозом при различных видах современной терапии. Активность тимидинкиназы в сыворотке крови определяли радиоэнзимным методом. Установлено, что эффективность лечения пациентов различными программами химио- и иммунохимиотерапии коррелирует с содержанием фермента в сыворотке крови. Показано, что иммунохимиотерапия комбинацией RFC нивелирует негативное прогностическое значение тимидинкиназы как опухолевого маркера в отношении непосредственного эффекта лечения и продолжительности ответа. Определение содержания тимидинкиназы в сыворотке крови больных хроническим лимфолейкозом можно рекомендовать не только в качестве дополнительного прогностического фактора течения заболевания и ответа на терапию, а также и для подбора адекватной программы лечения.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, тимидинкиназа, прогноз эффективности терапии.

В последние годы достигнут значительный прогресс в терапии хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), который связан с использованием аналогов пурина, моноклональных анти-CD20, анти-CD52 антител, а также иммуномодуляторов и аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [1]. С помощью новых технологий у большинства пациентов удается получить длительные полные ремиссии. Вместе с тем современные программы химио- и иммунохимиотерапии, к сожалению, не решили проблему полного излечения ХЛЛ. Традиционным подходом к началу терапии по-прежнему остается тактика «наблюдай и жди» [5]. В то же время возрастает интенсивность первой линии терапии в связи с возможностью достижения молекулярных ремиссий и удлинения продолжительности жизни больных. Известно, что повышение интенсивности терапевтических программ способствует, с одной стороны, увеличению их эффективности, но с другой – развитию тяжелых осложнений на фоне миелосупрессии,

поэтому оправдано не во всех случаях [6]. Для выбора оптимальной тактики необходимо с наибольшей долей вероятности предвидеть успех лечения, что невозможно без определения точного прогноза для каждого конкретного пациента.

В настоящее время стратификацию больных ХЛЛ в основном проводят по классификациям J.L. Binet и K. Rai, в основу которых положены стадии заболевания. Стадии ХЛЛ до сих пор остаются самым сильным предиктором течения опухолевого процесса и демонстрируют прямую корреляцию с беспрогрессивной и общей выживаемостью больных [1, 8]. Определение стадии ХЛЛ осуществляют с учетом размера опухоли, степени ее распространения и костно-мозговой недостаточности. Классификации J.L. Binet и K. Rai описывают клинические симптомы, представляют развитие болезни и используются в клинической практике для выбора терапии. Но прогностическое значение каждой стадии неодинаково, и используемые системы

Загоскина Т.П. – к.м.н., доцент, рук. гематологической клиники, e-mail: zagoskina@blood.kirov.ru

Зотина Е.Н. – младший научный сотрудник гематологической клиники, e-mail: enzotina@mail.ru

Крюкова М.Г. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории иммунологии лейкозов

Шардаков В.И. – д.м.н., проф., рук. лаборатории иммунологии лейкозов

Гришина И.В. – к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней

стадирования, к сожалению, не различают быстропрогрессирующую и индолентную формы ХЛЛ. Для выделения пациентов высокого риска прогрессирования заболевания необходимы дополнительные критерии прогноза. Значительная роль в этом отводится аспектам взаимодействия лейкоэмических клеток, отражающих их пролиферацию, выживание и резистентность к действию проапоптотических сигналов. Известно, что особенности клинического течения онкогематологических заболеваний зависят от пролиферативной активности опухолевых клеток [3]. Вследствие этого показатели пролиферации вызывают большой интерес в качестве факторов прогноза неоплазий. К сожалению, при ХЛЛ пролиферативный компонент до последнего времени в полной мере не дооценивался, поскольку особое внимание в биологии данного опухолевого процесса уделялось блокаде апоптоза и другим патогенетическим механизмам. Тем не менее совсем недавно была доказана роль пролиферации в онкогенезе ХЛЛ. Одним из факторов, отражающих пролиферативную активность опухоли и характеризующих биохимические свойства клеток, особенно при их переходе из фазы покоя в фазу деления, является тимидинкиназа (ТК). Данный фермент обычно отсутствует в здоровых неделящихся клетках и появляется в них только перед началом митоза. При нормальном процессе деления ТК не выходит во внеклеточное пространство, так как здоровая клетка снабжена специальным механизмом разрушения белка, в котором она больше не нуждается. Поэтому у здоровых людей количество ТК в сыворотке крови обычно очень незначительное и, согласно собственным данным и сведениям литературы, не превышает 10 Ед/л [11]. Содержание ТК в сыворотке крови значительно повышается в случае непосредственного контакта малигнизированных клеток с такими биологическими жидкостями, как кровь, лимфа, серозные выпоты, поэтому наиболее значимо оно изменяется при системных заболеваниях крови [4, 9, 11]. Содержание ТК в сыворотке крови служит мерой злокачественной пролиферации и агрессивности опухоли. При ряде злокачественных опухолей повышение уровня ТК свидетельствует о высоком риске прогрессирования заболевания [2, 7, 10]. Однако изменение ферментативной активности ТК при ХЛЛ с учетом проводимого лечения остается до сих пор не изученным. Учитывая широкий диапазон возможных вариантов терапии ХЛЛ, основной задачей на современном этапе становится установление оптимальных комбинированных персонализированных режимов и определение их

роли в лечении заболевания в зависимости от прогностических факторов, имеющих отношение к патогенезу опухолевого процесса.

Целью настоящего исследования явилась оценка прогностического значения уровня сывороточной ТК у больных ХЛЛ при различных видах современной терапии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включено 230 больных ХЛЛ. Из них мужчин – 140 (61 %), женщин – 90 (39 %); в стадии А – 11 (5 %), в стадии В – 129 (56 %) и в стадии С – 90 (39 %) больных. Возраст пациентов колебался от 36 до 79 лет, медиана возраста составила 59 лет. Общий соматический статус больных в момент постановки диагноза оценивался по шкале ECOG и у 138 (60 %) человек был < 2 баллов, у 92 (40 %) – ≥ 2 баллов. Общая характеристика больных ХЛЛ представлена в табл. 1.

Диагноз ХЛЛ верифицирован согласно общепринятым критериям [5], включавшим общий анализ крови, данные миелограммы, иммунофенотипирование лимфоидных элементов периферической крови и костного мозга, гистологическое исследование биоптата лимфоузла и трепанобиоптата задней ости подвздошной кости с иммуногистохимией. Кроме того, проводились ЭХО-кардиоскопия, рентгенография органов грудной клетки, ультразвуковое исследование или компьютерная томография органов брюшной полости и забрюшинного пространства.

Таблица 1

Общая характеристика больных ХЛЛ

Показатель	Количество больных	
	абсолютное	%
Всего больных	230	100
Возраст:		
< 60 лет	113	49
≥ 60 лет	117	51
Пол:		
мужчины	140	61
женщины	90	39
Стадия заболевания (по Binet):		
А	11	5
В	129	56
С	90	39
Общее состояние по ECOG:		
< 2 баллов	138	60
≥ 2 баллов	92	40
Уровень ТК:		
< 20 Ед/л	127	55
≥ 20 Ед/л	103	45

Активность ТК в сыворотке крови больных ХЛЛ определяли радиоэнзимным методом с использованием коммерческих наборов фирмы «IMMUNOTECH» (Чехия). Счет радиоактивности осуществляли на установке для радиоиммунохимического анализа «Гамма НТ-Наркотест». Исследование выполняли в момент постановки диагноза до начала специфической терапии. Ответ на терапию оценивали по достижению полной (ПР) и частичной (ЧР) ремиссии, стабилизации процесса и отсутствию эффекта. В качестве контрольной группы были обследованы 50 первичных доноров крови.

Для установления возможности использования ТК в качестве фактора, предсказывающего ответ на лечение, пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от вида получаемой химиотерапии. В 1-ю группу включено 36 больных, которым назначалась терапия лейкераном или по схеме СНОР (циклофосфан, адриабластин, винкристин, преднизолон). Пациенты двух других групп получали программы, содержащие флударабин: 2-я группа (96 человек) – FC (флударабин, циклофосфан), 3-я группа (98 человек) – лечение комбинацией RFC (ритуксимаб, флударабин, циклофосфан).

Оценивая ответ на терапию у больных ХЛЛ в зависимости от содержания сывороточной ТК, мы использовали в качестве ее порогового значения уровень, равный 20 Ед/л.

Статистическую обработку данных проводили с помощью анализа таблиц сопряженности (критерий χ^2 Пирсона) и анализа выживаемости (метод Каплана–Майера). Кривые выживаемости сравнивали по значению логрангового критерия. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$ для всех критериев.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования была изучена связь концентрации сывороточной ТК с течением заболевания и эффективностью лечения в группе больных, получивших терапию СНОР или лейкераном, способными лишь сдерживать опухолевый рост. У 20 пациентов 1-й группы (56 %) определялся уровень ТК < 20 Ед/л, у 16 (44 %) – ≥ 20 Ед/л. Больные с различным уровнем ТК существенно не различались по содержанию гемоглобина, тромбоцитов, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и стадии заболевания ($p > 0,05$). Ответ на паллиативную терапию заключался в основном в стабилизации опухолевого процесса. У 25 человек лечебный эффект отсутствовал, и это были преимущественно пациенты с высоким уровнем ТК (табл. 2).

Наряду с этим нами установлено, что показания для начала химиотерапии у больных 1-й группы появлялись в разные сроки в зависимости от уровня ТК. Так, медиана времени до начала лечения в группе больных с ТК < 20 Ед/л составляла 11,3 мес., тогда как у пациентов с высоким уровнем ТК – 3,8 мес. ($p = 0,02$).

Медиана общей выживаемости у пациентов, получивших режим СНОР или лейкеран и имеющих уровень ТК < 20 Ед/л, не достигнута за 68 мес. наблюдения, а у больных с уровнем ТК ≥ 20 Ед/л составила 31 мес. ($p = 0,041$). Медиана времени до прогрессии заболевания при незначительном повышении содержания ТК составила 7 мес., при наличии высокого уровня – 2,7 мес. ($p = 0,023$).

Среди пациентов, получивших лечение FC, 55 (57 %) больных имели уровень ТК < 20 Ед/л, 41 (43 %) ≥ 20 Ед/л. Больные 2-й группы с различным содержанием ТК, так же как и больные 1-й группы, имели сходный уровень гемоглобина, тромбоцитов, ЛДГ и стадию заболевания. Вместе с тем выраженная инфильтрация костного мозга лимфоидными элементами (85–100 %) и большая опухолевая масса значительно чаще встречались у пациентов с высоким содержанием ТК ($p = 0,02$ и $p = 0,003$ соответственно). В процессе исследования так же, как и у больных 1-й группы, была выявлена взаимосвязь между уровнем ТК и ответом на терапию FC. Так, у лиц с концентрацией ТК < 20 Ед/л ПР была достигнута в 22 (40 %) случаях, ЧР – в 29 (53 %). Отсутствие эффекта на терапию наблюдалось у 4 (7 %) пациентов. В то же время у больных с высоким содержанием ТК, получивших лечение по программе FC, удалось достигнуть ПР лишь у 7 (17 %) больных, ЧР – у 16 (39 %) больных, ответ на терапию отсутствовал у 18 (44 %) пациентов (табл. 3).

Проведенные исследования показали, что подгруппы больных с различным содержанием

Таблица 2

Эффективность терапии лейкераном и СНОР у больных ХЛЛ в зависимости от содержания ТК

Эффективность	Количество пациентов		p
	Содержание ТК < 20 Ед/л	Содержание ТК ≥ 20 Ед/л	
Общая эффективность	9 (45 %)	2 (13 %)	0,004
Полная ремиссия	2 (10 %)	0 (0 %)	0,362
Частичная ремиссия	7 (35 %)	2 (13 %)	0,023
Без ответа	11 (55 %)	14 (87 %)	0,0001

Таблица 3

Эффективность терапии FC у больных ХЛЛ в зависимости от содержания ТК

Эффективность	Количество пациентов		P
	Содержание ТК < 20 Ед/л	Содержание ТК ≥ 20 Ед/л	
Общая эффективность	51 (93 %)	23 (56 %)	0,0001
Полная ремиссия	22 (40 %)	7 (17 %)	0,028
Частичная ремиссия	29 (53 %)	16 (39 %)	0,261
Без ответа	4 (7 %)	18 (44 %)	0,0001

ТК отличаются по ответу на терапию режимом СНОР, лейкераном и комбинацией FC. При применении программы FC у больных с уровнем ТК ≥ 20 Ед/л значительно реже развивались полные ремиссии, и был более низкий общий ответ на лечение по сравнению с пациентами, в сыворотке крови которых содержание ТК было менее 20 Ед/л. Кроме того, у больных с высоким содержанием ТК достоверно чаще отсутствовал лечебный эффект.

При оценке выживаемости больных, получивших терапию FC, в зависимости от уровня ТК установлено, что медиана общей выживаемости не достигнута за период наблюдения 68 мес., при этом безрецидивная выживаемость составила 37 мес., тогда как у пациентов с высоким содержанием ТК соответствующие значения составили 56 ($p = 0,015$) и 17 мес. ($p = 0,048$). Медиана времени до прогрессии также зависела от уровня ТК. Так, у больных с низким содержанием этого фермента она соответствовала 28 мес., а с высоким уровнем – 18 мес. ($p = 0,028$).

Наряду с этим изучено содержание ТК в сыворотке крови больных, получивших иммунохимиотерапию по программе RFC. Среди пациентов данной группы ТК была определена у 98 больных, из них 54 (55 %) имели уровень ТК < 20 Ед/л (1-я подгруппа) и 44 (45 %) ≥ 20 Ед/л (2-я подгруппа). Установлено, что эффект на терапию RFC не зависел от содержания ТК в сыворотке крови (табл. 4), и у всех больных коэффициент ответа был достоверно выше, чем у пациентов 1-й и 2-й групп ($p = 0,001$). Кроме того, у больных были проанализированы отдаленные результаты иммунохимиотерапии в зависимости от содержания ТК. Медианы общей выживаемости больных 1-й и 2-й подгрупп не достигнуты за 68 мес. наблюдения ($p = 0,367$). Медиана безрецидивной выживаемости у пациентов, имеющих ТК < 20 Ед/л, не достигнута, а у больных с ТК ≥ 20 Ед/л составила 42 мес. ($p = 0,121$). Медиана времени до прогрессии

Таблица 4

Эффективность терапии RFC у больных ХЛЛ в зависимости от содержания ТК

Эффективность	Количество пациентов		P
	Содержание ТК < 20 Ед/л	Содержание ТК ≥ 20 Ед/л	
Общая эффективность	52 (96 %)	41 (93 %)	0,814
Полная ремиссия	41 (76 %)	28 (64 %)	0,270
Частичная ремиссия	11 (20 %)	13 (29 %)	0,415
Без ответа	2 (4 %)	3 (7 %)	0,814

у больных 1-й подгруппы равнялась 60 мес., тогда как у больных 2-й подгруппы – 44 мес. ($p = 0,156$).

Таким образом, на основании полученных данных установлено, что ответ на терапию больных ХЛЛ, лечившихся различными программами химио- и иммунохимиотерапии, коррелировал с содержанием ТК в сыворотке крови. У пациентов с высоким уровнем ТК (≥ 20 Ед/л) количество полученных полных и частичных ремиссий было значительно меньше, чем у больных, у которых содержание изучаемого фермента было ниже 20 Ед/л. Высокая концентрация ТК ассоциируется не только с непосредственными результатами терапии (после окончания 6 курсов химио- или иммунохимиотерапии), но и с отдаленными результатами лечения – общей и беспрогрессивной выживаемостью, которые были значительно короче у пациентов, имеющих уровень ТК ≥ 20 Ед/л. У больных ХЛЛ при применении паллиативной терапии лейкераном и программы СНОР, а также режима FC содержание ТК в сыворотке крови сохраняет свое прогностическое значение. В то же время иммунохимиотерапия комбинацией RFC нивелирует негативное прогностическое значение ТК как опухолевого маркера в отношении непосредственного эффекта лечения и продолжительности ответа. Использование уровня сывороточной тимидинкиназы в качестве дополнительного критерия опухолевой прогрессии может позволить начинать лечение у больных ХЛЛ в стадии А в более ранние сроки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клиническая онкогематология: руководство для врачей / Ред. М.А. Волкова. М.: Медицина, 2007. 1120 с.
2. Chen Y., Ying M., Chen Y. et al. Serum thymidine kinase 1 correlates to clinical stages and clinical reactions and monitors the outcome of therapy of

1.247 cancer patients in routine clinical settings // *Int. J. Clin. Oncol.* 2010. 15. (4). 359–368.

3. Chiorazzi N. Cell proliferation and death: forgotten features of chronic lymphocytic leukemia B cells // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2007. 20. 399–413.

4. Goryainova N., Tretyak N., Kyselova O., Mironova O. Prognosis of induction chemotherapy results to thymidine kinase content in blood serum at diagnosis in the patients with acute myeloid leukemia // *Ann. Hematol.* 2006. 85. (1). 22–23.

5. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D. et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute–Working Group 1996 guidelines // *Blood.* 2008. 111. (12). 5446–5456.

6. Hallek M., Pflug N. State of the art treatment of chronic lymphocytic leukaemia // *Blood Rev.* 2011. 25. 1–9.

7. He E., Xu X.H., Guan H. et al. Thymidine kinase 1 is a potential marker for prognosis and moni-

toring the response to treatment of patients with breast, lung, and esophageal cancer and non-Hodgkin's lymphoma // *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2010. 29. (4–6). 352–358.

8. Moreno C., Montserrat E. New prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia // *Blood Rev.* 2008. 22. (4). 211–219.

9. Pan Z.L., Ji X.Y., Shi Y.M. et al. Serum thymidine kinase 1 concentration as a prognostic factor of chemotherapy-treated non-Hodgkin's lymphoma patients // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2010. 136. (8). 1193–1199.

10. Von Euler H., Eriksson S. Comparative aspects of the proliferation marker thymidine kinase 1 in human and canine tumour diseases // *Vet. Comp. Oncol.* 2011. 9. (1). 1–15.

11. Xu W., Shen Q.D., Yu H. et al. Lipoprotein lipase and serum thymidine kinase level in chronic lymphocytic leukemia and their correlations with other prognostic factors // *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2009. 30. (1). 8–12.

SIGNIFICANCE OF SERUM THYMIDINE KINASE IN PREDICTION OF THE RESPONSE TO THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Tamara Pavlovna ZAGOSKINA¹, Ekaterina Nikolaevna ZOTINA¹,
Mariya Gennadyevna KRYUKOVA¹, Viktor Ivanovich SHARDAKOV¹,
Irina Vladimirovna GRISHINA²

¹ Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion
610027, Kirov, Krasnoarmeiskaya str., 72

² Kirov State Medical Academy of Minzdrav of Russia
610027, Kirov, Karl Marks str., 112

The prognostic value of serum thymidine kinase was evaluated in 230 patients with chronic lymphocytic leukemia under different types of modern therapy. Thymidine kinase activity in serum was assessed using radioenzyme methods. It is found that the efficiency of the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia using different chemotherapy and immunochemotherapy's programs correlates with the content of thymidine kinase in serum. It was demonstrated that the combination of immunochemotherapy RFC eliminates the negative effect of thymidine kinase as a tumor marker from the direct effect of the treatment and the duration of response. The determination of thymidine kinase in the serum among patients with chronic lymphocytic leukemia can be recommended not only as an additional predictor of the disease and response to the therapy, but also for the selection of adequate treatment programs.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, thymidine kinase, the prognosis of the therapy's efficiency.

Zagoskina T.P. – candidate of medical sciences, assistant professor, head of hematology clinic,
e-mail: zagoskina@blood.kirov.ru

Zotina E.N. – junior researcher of hematology clinic, e-mail: enzotina@mail.ru

Kryukova M.G. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory of immunology of leukemia

Shardakov V.I. – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory of immunology of leukemia

Grishina I.V. – candidate of medical sciences, assistant professor of the chair of internal diseases

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ ДЛЯ ГЕНЕРАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

Екатерина Яковлевна ШЕВЕЛА¹, Егор Васильевич БАТОРОВ¹,
Дарья Сергеевна БАТОРОВА¹, Марина Александровна ТИХОНОВА¹,
Ирина Валентиновна КРЮЧКОВА¹, Александр Анатольевич ОСТАНИН¹,
Елена Рэмовна ЧЕРНЫХ¹

¹ ФГБУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

² ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет
Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

В работе исследовано влияние основного фактора роста фибробластов (FGF-b) на пролиферативную активность костно-мозговых мезенхимальных стромальных клеток (МСК) больных гемобластозами ($n = 16$). Показано, что у больных лимфомами и острыми лейкозами генерация МСК в присутствии FGF-b сопровождается сокращением сроков культивирования, увеличением выхода клеток и возрастанием числа циклирующих МСК. В то же время МСК больных апластической анемией отличаются низкой чувствительностью к стимулирующему действию FGF-b. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования FGF-b с целью оптимизации протоколов трансплантационного лечения гематологических больных.

Ключевые слова: мезенхимальные стромальные клетки, ростовые факторы, пролиферация, гемобластоzy.

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) относятся к классу соматических стволовых клеток, которые характеризуются способностью к самоподдержанию и дифференцировке в клетки тканей мезодермального происхождения, обладают выраженной иммунорегуляторной активностью, а также играют важную роль в обеспечении функционирования гемопоэтических ниш в костном мозге. Гемопоэстимулирующая активность МСК была продемонстрирована в моделях приживления клеток при трансплантации костного мозга, а также в отдельных клинических испытаниях [6, 11, 13,

15]. Поэтому в настоящее время предлагается проводить совместную трансплантацию стволовых кроветворных и мезенхимальных стромальных клеток с целью ускорения восстановления кроветворения у больных гемобластозами после высокодозной химиотерапии [6, 13].

В клинической практике наиболее безопасным считается использование аутологичного клеточного материала, однако свойства МСК при патологии могут быть изменены. Так, нами и другими авторами было показано, что в костном мозге больных гемобластозами регистрируется снижение числа клоногенных предшест-

Шевела Е.Я. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, e-mail: shevelak@mail.ru

Баторов Е.В. – аспирант лаборатории клеточной иммунотерапии, e-mail: ebatorov@mail.ru

Баторова Д.С. – врач-гематолог отделения гематологии и трансплантации костного мозга, e-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru

Тихонова М.А. – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, e-mail: martix-59@mail.ru

Крючкова И.В. – к.м.н., зав. отделением гематологии и трансплантации костного мозга, e-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru

Останин А.А. – д.м.н., проф., главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, e-mail: ct_lab@mail.ru

Черных Е.Р. – д.м.н., проф., член-кор. РАМН, e-mail: ct_lab@mail.ru

венников (фибробластных колониеобразующих единиц, КОЕ-Ф) и скорости роста МСК, а также количества «дочерних» клеток, генерируемых одной КОЕ-Ф [2, 3, 10, 14]. В то же время для достижения клинического эффекта необходимы большие количества МСК (1–2 млн/кг массы тела больного), что может быть достигнуто в результате длительного культивирования МСК *in vitro*. Однако многократное пассирование МСК чревато изменением их биологических свойств, что связывают с накоплением генетических нарушений [7]. В этой связи наиболее предпочтительным (с точки зрения клинического использования МСК) способом получения достаточных количеств МСК представляется их культивирование в присутствии медиаторов, стимулирующих пролиферативную активность этих клеток. Показано, что подобным действием обладает ряд факторов – фактор роста, полученный из тромбоцитов (PDGF), эпидермальный фактор роста (EGF), основной фактор роста фибробластов (FGF-b), трансформирующий рост фактор β (TGF- β), а также инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) [4, 8, 9, 12, 16]. Учитывая вышесказанное, целью настоящего исследования явилось изучение влияния FGF-b на пролиферативную активность костно-мозговых МСК больных гемобластозами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 7 доноров и 16 пациентов с гемобластозами (в возрасте от 20 до 33 лет), включая 8 больных лимфомами, 2 – острым лимфобластным лейкозом, 6 – апластической анемией. МСК выделяли из аспирата костного мозга при наличии письменного информированного согласия. Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли путем центрифугирования клеток аспирата в градиенте плотности фиколла-верографина (1,078 г/л) и инкубировали в культуральных флаконах (75 см², «Nunc», Дания) в количестве (50–100) $\times 10^6$ клеток/флакон при 37 °С в CO₂-инкубаторе. Через 72 ч неприкрепленные к пластику клетки удаляли, а адгезивную фракцию культивировали до получения конфлюэнтного слоя в питательной среде α -MEM («БиолоТ», Санкт-Петербург), дополненной 100 мкг/мл гентамицина и 20 % сыворотки крови плодов коровы («БиолоТ»), в присутствии либо в отсутствие основного фактора роста фибробластов (FGF-b, в дозе 10 нг/мл). Пассирование МСК осуществляли с использованием раствора 0,25 % трипсина/0,02 % ЭДТА. Количество прекурсоров МСК определяли по числу КОЕ-Ф при культивировании мо-

нонуклеарных клеток (1 $\times 10^6$) в чашках Петри в течение 14 сут, с последующим окрашиванием колоний по Романовскому–Гимзе.

Клеточный цикл МСК CD73+ оценивали методом проточной цитометрии. Для этого 25 мкл МСК (1,0 $\times 10^6$) инкубировали в течение 45 мин при 4 °С в темноте с 5 мкл FITC-конъюгированных анти-CD73 антител (Сорбент, Москва). После однократной отмывки забуференным физиологическим раствором, содержащим 0,02 % ЭДТА и 1 % азида натрия (раствор «А»), клетки фиксировали в течение 30 мин холодным 0,5 % раствором парафармальдегида, центрифугировали и ресуспендировали в 0,5 мл раствора А, содержащего РНКазу в концентрации 20 мкг/мл, после чего инкубировали в темноте в течение 30 мин при 37 °С. Затем клетки обрабатывали 7-аминоактиномицином D (7-AAD, Calbiochem, Германия) в конечной концентрации 2 мкг/мл в темноте в течение 30 мин при 4 °С.

Анализ клеточного цикла проводили по оценке гистограмм ДНК (красная флуоресценция). Относительное содержание клеток с диплоидным (клетки в фазах клеточного цикла G0/G1) и гипердиплоидным (клетки в фазах клеточного цикла S, G2/M) набором ДНК определяли в гейте CD73+ (зеленая флуоресценция). Апоптотические клетки, ДНК которых подвергалась фрагментации, формировали характерный гиподиплоидный пик. Результаты выражались в виде процентного соотношения позитивных клеток к общему количеству CD73 (не менее 10000).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование клоногенной эффективности МСК показало, что FGF-b не влиял на адгезивность прекурсоров МСК и количество клоногенных предшественников (КОЕ-Ф) в культурах мононуклеарных клеток, выделенных из костного мозга доноров ($n = 3$) и больных гемобластозами ($n = 3$). Так, число КОЕ-Ф при 14-дневном культивировании в стандартных условиях составляло в среднем $24,3 \pm 6,9$ и не изменялось при добавлении в питательную среду FGF-b – $24,0 \pm 7,2$ ($p > 0,05$). В то же время колонии фибробластоподобных клеток в присутствии FGF-b отличались большей клеточностью и, следовательно, большими размерами, что, как известно, свидетельствует о более высокой пролиферативной активности клоногенных предшественников [1]. При этом увеличение размеров КОЕ-Ф было в одинаковой степени характерно для культур костно-мозговых мононуклеарных клеток доноров и больных.

Сравнительная характеристика первичных культур МСК в зависимости от присутствия в культуральной среде основного фактора роста фибробластов

Группа	FGF-b(-)	FGF-b(+)	p
Длительность первичного культивирования до 80–90 % субслияния			
Доноры (n = 7)	14,6 ± 0,64	13,1 ± 0,33	0,57
Больные гемобластозами (n = 16)	25,4 ± 1,52	18,6 ± 1,21	0,041
Выход клеток (× 10 ⁴)*			
Доноры (n = 7)	3,99 ± 0,37	6,95 ± 0,76	0,023
Больные гемобластозами (n = 16)	3,0 ± 0,32	5,2 ± 0,79	0,009
Лимфома (n = 8)	3,2 ± 0,45	5,5 ± 0,95	0,023
Острый лейкоз (n = 2)	1,2 ± 0,51	9,1 ± 3,7	
Апластическая анемия (n = 6)	3,3 ± 0,41	3,8 ± 0,39	0,68

Примечание: * – выход МСК/10⁶ мононуклеарных клеток; p – достоверность различий с группой FGF-b(-) (по критерию Вилкоксона для связанных пар).

Анализ особенностей генерации МСК показал (таблица), что использование FGF-b в процессе культивирования МСК доноров приводило к незначительному снижению длительности первичного культивирования клеток (до первого пассирования на момент достижения 80–90 % субслияния). В то же время в культурах МСК больных гемобластозами, исходно отличавшихся замедленным ростом, добавление FGF-b приводило к статистически значимому укорочению сроков генерации МСК в первичных культурах в среднем с 25,4 до 18,6 сут ($p = 0,041$).

Анализ количества МСК, полученных при первом пассировании, показал, что в присутствии FGF-b наблюдалось выраженное увеличение выхода МСК, что свидетельствовало о более эффективной пролиферации клеток (см. таблицу). При этом в культурах FGF-стимулированных МСК доноров выход клеток повышался в среднем на 74 % ($p = 0,023$). Увеличение численности популяции МСК в целом по группе больных гемобластозами (n = 16) было таким же значительным (на 73 %) и статистически достоверным ($p = 0,009$). Однако анализ исследуемых параметров в различных подгруппах больных

показал, что FGF-опосредованное возрастание выхода МСК наблюдалось преимущественно в культурах МСК больных лимфомами (n = 8) и острыми лейкозами (n = 2). В то же время при апластической анемии выход клеток практически не изменялся. Полученные данные свидетельствуют о различной чувствительности МСК к стимулирующему действию FGF-b при различных онкогематологических заболеваниях.

Дополнительным подтверждением усиления пролиферативного потенциала МСК под влиянием FGF-b послужили результаты исследования параметров клеточного цикла (рисунок). Действительно, из данного рисунка видно, что стимулирующее действие FGF-b проявляется в выраженной тенденции к снижению относительного количества покоящихся (в фазе клеточного цикла G0/G1; с 73,1 ± 8,84 до 59,6 ± 4,35 %) МСК и в трехкратном увеличении доли циклирующих клеток (в фазе S + G2/M; с 3,45 ± 1,19 до 10,01 ± 2,91; $p = 0,043$).

Полученные нами данные о влиянии FGF-b на пролиферативную активность МСК подтверждают возможность использования данного ростового фактора для оптимизации протоколов

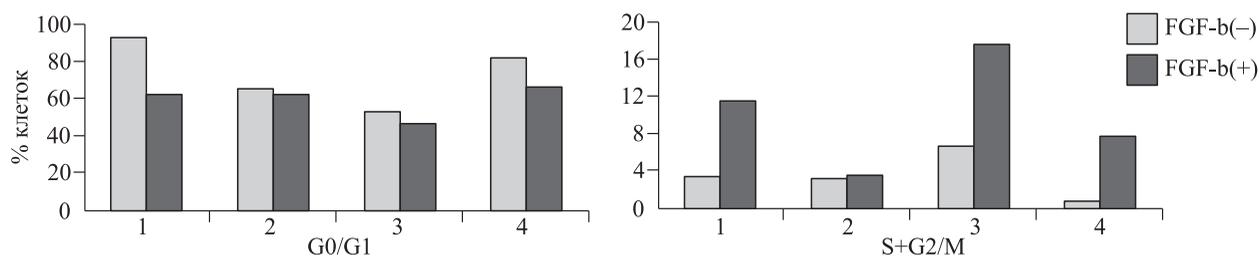


Рис. Распределение CD73⁺ МСК по фазам клеточного цикла. Представлены индивидуальные значения относительного количества клеток в различных фазах клеточного цикла, полученные в четырех экспериментах: 1 и 2 – МСК доноров; 3 и 4 – МСК больных лимфомами

генерации МСК и получения их в количествах, необходимых для клинических целей. Действительно, низкая частота МСК в костном мозге и быстрая потеря прогениторных свойств во время экспансии *in vitro* составляют одно из главных ограничений при проведении МСК-ориентированной клеточной терапии [5]. Использование ростовых факторов и, в частности, FGF-b позволяет протектировать прогениторные свойства МСК и через усиление их пролиферативной активности достоверно повысить эффективность генерации МСК в культуре *in vitro*. Считается, что FGF-b оказывает стимулирующий эффект на ранние прекурсоры МСК, избирательно повышая их выживаемость и функциональную активность. Так, например, показано, что при добавлении FGF-b продолжительность жизни МСК увеличивается до 70 удвоений популяции по сравнению с 50 в культурах без фактора [8].

Принципиально новыми и, безусловно, заслуживающими внимания можно считать полученные нами данные о корригирующем влиянии FGF-b на пролиферативный потенциал МСК, выделенных из костного мозга больных гемобластомами: впервые показано, что генерация МСК больных лимфомами и острыми лейкозами в присутствии FGF-b сопровождается сокращением сроков первичного культивирования, увеличением выхода клеток, а также возрастанием числа циклирующих МСК. В совокупности эти результаты свидетельствуют о способности FGF-b корригировать исходно сниженную пролиферативную активность МСК при некоторых онкогематологических заболеваниях. Логично предположить, что в данном случае МСК экспрессируют функционально активные рецепторы к FGF-b. В то же время очень незначительный стимулирующий эффект FGF-b, выявляемый в культурах МСК больных апластической анемией, указывает на гетерогенность МСК и свидетельствует о различной чувствительности МСК к корригирующему действию FGF-b при разных заболеваниях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Суммируя полученные данные, можно заключить, что 1) генерация МСК больных лимфомами и острыми лейкозами в присутствии FGF-b позволяет сократить сроки культивирования и сопровождается увеличением выхода клеток, а также возрастанием числа МСК в фазе клеточного цикла S + G2/M; 2) МСК больных апластической анемией отличаются низкой чувствительностью к стимулирующему действию FGF-b. Полученные данные свиде-

тельствуют о целесообразности использования FGF-b с целью оптимизации протоколов МСК-опосредованной терапии в лечении некоторых гемобластозов.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН в рамках ГК № 16.522.11.7057.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Герасимова Л.П., Дризе Н.И., Лубкова О.Н. и др. Нарушение стромального микроокружения у больных с различными заболеваниями системы крови // Гематол. трансфузиол. 2008. 53. (5). 59–62.
2. Шевела Е.Я., Петровский Я.Л., Курганова Е.В. и др. Характеристика мезенхимальных стромальных клеток костного мозга у больных гемобластомами // Гематол. трансфузиол. 2008. (2). 32–38.
3. Bacigalupo A., Valle M., Podesta M. et al. T-cell suppression mediated by mesenchymal stem cells is deficient in patients with severe aplastic anemia // Exp. Hematol. 2005. 33. (7). 819–827.
4. Baddoo D., Hill K., Wilkinson R. et al. Characterization of mesenchymal stem cells isolated from bone-marrow by negative selection // J. Cell Biochem. 2003. 89. 1235–1249.
5. Banfi A., Muraglia A., Dozin B. et al. Proliferation kinetics and differentiation potential of ex vivo expanded human bone marrow stromal cells: Implications for their use in cell therapy // Exp. Hematol. 2000. (28). 707–715.
6. Battiwalla M., Hematti P. Mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation // Cytotherapy. 2009. 11. (5). 503–515.
7. Bernardo M.E., Cometa A.M., Pagliara D. et al. Ex vivo expansion of mesenchymal stromal cells // Best Pract. Res. Clin. Haematol. 2011. 24. (1). 73–81.
8. Bianchi G., Banfi A., Mastrogiacomo M. et al. Ex vivo enrichment of mesenchymal stem cell progenitors by fibroblast growth factor 2 // Exp. Cell Res. 2003. 287. 98–105.
9. Di Maggio N. Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Niches and Regenerative Medicine: abstract of thesis doctor of philosophy. Basel, 2010.
10. Fouillard L., Bensidhoum M., Bories D. et al. Engraftment of allogeneic mesenchymal stem cells in the bone marrow of a patient with severe idiopathic aplastic anemia improves stroma // Leukemia. 2003. 17. 474–476.
11. Koc O.N., Gerson S.L., Cooper B.W. et al. Rapid hematopoietic recovery after coinfusion of autologous-blood stem cells and culture expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast

- cancer patients receiving high-dose chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* 2000. 18. 307–316.
12. Kuznetsov S.A., Friedenstein A.J., Robey P.G. Factors required for bone marrow fibroblast colony formation *in vitro* // *Br. J. Haematol.* 1997. 97. 561–570.
13. Le Blanc K., Samuelsson H., Gustafsson B. et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells // *Leukemia.* 2007. 21. (8). 1733–1738.
14. Li B., Fu J., Chen P., Zhuang W. Impairment in immunomodulatory function of mesenchymal stem cells from multiple myeloma patients // *Arch. Med. Res.* 2010. 41. (8). 623–633.
15. Sergeevicheva V.V., Shevela E.Y., Sizikova S.A. et al. Autologous mesenchymal stromal cells of hemoblastoses patients efficiently support hematopoietic recovery stem cell transplantation // *Cell Ther. Transplant.* 2010. 1. (4). 98–105.
16. Wang Q.R., Yan Z.J., Wolf N.S. Dissecting the hematopoietic microenvironment VI. The effects of several growth factors on the growth of murine bone marrow CFU-F // *Exp. Hematol.* 1990. 18. 341–347.

THE USE OF FIBROBLAST GROWTH FACTOR FOR MESENCHYMAL STROMAL CELL GENERATION IN HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

Ekaterina Yakovlevna SHEVELA¹, Egor Vasil'yevich BATOROV¹,
Dar'ya Sergeevna BATOROVA¹, Marina Aleksandrovna TIKHONOVA¹,
Irina Valentinovna KRYUCHKOVA¹, Aleksandr Anatol'yevich OSTANIN¹,
Elena Removna CHERNYKH¹

¹ *Research Institute of Clinical Immunology SB RAMS*
630099, Novosibirsk, Yadrintsevskaya str., 14

² *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia*
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52

The impact of basic fibroblast growth factor (FGF-b) on the proliferative activity of mesenchymal stromal cells (MSCs) generated from bone marrow of patients with hematological malignancies ($n = 16$) was investigated. It has been shown that in patients with acute leukemia and lymphoma MSC generation in the presence of FGF-b accompanied by a decrease of cultivation until confluence, increase in cell yield and the number of cycling MSCs. At the same time, the MSCs of patients with aplastic anemia are characterized by low sensitivity to the FGF-b stimulatory effects. These data indicate the feasibility of FGF-b using to optimize MSC-based protocols in the treatment of some hematological malignancies.

Key words: mesenchymal stromal cells, growth factors, proliferation, hematological malignancies.

Shevela E.Ya. – candidate of medical sciences, senior researcher of laboratory of cell immunotherapy, e-mail: shevelak@mail.ru

Batorov E.V. – postgraduate student of laboratory of cell immunotherapy, e-mail: ebatorov@mail.ru

Batorova D.S. – hematologist of department of hematology and bone marrow transplantation, e-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru

Tikhonova M.A. – candidate of biological sciences, leading researcher of laboratory of cell immunotherapy, e-mail: martix-59@mail.ru

Kryuchkova I.V. – candidate of medical sciences, head of the department of hematology and bone marrow transplantation, e-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru

Ostanin A.A. – doctor of medical sciences, professor, chief researcher of laboratory of cell immunotherapy, e-mail: ct_lab@mail.ru

Chernykh E.R. – corresponding member of RAMS, doctor of medical sciences, professor, e-mail: ct_lab@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО БАЛАНСА ПРИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Наталья Петровна ДОМНИКОВА^{1,2}, Татьяна Юрьевна ДОЛГИХ¹,
Юлия Александровна ДЬЯЧКОВА², Елена Евгеньевна ПЕТРУСЕНКО¹,
Татьяна Борисовна КУЗНЕЦОВА², Евгений Владимирович ШОЛЕНБЕРГ¹,
Олег Вадимович РЕШЕТНИКОВ³, Светлана Леонидовна РЫЖИКОВА⁴

¹ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН,
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² ГБУЗ НСО Государственная Новосибирская областная клиническая больница
630087, Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

³ НИИ терапии СО РАМН,
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

⁴ ЗАО «Вектор-Бест»
630117, г. Новосибирск-117, а/я 492

Уровень спонтанной и митогениндуцированной продукции про- и противовоспалительных цитокинов у 76 пациентов с хроническим лимфолейкозом, неходжкинскими лимфомами из малых лимфоцитов с опухолевым поражением костного мозга, множественной миеломой и диффузной В-крупноклеточной лимфомой исследован в динамике химиотерапии. Дебют или прогрессия заболевания сопровождаются повышением уровня ряда провоспалительных цитокинов, за исключением ИЛ-2, продукция которого понижена. В стадии ремиссии преимущественно снижен уровень и про- и противовоспалительных цитокинов. Продукция колониестимулирующих факторов повышена как в дебюте или прогрессии, так и в ремиссии лимфопролиферативных заболеваний.

Ключевые слова: цитокины, хронический лимфолейкоз, неходжкинские лимфомы из малых лимфоцитов с поражением костного мозга, множественная миелома, диффузная В-крупноклеточная лимфома.

Цитокины – белковые или полипептидные продукты активированных клеток иммунной системы, которые определяют взаимосвязь клеток в динамике иммунного ответа, при гемопоэзе и развитии воспаления [5]. Изменение продукции цитокинов особенно важно в патогенезе лимфопролиферативных заболеваний, так как субстратом патологического процесса в этом случае являются иммунокомпетентные клетки и

их предшественники – основные продуценты и потребители цитокинов.

Роль большинства цитокинов хорошо изучена при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ), неходжкинских лимфомах из малых лимфоцитов (НХЛ из малых лимфоцитов), множественной миеломе (ММ) и диффузной В-крупноклеточной лимфоме (ДВККЛ) [3, 9, 13]. В то же время состояние цитокиновой системы в динамике

Домникова Н.П. – д.м.н., проф., зав. лабораторией молекулярно-клеточных и иммуноморфологических основ онкогематологии, зав. гематологическим отделением с блоком асептических палат,
e-mail: n_domnikova@mail.ru

Долгих Т.Ю. – старший научный сотрудник, e-mail: tatyana.yurevna.dolgikh@yandex.ru

Дьячкова Ю.А. – врач гематологического отделения с блоком асептических палат,
e-mail: dyachkova_yuliya@mail.ru

Петрусенко Е.Е. – старший научный сотрудник, e-mail: elena_petrusenko@list.ru

Кузнецова Т.Б. – врач гематологического отделения с блоком асептических палат, e-mail: tata1979k@mail.ru

Шоленберг Е.В. – научный сотрудник, e-mail: tevton1350@rambler.ru

Решетников О.В. – ведущий научный сотрудник, e-mail: reshetnikov_ov@mail.ru

Рыжикова С.Л. – научный сотрудник, e-mail: sv_ryzhikova@mail.ru

химиотерапии остается недостаточно исследованным, что касается в первую очередь колоние-стимулирующих факторов.

Кроме того, основная часть опубликованных результатов связана с изучением сывороточной концентрации цитокинов, отражающей иммунологическую реактивность организма в целом. Исследования, посвященные способности клеток крови к секреции цитокинов при лимфопролиферативных заболеваниях *ex vivo*, не многочисленны. Вместе с тем в последние годы появилась возможность проведения работ в этом направлении, используя метод дифференцированного определения спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов. Определение уровней продукции цитокинов мононуклеарами периферической крови *in vitro* показывает функциональное состояние клеток. Спонтанная продукция цитокинов мононуклеарами в культуре свидетельствует, что клетки уже активированы *in vivo*. Индуцированный (различными стимуляторами, митогенами) синтез цитокинов отражает потенциальную, резервную способность клеток отвечать на антигенный стимул. Сниженная индуцированная продукция цитокинов *in vitro* может служить одним из признаков иммунодефицитного состояния [7].

Цель работы – изучение уровня спонтанной и митогениндуцированной продукции про- и противовоспалительных цитокинов при лимфопролиферативных заболеваниях в фазе дебюта и прогрессии, а также ремиссии (полной или частичной), достигнутой в результате химиотерапии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 76 пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями: 42 человека (27 мужчин, 15 женщин, средний возраст – $58,25 \pm 9,62$ года) с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, 23 человека (10 мужчин, 13 женщин, средний возраст $59,70 \pm 8,30$ года) с ММ, 11 человек с ДВККЛ (6 мужчин, 5 женщин, средний возраст $52,0 \pm 11,14$ года), находившихся в 2011–2012 гг. на лечении в гематологическом отделении с блоком асептических палат ГБУЗ НСО Государственная Новосибирская областная клиническая больница. Пациенты с ХЛЛ имели В или С стадию по Vinet, у всех пациентов с НХЛ из малых лимфоцитов отмечалось опухолевое поражение костного мозга и IV стадия; среди больных ДВККЛ доминировали III и IV стадии (в соответствии с классификацией, принятой в Ann Arbor (США) в 1971). У большинства больных ММ отмечалась II–III стадия заболевания [14].

Лечение больных ХЛЛ осуществлялось флударабином в сочетании с циклофосфаном (FC) или в комбинации с циклофосфаном и ритуксимабом (FCR). Для лечения больных НХЛ из малых лимфоцитов применялись курсы по схемам COP (циклофосфан, винкристин, преднизолон), RCOP (ритуксимаб, циклофосфан, винкристин, преднизолон), CNOP (циклофосфан, доксорубин, винкристин, преднизолон), RCNOR (ритуксимаб, циклофосфан, доксорубин, винкристин, преднизолон). Терапия пациентов с ММ осуществлялась по схеме VMP (велкейд, мелфалан, преднизолон). Лечение больных ДВККЛ проводили по схемам CNOP и RCNOR.

Фаза дебюта или прогрессии (рецидива) заболевания выявлена у 29 (69,0 %) больных ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, у 19 (82,6 %) больных ММ, а также 6 (54,5 %) пациентов с ДВККЛ. Частичная или полная ремиссия после проведенной химиотерапии отмечена у 13 (31,0 %) пациентов с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, 4 (17,4 %) пациентов с ММ и 5 (45,5 %) больных ДВККЛ.

У всех пациентов исследовали спектр спонтанной и митогениндуцированной продукции про- и противовоспалительных цитокинов: интерферона- γ (ИНФ- γ), фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкина- 1β (ИЛ- 1β), интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8), интерлейкина-10 (ИЛ-10), интерлейкина-17 (ИЛ-17), интерлейкина-18 (ИЛ-18), антагониста рецепторов интерлейкина-1 (ИЛ-1РА), моноцитарного хемотаксического белка (MCP-1), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF), а также антител к интерферону- α (АТ к ИНФ- α) в динамике химиотерапии: до начала лечения и через 6–8 курсов (через 4–6 месяцев).

Для исследования спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов клетками крови использовали набор реагентов «ЦИТОКИН-СТИМУЛ-БЕСТ». Непосредственно после отбора из кубитальной вены 1 мл крови вносили во флакон, содержащий 4 мл поддерживающей среды (DMEM), гепарин (2,5 Ед/мл), гентамицин (100 мкг/мл) и L-глутамин (0,6 мг/мл). Этот флакон использовали для изучения спонтанной продукции цитокинов. Для митогенной стимуляции 1 мл полученной разбавленной крови переносили во флакон со смесью поликлональных активаторов: липополисахарида, конканавалина А, фитогемагглютинаина Р и фитогемагглютинаина М. Оба флакона инкубировали в течение

суток при 37 °С, затем клетки крови осаждали на центрифуге при 10000 g в течение 3 мин, супернатант после отделения осадка замораживали и хранили при –40 °С до проведения количественного анализа цитокинов. Концентрацию цитокинов в исследуемых образцах оценивали с помощью соответствующих иммуноферментных наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Концентрация измерялась в пг/мл.

Группу контроля по уровню спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов клетками крови составил 51 условно-здоровый донор [8].

Результаты представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – среднее арифметическое значение, σ – стандартное отклонение. Различия считались достоверными при значении вероятности ошибки (p) < 0,05. Проверку соответствия выборок анализируемых данных по спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов при ХЛЛ, НХЛ из малых лимфоцитов, ММ и ДВККЛ нормальному закону распределения проводили по критерию Шапиро–Уилка. Сравнения средних значений различных выборок производили с помощью U-теста по методу Манна и Уитни (непараметрического теста), который применяется там, где выборки из переменных, принадлежащих к интервальной шкале, не подчиняются нормальному распределению.

Клинико-морфологические исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской Декларации (2000 г.). Программа исследования была рассмотрена и одобрена на заседании этического комитета ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ММ, а также ДВККЛ концентрация исследованных цитокинов: ИНФ- γ , ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-1РА, МСР-1, Г-КСФ, ГМ-КСФ, VEGF, а также АТ к ИНФ- α находится в широких пределах и не подчиняется закону нормального распределения.

Как в дебюте, так и в прогрессии лимфо-пролиферативных заболеваний выявлено выраженное увеличение спонтанной продукции колониестимулирующих факторов по сравнению с группой контроля: Г-КСФ в 185,3 ($p = 0,002$), 85,2 ($p = 0,047$) и 31,2 раза ($p = 0,002$), ГМ-КСФ в 10,3 ($p = 0,001$), 10,0 ($p = 0,003$) и 8,9 раза

($p < 0,001$) при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ДВККЛ, а также ММ соответственно. У пациентов с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов оказалась повышенной митогениндуцированная продукция Г-КСФ в 1,9 раза ($p = 0,045$).

Обнаружено, что общим для исследуемых нозологий явился повышенный уровень продукции ИЛ-18: спонтанной (в 2,9 раза ($p < 0,001$) при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, в 4,3 раза ($p = 0,043$) при ДВККЛ) и митогениндуцированной (в 2,5 раза ($p < 0,001$) при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, в 3,7 раза ($p = 0,035$) при ДВККЛ). При ММ спонтанная продукция ИЛ-18 оказалась увеличенной в 1,8 раза ($p = 0,002$), митогениндуцированная не отличалась от группы контроля ($p = 0,055$).

У пациентов с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, а также ДВККЛ в дебюте или прогрессии повышен уровень продукции VEGF: в первом случае – митогениндуцированной в 3,4 раза ($p = 0,010$), во втором случае – спонтанной в 2,6 раза ($p = 0,005$). Дебют или прогрессия ММ сопровождается увеличением спонтанной продукции ИЛ-8 в 1,4 раза ($p = 0,027$).

Помимо повышенного уровня цитокинов в дебюте или прогрессии лимфо-пролиферативных заболеваний отмечено снижение продукции ИЛ-2. Так, спонтанная продукция ИЛ-2 у пациентов с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов ниже по сравнению с группой контроля в 3,6 раза ($p = 0,048$), у пациентов с ММ – в 2,5 раза ($p = 0,001$), у больных ДВККЛ – в 8,5 раза ($p < 0,001$). Митогениндуцированная продукция ИЛ-2 при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов снижена в 3 раза ($p < 0,001$), при ММ – в 2,2 раза ($p < 0,001$).

Обнаружено, что ремиссия лимфо-пролиферативных заболеваний сопровождается только снижением уровня цитокинов. Исключением явилось повышение спонтанной продукции ГМ-КСФ в 4,1 раза ($p = 0,020$) при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов.

В ремиссии ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов оказалась сниженной спонтанная продукция как провоспалительных цитокинов – ИЛ-8 в 1,2 раза ($p = 0,030$), ИЛ-6 в 5,8 раза ($p = 0,016$), ИЛ-2 в 6,5 раза ($p = 0,025$), ИЛ-17 в 236,1 раза ($p < 0,001$), так и противовоспалительных – ИЛ-4 в 15,2 раза ($p = 0,002$) и ИЛ-10 в 47,1 раза ($p < 0,001$), а также митогениндуцированная продукция ИЛ-10 в 1,2 раза ($p = 0,02$). У пациентов с ММ отмечен пониженный уровень спонтанной продукции противовоспалительных цитокинов: ИЛ-4 в 91,2 раза ($p < 0,001$) и ИЛ-1РА в 1,4 раза ($p < 0,001$). При ДВККЛ выявлено снижение спонтанной продукции провоспалитель-

ного цитокина ИНФ- γ в 9,0 раза ($p < 0,001$), а также митогениндуцированной продукции провоспалительных цитокинов: ФНО- α в 2,7 раза ($p = 0,045$), ИЛ-6 в 2,3 раза ($p = 0,045$), ИЛ-2 в 15,1 раза ($p < 0,001$), и противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в 232,3 раза ($p = 0,002$).

Спонтанная и митогениндуцированная продукция остальных цитокинов в дебюте или прогрессии, а также ремиссии лимфопролиферативных заболеваний была не изменена. Достоверной разницы по уровням исследованных цитокинов между ХЛЛ, НХЛ из малых лимфоцитов, ММ и ДВККЛ как в дебюте или прогрессии, так и в ремиссии не обнаружено. Различия по уровню продукции провоспалительных, противовоспалительных цитокинов и колониестимулирующих факторов между контрольной группой и группой пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями в фазе дебюта или прогрессии, а

также между контрольной группой и пациентами в фазе ремиссии представлены в табл. 1, 2 и 3. Обсуждению подлежали только статистически значимые результаты.

Патогенетическая роль Г-КСФ и ГМ-КСФ при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ММ и ДВККЛ еще не определена. Однако известно, что при меланоме эти цитокины резко усиливают противоопухолевую активность макрофагов, что позволяет отнести ГМ-КСФ и Г-КСФ к факторам-ингибиторам роста опухоли [4]. В экспериментальных условиях продемонстрированы противоопухолевые свойства ГМ-КСФ: *ex vivo* данный цитокин усиливает активность естественных киллеров, которые распознают и убивают опухолевые клетки [21]; на мышинной модели рака антитело-опосредованная адресная доставка ГМ-КСФ в область неоваскуляризации опухоли подавляет опухолевый рост и метаста-

Таблица 1

Уровень продукции провоспалительных цитокинов в дебюте или прогрессии и ремиссии лимфопролиферативных заболеваний, $M \pm \sigma$

Содержание цитокина, пг/мл	Контрольная группа (n = 51)	Пациенты в дебюте или прогрессии (n = 54)	Пациенты в ремиссии (n = 22)	p
сИЛ-2	2,6 ± 4,8	0,8 ± 1,3	0,8 ± 1,3	$p_{1,2} = 0,003$ $p_{1,3} = 0,046$
мИЛ-2	77,9 ± 87,2	47,8 ± 57,4	55,7 ± 62,6	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} = 0,001$
сИЛ-6	695,9 ± 1827,2	252,6 ± 605,9	170,1 ± 297,6	$p_{1,3} = 0,007$
мИЛ-6	25097,3 ± 17027,9	20223,3 ± 13223,0	18567,8 ± 9174,8	
сИЛ-8	1979,5 ± 2357,8	3637,7 ± 5409,6	937,5 ± 1295,4	
мИЛ-8	32613,7 ± 18904,1	35270,0 ± 33251,4	43493,1 ± 16345,3	
сИЛ-17	4,4 ± 7,0	1,31 ± 3,0	0,3 ± 0,8	$p_{1,3} < 0,001$
мИЛ-17	97,9 ± 126,7	95,6 ± 74,7	75,7 ± 64,7	
сИЛ-18	51,1 ± 17,9	128,1 ± 162,3	94,5 ± 64,0	$p_{1,2} < 0,001$
мИЛ-18	72,8 ± 28,3	113,7 ± 64,0	140,3 ± 79,8	
сФНО- α	36,8 ± 73,4	48,2 ± 134,2	26,3 ± 39,7	
мФНО- α	3866,3 ± 3308,3	2062,3 ± 1021,4	2438,3 ± 1450,4	$p_{1,3} = 0,030$
сVEGF	51,7 ± 35,5	61,5 ± 91,3	45,6 ± 60,4	
мVEGF	34,0 ± 22,9	74,6 ± 84,4	124,8 ± 239,6	
сИНФ- γ	4,9 ± 8,3	47,2 ± 273,4	15,8 ± 28,8	
мИНФ- γ	2367,3 ± 2826,6	1974,1 ± 2074,3	3788,3 ± 3219,9	
сИЛ-1 β	99,7 ± 266,6	181,5 ± 673,2	32,2 ± 43,8	
мИЛ-1 β	2360,3 ± 2226,3	2795,5 ± 2989,8	1578,8 ± 1173,1	
сМСР-1	нет данных	1320,1 ± 1660,7	866,6 ± 1097,7	
мМСР-1	нет данных	4284,8 ± 3785,6	4505,2 ± 2786,9	

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 обозначены достоверные отличия от величины соответствующего показателя пациентов контрольной группы: $p_{1,2}$ – пациентов с заболеванием в фазе дебюта или прогрессии, $p_{1,3}$ – пациентов с заболеванием в фазе ремиссии.

Таблица 2

Уровень продукции противовоспалительных цитокинов в дебюте или прогрессии и ремиссии лимфопролиферативных заболеваний, $M \pm \sigma$

Содержание цитокина, пг/мл	Контрольная группа 1 (n = 51)	Пациенты в дебюте или прогрессии 2 (n = 54)	Пациенты в ремиссии 3 (n = 22)	p
сИЛ-4	0,03 ± 0,1	0,1 ± 0,3	0,04 ± 0,1	
мИЛ-4	4,6 ± 11,5	4,4 ± 10,0	5,0 ± 11,3	
сИЛ-10	15,6 ± 16,8	8,8 ± 22,4	11,8 ± 16,0	$p_{1,3} < 0,001$
мИЛ-10	231,1 ± 187,7	92,5 ± 83,8	199,8 ± 181,0	$p_{1,3} = 0,002$
сИЛ-1РА	1971,4 ± 2477,1	1566,3 ± 2944,0	938,8 ± 1054,7	
мИЛ-1РА	11773,8 ± 7077,1	20236,3 ± 10060,5	20101,9 ± 11358,9	
сАТ к ИНФ-α	Нет данных	0,4 ± 1,3	0	
мАТ к ИНФ-α	Нет данных	0,4 ± 1,3	0	

Таблица 3

Уровень продукции колониестимулирующих факторов в дебюте или прогрессии и ремиссии лимфопролиферативных заболеваний, $M \pm \sigma$

Содержание цитокина, пг/мл	Контрольная группа 1 (n = 51)	Пациенты в дебюте или прогрессии 2 (n = 54)	Пациенты в ремиссии 3 (n = 22)	p
сГ-КСФ	0,5 ± 1,1	54,8 ± 159,6	7,1 ± 10,5	$p_{1,2} = 0,001$
мГ-КСФ	441,0 ± 186,5	661,2 ± 731,5	591,6 ± 683,6	
сГМ-КСФ	0,4 ± 0,6	3,7 ± 6,8	1,2 ± 2,0	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} = 0,010$
мГМ-КСФ	54,4 ± 33,8	105,8 ± 211,3	96,6 ± 130,9	

зирование [18]. Вероятно, поэтому продукция этих колониестимулирующих факторов усилена в дебюте или прогрессии лимфопролиферативных заболеваний. Наличие противоопухолевой активности у ГМ-КСФ и Г-КСФ, а также ее механизмы при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ММ и ДВККЛ требует дальнейшего изучения.

Выявленное в нашей работе повышение спонтанной продукции ИЛ-18 при ММ, спонтанной и митогениндуцированной при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, а также ДВККЛ в фазе дебюта или прогрессии, возможно, связано с тем, что нарушение продукции данного цитокина и/или его рецепторов опухолевыми клетками в некоторых случаях способствует росту опухоли, как показано при ХЛЛ [10]. В зарубежных исследованиях [11, 16] сывороточный уровень ИЛ-18 коррелирует с более тяжелыми стадиями заболевания, повышенным уровнем ангиогенных цитокинов при ММ, плохим прогнозом при ММ и ДВККЛ.

Обнаружено, что у пациентов с ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ДВККЛ в фазе дебюта или прогрессии уровень VEGF больше, чем в норме. Известно, что VEGF увеличивает продолжительность жизни опухолевых клеток, а

также стимулирует неоангиогенез, сопровождающийся угрозой метастазирования. В итоге прогрессирует опухоль, развивается резистентность к химиотерапии и уменьшается выживаемость [17]. В данном случае высокий уровень продукции VEGF связан с ростом злокачественной опухоли и метастазированием.

Увеличение спонтанной продукции ИЛ-8 у пациентов с ММ в дебюте или прогрессии заболевания связано с тем, что этот провоспалительный цитокин играет ключевую роль в неоангиогенезе и опухолевой прогрессии [19]. Так, в работе Kuku I. et al. [20] сывороточное содержание ИЛ-8 было повышено в дебюте ММ по сравнению с группой контроля.

Факт снижения спонтанной и митогениндуцированной продукции ИЛ-2 при ММ, ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, а также ДВККЛ в дебюте или прогрессии заболевания требует дальнейшего изучения. В то же время известно, что миеломные клетки продуцируют избыточное количество трансформирующего ростового фактора-β, который подавляет ИЛ-2-опосредованную Т-клеточную пролиферацию и, соответственно, противоопухолевый иммунитет [12].

Взаимоотношения между развивающейся опухолью и иммунной системой оцениваются неоднозначно. Считается, что в определенных обстоятельствах иммунная система не только не отторгает опухоль, но участвует в ее развитии. Так, изначально у пациента с онкологической патологией возникают негативные изменения в иммунной системе, вызванные расстройством обмена веществ – «метаболической иммуно-депрессией». При этом одним из ключевых патогенетических факторов развития этих изменений являются провоспалительные цитокины. По ходу опухолевой прогрессии организм все в большей степени использует универсальный вариант реакции – воспалительный тип ответа на новообразование [1].

Ремиссия лимфопролиферативных заболеваний, достигнутая в результате проведенной химиотерапии, сопровождается снижением продукции про- и противовоспалительных цитокинов. С одной стороны, это связано с применением преднизолона и цитостатиков, входящих в схемы лечения. Иммунодепрессивный эффект цитостатических препаратов в основном связан с подавлением кроветворения [6]. Влияние глюкокортикостероидов на иммунную систему опосредовано наличием специфических глюкокортикоидных рецепторов на лимфоидных клетках. Под воздействием стероидов происходит снижение количества лимфоцитов в периферической крови. При этом глюкокортикостероиды вызывают апоптоз незрелых или активированных Т- и В-лимфоцитов, значительно уменьшают продукцию ИЛ-2, в результате чего происходит снижение ИЛ-2-зависимого фосфорилирования различных протеинов. Это приводит к подавлению пролиферации Т-клеток. Кроме того, глюкокортикостероиды подавляют Т-клеточную активацию посредством угнетения продукции ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-6 и других цитокинов. Поскольку глюкокортикостероиды подавляют синтез цитокинов и другими клетками, происходит снижение функции Т-хелперов, Т-супрессоров, цитотоксических Т-лимфоцитов и, в целом, иммунных реакций.

Выраженное действие оказывают глюкокортикостероиды на миграцию, секрецию и функциональную активность макрофагов и моноцитов. Учитывая то, что Т-хелперы, Т-супрессоры, цитотоксические Т-лимфоциты и макрофаги непосредственно участвуют в секреции цитокинов [15], очевидно, что это приводит к снижению продукции последних.

С другой стороны, снижение уровня спонтанной и митогениндуцированной продукции про- и противовоспалительных цитокинов в

ремиссии лимфопролиферативных заболеваний позволяет рассматривать данный факт как возможный дополнительный критерий оценки прогноза.

Повышенная продукция Г-КСФ и ГМ-КСФ при лимфопролиферативных заболеваниях в фазе частичной или полной ремиссии, вероятно, имеет компенсаторный характер в ответ на угнетение миелоидного ростка после проведенной химиотерапии. Известно, что выработка Г-КСФ и ГМ-КСФ происходит по принципу обратной связи и увеличивается, в частности, при нейтропении [2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменения баланса цитокинов при ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ММ, а также ДВККЛ однотипны и обусловлены фазой заболевания: дебютом, прогрессией или ремиссией. Дебют или прогрессия лимфопролиферативных заболеваний сопровождается повышением уровня ряда провоспалительных цитокинов, за исключением ИЛ-2, продукция которого понижена.

На фоне химиотерапии в ремиссии лимфопролиферативных заболеваний наблюдается преимущественно снижение уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

Уровень колониестимулирующих факторов повышен в дебюте или прогрессии ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов, ММ и ДВККЛ, а также в ремиссии ХЛЛ и НХЛ из малых лимфоцитов.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН в рамках ГК № 16.522.11.7057.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антонов В.Г., Козлов В.К. Патогенез онкологических заболеваний: иммунные и биохимические феномены и механизмы. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии и иммунной резистентности // Цитокины и воспаление. 2004. 3. (1). 8–19.
2. Владимирская Е.Б. Механизмы кроветворения и лейкемогенеза. М., 2007. 150 с.
3. Жевак Т.Н., Чеснокова Н.П., Шелехова Т.В. Закономерности изменений цитокинового статуса при хроническом лимфолейкозе и их роль в патогенезе прогрессирующих форм заболевания // Саратовский науч.-мед. журн. 2012. 8. (2). 203–209.
4. Запорожан В.Н. Молекулярная генетика в клинической медицине: достижения и перспективы // Журн. АМН України. 2003. 9. (4). 638–648.

5. Козлов В.А., Борисов А.Г., Смирнова С.В., Савченко А.А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений. Новосибирск, 2009. 274 с.
6. Переводчикова Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. М., 2011. 512 с.
7. Рыжикова С.Л., Дружинина Ю.Г., Рябичева Т.Г., Вараксин Н.А. Стандартизация методики определения продукции цитокинов клетками крови *ex vivo* // Клин. лаб. диагностика. 2011. (11). 49–53.
8. Рябичева Т.Г., Вараксин Н.А., Тимофеева Н.В. и др. Испытания иммуномодуляторов в системе *ex vivo* // Новости «Вектор-Бест». 2006. 4. (42). 12–14.
9. Серебряная Н.Б., Новик А.А., Волошин С.В., Новицкий А.В. Клиническое значение некоторых цитокинов при злокачественных неходжкинских лимфомах // Цитокины и воспаление. 2002. 1. (3). 21–26.
10. Airoidi I., Raffaghello L., Cocco C. Heterogeneous expression of interleukin-18 and its receptor in B-cell lymphoproliferative disorders deriving from naive, germinal center, and memory B lymphocytes // Clin. Cancer Res. 2004. 10. (1, Pt. 1). 144–154.
11. Alexandrakis M.G., Passam F.H., Sfiridaki K. et al. Interleukin-18 in multiple myeloma patients: serum levels in relation to response to treatment and survival // Leuk. Res. 2004. 28. (3). 259–266.
12. Campbell J.D., Cook G., Robertson S.E. et al. Suppression of IL-2-induced T cell proliferation and phosphorylation of STAT3 and STAT5 by tumor-derived TGF beta is reversed by IL-15 // J. Immunol. 2001. 167. 553–561.
13. Chauhan D., Hideshima T., Anderson K. Cytokines in multiple myeloma. Therapeutic implications // Cytokines in the Genesis and Treatment of Cancer. Part II. Totowa: Humana Press Inc., 2007. 181–197.
14. Durie B.G., Salmon S.E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival // Cancer. 1975. 36. (3). 842–854.
15. Franchimont D. Overview of the actions of glucocorticoids on the immune response: A good model to characterize new pathways of immunosuppression for new treatment strategies // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2004. 1024. 124–137.
16. Goto N., Tsurumi H., Kasahara S. Serum interleukin-18 level is associated with the outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP or R-CHOP regimens // Eur. J. Haematol. 2011. 87. (3). 217–227.
17. Kaiser R., Dubovy P., Haninec P. Vascular endothelial growth factor // Cesk. Fisiol. 2011. 60. (2). 48–51.
18. Kaspar M., Trachsel E., Neri D. The antibody-mediated targeted delivery of interleukin-15 and GM-CSF to the tumor neovasculature inhibits tumor growth and metastasis // Cancer Res. 2007. 67. (10). 4940–4948.
19. Kline M., Donovan K., Welik L. et al. Cytokine and chemokine profiles in multiple myeloma; significance of stromal interaction and correlation of IL-8 production with disease progression // Leuk. Res. 2007. 31. (5). 591–598.
20. Kuku I., Bayraktar M.R., Kaya E. et al. Serum proinflammatory mediators at different periods of therapy in patients with multiple myeloma // Mediat. Inflamm. 2005. 3. 171–174.
21. Penafuerte C., Bautista-Lopez N., Bouldassei M.R. et al. The human ortholog of granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-2 fusion protein induces potent *ex vivo* natural killer cell activation and maturation // Cancer Res. 2010. 70. (14). 6106.

STUDY OF CYTOKINE BALANCE IN LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS

**Natalya Petrovna DOMNIKOVA^{1,2}, Tatyana Yur'evna DOLGIKH¹,
Yuliya Aleksandrovna D'YACHKOVA², Elena Evgen'evna PETRUSENKO¹,
Tatyana Borisovna KUZNETSOVA², Evgeniy Vladimirovich SHOLENBERG¹,
Oleg Vadimovich RESHETNIKOV³, Svetlana Leonidovna RYZHIKOVA⁴**

¹ *Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

² *State Novosibirsk Regional Clinical Hospital
630087, Novosibirsk, Nemirovich-Danchenko str., 130*

³ *Institute of Internal Medicine SB RAMS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

⁴ *Joint Stock Company «VECTOR-BEST»
630117, VECTOR-BEST PO BOX 492, Novosibirsk-117*

Spontaneous and mitogen-stimulated production of pro- and anti-inflammatory cytokines in 76 patients with chronic lymphocytic leukemia, non-Hodgkin's lymphoma of small lymphocytes with tumor bone marrow, multiple myeloma and diffuse large B-cell lymphoma was investigated over the course of chemotherapy. The onset or progression is accompanied by increased level of several inflammatory cytokines, except for IL-2, which production is reduced. The level of pro- and anti-inflammatory cytokines is mainly reduced at remission. Production of colony-stimulating factors increased in onset or progression, as well as in remission of lymphoproliferative diseases.

Key words: cytokines, chronic lymphocytic leukemia, non-Hodgkin's lymphoma of small lymphocytes with tumor bone marrow, multiple myeloma, diffuse large B-cell lymphoma.

Domnikova N.P. – doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of molecular cellular and immunomorphological basis of oncohematology, head of hematology department with aseptic wards, e-mail: n_domnikova@mail.ru

Dolgikh T.Yu. – senior researcher, e-mail: tatyana.yurevna.dolgikh@yandex.ru

D'yachkova Yu.A. – physician of hematology department with aseptic wards, e-mail: dyachkova_yuliya@mail.ru

Petrusenko E.E. – senior researcher, e-mail: elena_petrusenko@list.ru

Kuznetsova T.B. – physician of hematology department with aseptic wards, e-mail: tata1979k@mail.ru

Sholenberg E.V. – researcher, e-mail: teyton1350@rambler.ru

Reshetnikov O.V. – leading researcher, e-mail: reshetnikov_ov@mail.ru

Ryzhikova S.L. – researcher, e-mail: sv_ryzhikova@mail.ru

ПРЕДИКТИВНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ТЕСТИРОВАНИЯ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА Arg72Pro 4 ЭКЗОНА АНТИОНКОГЕНА TP53 У ПАЦИЕНТОВ С НЕХОДЖКИНСКИМИ ЛИМФОМАМИ

Елена Николаевна ВОРОПАЕВА¹, Ольга Валерьевна БЕРЕЗИНА²,
Виктор Сергеевич ОВЧИННИКОВ², Михаил Иванович ВОЕВОДА¹,
Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА²,

¹ ФГБУ НИИ терапии СО РАМН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

² ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет
Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Изучена частота генотипов полиморфизма Arg72Pro в 4-м экзоне гена TP53, а также их ассоциация с показателями 5-летней выживаемости у пациентов с агрессивными и индолентными вариантами неходжкинских лимфом (НХЛ). Выявлено статистически значимое ($p=0,040$) снижение безрецидивной выживаемости в группе больных агрессивными НХЛ, имеющих генотип Arg/Arg (25 %), в сравнении с пациентами с генотипами Arg/Pro или Pro/Pro (68,8 %). Таким образом, тестирование полиморфизма Arg72Pro в 4-м экзоне гена TP53 может иметь предиктивное значение для прогноза выживаемости пациентов с агрессивными вариантами неходжкинских лимфом.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы, генетический полиморфизм, ген TP53, прогноз, выживаемость.

Учитывая неуклонный рост заболеваемости и смертности от НХЛ во всем мире, несмотря на возрастающие материальные затраты в данной области, достигнутые успехи в диагностике, разработку новых препаратов и схем лечения [4], не вызывает сомнений, что в дальнейшем онкогематология будет нуждаться в анализе молекулярно-генетических особенностей организма и опухолевых клеток для прогноза развития, профилактики и оптимального лечения опухолевых заболеваний крови.

Установлено, что практически все белок-кодирующие гены человека имеют в своей структуре молекулярные отличия (полиморфизмы), приводящие к синтезу белков с несколько измененными структурными и функциональными характеристиками. Их особенности определяют не только предрасположенность человека к тем или иным заболеваниям, но и характер их теч-

ния в случае развития патологии. Исследование генетических особенностей конкретных людей может быть полезным как для разработки эффективных мер профилактики, так и для выбора оптимальной стратегии лечения возникших у них заболеваний.

Предиктивная онкогематология представляет собой одно из направлений предиктивной медицины, которое позволяет выявлять людей с повышенной чувствительностью к тому или иному гемобластозу и разрабатывать на основании полученных данных эффективные программы индивидуальной профилактики и лечения.

Первостепенной задачей, необходимой для решения проблем предиктивной онкогематологии, является проведение исследований, доказывающих диагностическую ценность тех или иных тестируемых генных полиморфизмов. Требуется выполнение эпидемиологических ис-

Воропаева Е.Н. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний

Березина О.В. – ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии, e-mail: ovberezina@mail.ru

Овчинников В.С. – клинический ординатор кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии, e-mail: post_gem@mail.ru

Воевода М.И. – член-кор. РАМН, директор

Поспелова Т.И. – д.м.н., проф., главный гематолог и трансфузиолог г. Новосибирска, зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии факультета повышения квалификации врачей

следований на общей популяции с длительным наблюдением над людьми с различными генотипами, а также на когортах пациентов с развившимся гемобластозом, что могло бы иметь решающее значение для оценки не только диагностической, но и прогностической ценности таких тестов.

Полиморфные локусы гена *TP53* широко тестируются в исследовательских проектах во всем мире при различных онкологических заболеваниях. Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) Arg72Pro 4 экзона гена *TP53* характеризуется заменой в 72 кодоне основания G на основание C и приводит к аминокислотной замене в первичной структуре соответствующего белка аргинина на пролин. Следует отметить, что данный полиморфизм ассоциирован с риском развития не только солидных опухолей, но и НХЛ [3, 7].

подавляющее большинство проведенных в настоящее время работ посвящены лишь ризкометрии НХЛ, и только некоторые из них проводят анализ связи генетического полиморфизма с особенностями клинического течения уже развившегося заболевания, чувствительностью злокачественных клеток к терапии и выживаемостью пациентов.

В отечественной и зарубежной литературе имеются сообщения, целью которых являлся анализ ассоциации отдельных полиморфизмов генов (например, метаболизма ксенобиотиков, хемокиновых рецепторов, фолатного обмена) [1, 2, 14] с особенностями течения отдельных вариантов лимфом.

Цель исследования – изучить ассоциации аллельных вариантов полиморфного локуса Arg72Pro 4 экзона гена *TP53* у больных НХЛ с показателями общей, бессобытийной и безрецидивной выживаемости.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Группу исследования составили пациенты с В-клеточными индолентными (54 человека) (лимфоцитарная лимфома из мелких клеток/хронический лимфолейкоз, пролимфоцитарная, центроцитарная, лимфоплазмоцитарная, фолликулярная лимфома 1-го цитологического типа, маргинально-клеточная, MALT-лимфома) и агрессивными (41 человек) (диффузная крупноклеточная, беркиттоподобная, плеоморфная, лимфобластная, центробластная, иммунобластная, плазмобластная, анапластическая, фолликулярная 3-го цитологического типа) вариантами НХЛ, диагностированными в Городском гематологическом центре г. Новосибирска с 2004

по 2009 г. Средний возраст больных составил $53,2 \pm 14,5$ года, распределение по полу было следующее: 43 мужчины и 53 женщины. Срок наблюдения – от 2 до 65 мес. Генерализованные стадии заболевания (III–IV) были диагностированы у 75 пациентов (78,9%), у 20 человек (21,1%) – II стадия. В-симптомы отмечались у 68 (71,6%) больных. Согласно Международному прогностическому индексу (PI), в группе пациентов с агрессивными лимфомами 47% больных были отнесены к неблагоприятной прогностической группе, т. е. имели 3–5 факторов риска ухудшения показателей пятилетней выживаемости, 0–2 фактора риска имели 53% пациентов. При агрессивных лимфомах в качестве I линии терапии использовали программы R-СНОР и R-СНОЕР, протоколами II линии служили R-ESHAP, R-DHAP. При индолентных лимфомах применялись курсы R-СОР и R-FC. Количество курсов соответствовало 4–6 при II стадии и 6–8 при III и IV стадиях заболевания. Полные или частичные ремиссии были достигнуты у 53 из 95 (55,8%) пациентов, в том числе у 24 из 41 (58,5%) больных агрессивными и у 29 из 54 (53,7%) – индолентными вариантами НХЛ.

Материалом для исследования служила ДНК, выделенная из мононуклеаров периферической крови больных до начала активной полихимиотерапии. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с требованиями этического комитета.

Выявление ОНП Arg72Pro 4 экзона *TP53* осуществлялось методом ПЦР/ПДРФ-анализа. На первом этапе амплифицировали фрагмент гена размером 396 пар нуклеотидов (п. н.), потенциально содержащий замену нуклеотида с использованием фланкирующих праймеров: F, 5/- TGG TAA GGA CAA GGG TTG G -3/; R, 5/- ACT GAC CGT GCA AGT CAC AG -3/. Условия ПЦР были следующие: 94 °C – 3 мин, затем 30 циклов: 94 °C – 15 с, 63 °C – 1 мин и 72 °C – 1 мин, заключительный цикл 72 °C – 3 мин. На втором этапе использовали эндонуклеазу рестрикции BstFNI с сайтом распознавания CG↑CG (разрезает продукт ПЦР при наличии аллеля G). 10 мкл каждого ампликона брали в реакцию гидролиза с 4 ед. акт. эндонуклеазы рестрикции BstFNI. Гидролиз проводили при 60 °C в течение 3 ч. Продукты рестрикции ампликона ферментом BstFNI были разделены в 3% агарозном геле.

На электрофореграмме (рис. 1) представлены три генотипа: Arg/Arg, 231 + 165 п. н.; Arg/Pro, 396 + 231 + 165 п. н.; Pro/Pro, 396 п. н.

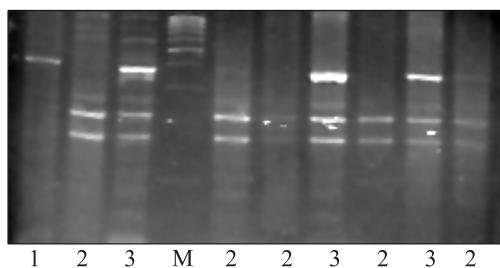


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации полиморфного варианта Arg72Pro, локализованного в 4-м экзоне гена TP53: 1 – 396 п. н. (Pro/Pro); 2 – 231 + 165 п. н. (Arg/Arg); 3 – 396 + 231 + 165 п. н. (Arg/Pro); М – ДНК-маркер молекулярного веса (100 п. н.)

При оценке статистической значимости различий между группами использовался точный критерий Фишера.

Многолетнюю выживаемость пациентов исследовали с помощью метода анализа цензурированных данных с использованием функции вероятности выживания Каплана – Майера. Для сравнения кривых выживаемости использовали непараметрический логранговый тест. При расчете общей выживаемости началом мониторинга считался момент постановки диагноза, событием – смерть от любой причины. При расчете безрецидивной выживаемости началом мониторинга считался момент окончания лечения с достижением ремиссии, событием – рецидив. При расчете бессобытийной выживаемости началом мониторинга считался момент постановки диагноза, событием – смерть от любой причины, прогрессирование заболевания на фоне терапии или рецидив лимфомы после достижения ремиссии. Следует отметить, что смертей пациентов от причин, не связанных с НХЛ, не было.

Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

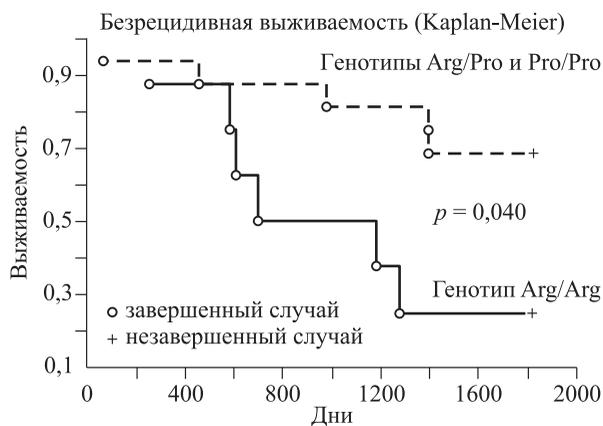


Рис. 2. Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости в группе больных с агрессивными НХЛ в зависимости от генотипа по полиморфному варианту Arg72Pro 4 экзона гена TP53

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты анализа показателей 5-летней выживаемости в обследованной группе больных НХЛ представлены в табл. 1. Расчет частот генотипов полиморфизма Arg72Pro 4 экзона TP53 показал, что 45 (47,3 %) пациентов имели гомозиготный Arg/Arg, 43 (45,3 %) – гетерозиготный Arg/Pro и 7 (7,4 %) – гомозиготный Pro/Pro генотипы. Распределение частот генотипов по полиморфному варианту Arg72Pro гена TP53 у больных лимфомами соответствовало равновесию Харди–Вайнберга.

В группе пациентов с НХЛ статистически значимой ассоциации изучаемого ОНП с показателями 5-летней общей, безрецидивной и бессобытийной выживаемости не получено, данные представлены в табл. 2. При раздельном анализе результатов терапии пациентов с агрессивными и индолентными вариантами НХЛ выявлено большее значение статуса ОНП Arg72Pro 4 экзона гена TP53 для 5-летней выживаемости больных агрессивными лимфомами (см. табл. 2, рис. 2): безрецидивная выживаемость в груп-

Таблица 1

Показатели 5-летней выживаемости больных НХЛ

5-летняя выживаемость	Вариант НХЛ						p
	Все (95 человек)		Агрессивные (41 человек)		Индолентные (54 человека)		
	n/N	%	n/N	%	n/N	%	
Общая	45/95	47,4	15/41	36,6	30/54	55,6	0,017
Безрецидивная	31/53	58,5	13/24	54,2	18/29	62,1	0,294
Бессобытийная	43/95	45,2	14/41	34,1	29/54	53,7	0,011

Примечание. p – достигнутый уровень значимости при сравнении 5-летней выживаемости в группах пациентов с агрессивными и индолентными вариантами НХЛ; здесь и в табл. 2 n – число выживших больных в течение 5 лет; N – общее число больных в группе.

Показатели 5-летней выживаемости больных НХЛ в зависимости от генотипа Arg72Pro 4 экзона гена TP53

Вариант НХЛ	5-летняя выживаемость														
	Общая					Безрецидивная					Бессобытийная				
	Генотип				p	Генотип				p	Генотип				
	Arg/Arg (45 человек)		Arg/Pro и Pro/Pro (50 человек)			Arg/Arg (26 человек)		Arg/Pro и Pro/Pro (27 человек)			Arg/Arg (45 человек)		Arg/Pro и Pro/Pro (50 человек)		p
	n/N	%	n/N	%		n/N	%	n/N	%		n/N	%	n	%	
Все (95 человек)	23/45	51,1	22/50	44,0	0,989	12/26	46,2	19/27	70,4	0,061	18/45	40,0	25/50	50,0	0,494
Индолентные (54 человек)	20/30	66,7	10/24	41,7	0,264	10/18	55,6	8/11	72,7	0,239	16/30	53,3	13/24	54,2	0,983
Агрессивные (41 человек)	3/15	20,0	12/26	46,2	0,094	2/8	25,0	11/16	68,8	0,040	2/15	13,3	12/26	46,2	0,066

Примечание. p – достигнутый уровень значимости при сравнении 5-летней выживаемости в группах индивидов с различными генотипами по полиморфному варианту Arg72Pro 4 экзона гена TP53 (точный критерий Фишера).

пе больных агрессивными НХЛ, имеющих генотип Arg/Arg, была статистически значимо ($p = 0,040$) ниже, чем у пациентов с генотипами Arg/Pro и Pro/Pro. Статистически значимого ухудшения общей и бессобытийной выживаемости у гомозиготных пациентов (Arg/Arg) с агрессивными вариантами лимфом в сравнении с лицами с генотипами Arg/Pro и Pro/Pro не выявлено (см. табл. 2). При этом ни один из генотипов Arg72Pro 4 экзона антионкогена TP53 не был ассоциирован с выживаемостью пациентов с индолентными вариантами НХЛ (см. табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенном нами ранее исследовании было показано повышение риска развития агрессивных вариантов НХЛ у носителей аллеля Pro ОНП Arg72Pro 4 экзона антионкогена TP53 в сравнении с популяционным контролем [3], которое позднее было подтверждено в исследовании корейских авторов [7].

В данной работе предпринята попытка определить прогностическую ценность тестирования однонуклеотидной замены Arg72Pro 4 экзона антионкогена TP53 при уже развившейся НХЛ. При анализе научной литературы было встречено сообщение Navtanek et al. об отсутствии ассоциации данного полиморфизма с прогнозом лимфомы Ходжкина и НХЗЛ [5]. Выполненный нами анализ также не показал статистически значимой ассоциации ОНП Arg72Pro 4 экзона гена TP53 с показателями 5-летней общей, безрецидивной и бессобытийной выживаемости.

Вместе с тем отдельный анализ пациентов с агрессивными и индолентными вариантами заболевания дал следующие результаты. Были получены данные о статистически значимом ухудшении безрецидивной выживаемости больных агрессивными НХЛ с генотипом Arg/Arg ($p = 0,048$) в сравнении с лицами с генотипами Arg/Pro и Pro/Pro. В доступных источниках данных о прогностическом значении Arg72Pro 4 экзона антионкогена TP53 на выживаемость пациентов с агрессивными вариантами лимфом нами не обнаружено.

Имеется ряд работ, посвященных исследованию ассоциации однонуклеотидной замены в 72 кодоне гена TP53 с особенностями течения индолентных НХЛ. Так, в работе Wrench et al. проводилось наблюдение за пациентами с фолликулярной лимфомой. По данным авторов, Arg72Pro 4 экзона гена TP53 не оказывал эффекта на общую, безрецидивную выживаемость, выживаемость без прогрессирования и время до трансформации [15].

Аналогичные исследования были выполнены в отношении хронического лимфолейкоза. Последний, согласно классификации лимфоидных неоплазий ВОЗ, определен в нозологическую единицу «Хронический лимфолейкоз/лимфома из малых лимфоцитов».

Лишь в исследовании A. Majid et al. было показано, что гомозиготность по аллелю Pro ассоциирована с меньшей общей выживаемостью пациентов с хроническим лимфолейкозом в сравнении с генотипом Arg/Arg [11]. В трех других сообщениях ОНП Arg72Pro 4 экзона гена TP53 не был связан ни с чувствительностью к

терапии, ни с прогнозом заболевания [8–10]. Это согласуется с результатами настоящего исследования, свидетельствующего о том, что ни один из генотипов Arg72Pro 4 экзона антионкогена *TP53* не ассоциирован с выживаемостью пациентов с индолентными вариантами НХЛ.

Как известно, продукт гена *TP53* – белок p53 – имеет два основных эффекта: останавливает клеточный цикл и способствует репарации ДНК либо проявляет проапоптотическую активность. В свою очередь известно, что пролиферативная активность индолентных НХЛ низкая, а апоптоз в них заблокирован p53-независимыми механизмами. Ввиду этого вполне оправдано ожидать влияния дисфункции p53 на чувствительность опухолевых клеток к терапии и на прогноз выживаемости именно при агрессивных НХЛ, как и при любых других быстро делирующихся опухолях.

Дело в том, что при описанной замене в 72 кодоне гена *TP53* происходят конформационные изменения вторичной и третичной структур белка p53 за счет разрыва α -спиралей. В результате варианты белка p53, имеющие аминокислоту Arg или Pro, остаются функционально деятельными, но отличаются между собой по ряду биологических и биохимических свойств. Так, было показано, что Pro-вариант p53 активнее действует в направлении репаративных процессов ДНК.

Вместе с тем Arg- и Pro-варианты p53 участвуют в двух принципиально разных механизмах индукции апоптоза. Pro-вариант в большей степени активируется под действием физиологических сигналов, в частности, при взаимодействии цитотоксических лимфоцитов с клеткой-мишенью. В реализации второго пути в ответ на нефизиологические воздействия – повреждения ДНК, гипоксия, нехватка факторов роста – могут участвовать оба варианта, но Arg-вариант стимулирует апоптоз значительно лучше, что связано с большей его способностью проникать в митохондрии и связываться с MDM2 [12].

Ввиду этого логичным было бы ожидать ассоциации не генотипа Arg/Arg, а генотипа Pro/Pro с ухудшением прогноза безрецидивной выживаемости при агрессивных НХЛ. Результаты проведенного исследования свидетельствуют об обратном, что может быть связано со следующими причинами.

Во-первых, проапоптотический потенциал каждой из форм модулируется многими факторами, например, цитокинами.

Во-вторых, интересен следующий факт: поскольку Arg-вариант p53 имеет более выраженный проапоптотический потенциал, L.L. Hsieh

et al. предполагают, что для реализации онкогенного потенциала клетки, содержащие Arg-вариант белка p53, должны приобрести соматическую мутацию гена *TP53* [6].

В работе M. Tada et al. проводился анализ 100 образцов опухолевой ткани от пациентов с раком легкого, имеющих мутации в гене *TP53*. Было показано, что частота их выше при наличии у больного частого аллеля Arg гена *TP53* [13]. Описан феномен модулирующего влияния полиморфизма Arg72Pro на функцию белка p53 при реверсии его свойств в результате соматических мутаций. Мутантный белок p53 может связываться и ингибировать p73, который берет на себя функцию запуска запрограммированной клеточной смерти при утрате активности p53. Обнаружено, что белковый продукт мутантного гена *TP53*, кодирующий Arg в 72 кодоне 4 экзона, является более эффективным ингибитором p53-зависимого апоптоза в отличие от Pro-варианта. К сожалению, исследование мутационного статуса гена *TP53* в группе больных НХЛ нами не проводилось.

В-третьих, эффекты полиморфных вариантов потенциально зависят от конкурирующих молекулярно-генетических механизмов. Поскольку генетическая конституция человека складывается из множества взаимодействующих полиморфизмов, каждый из которых в отдельности обладает лишь весьма умеренным эффектом на фенотип опухоли, особый интерес представляет изучение комплекса имеющихся у человека генетических особенностей. Так, отмечена высокая степень сцепления между 4 экзонем и 3 и 6 интронами гена *TP53* [12], что обуславливает необходимость сочетанного анализа имеющихся в них полиморфных локусов.

Таким образом, необходимы дальнейшие исследования однонуклеотидных полиморфных вариантов гена *TP53* для установления их роли в лимфогенезе. Однако уже сейчас можно говорить о перспективности предиктивного тестирования Arg72Pro 4 экзона антионкогена *TP53* с целью выделения лиц группы риска развития рецидива заболевания, нуждающихся в оптимизации подходов полихимиотерапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Березина О.В., Вайнер А.С., Воропаева Е.Н. и др. Влияние однонуклеотидных замен в генах фолатного цикла на риск развития агрессивных неходжкинских лимфом // Сиб. мед. обозрение. 2011. (3). 22–26.
2. Воропаева Е.Н., Скворцова Н.В., Воевода М.И., Тарновский П.В. Клиническое значение делеции гена *CCR5* у больных неходжкинскими

злокачественными лимфомами // Бюл. СО РАМН. 2011. (2). 26–30.

3. Пospelova T.I., Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Berezina O.V. Полиморфизм гена p53 как потенциальный маркер предрасположенности к развитию неходжкинских злокачественных лимфом // Гематол. трансфузиол. 2010. 55. (1). 11–17.

4. Cerhan J.R. Host genetics in follicular lymphoma // Best Pract. Res. Clin. Haematol. 2011. 24. (2). 121–134.

5. Havranek O., Spacek M., Hubacek P. et al. No association between the TP53 codon 72 polymorphism and risk or prognosis of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma // Leuk. Res. 2011. 35. (8). 1117–1119.

6. Hsieh L.L., Huang T.H., Chen I.H. et al. p53 polymorphisms associated with mutations in and loss of heterozygosity of the p53 gene in male oral squamous cell carcinomas in Taiwan // Br. J. Cancer. 2005. 92. (1). 30–35.

7. Kim H.N., Yu L., Kim N.Y. et al. Association with TP53 codon 72 polymorphism and the risk of non-Hodgkin lymphoma // Am. J. Hematol. 2010. 85. (10). 822–824.

8. Kochethu G., Delgado J., Pepper C. et al. Two germ line polymorphisms of the tumour suppressor gene p53 may influence the biology of chronic lymphocytic leukaemia // Leuk. Res. 2006. 30. (9). 1113–1118.

9. Lahiri O., Harris S., Packham G., Howell M. p53 pathway gene single nucleotide polymorphisms

and chronic lymphocytic leukemia // Cancer Genet. Cytogenet. 2007. 179. (1). 36–44.

10. Majid A., Richards T., Dusanj P. et al. TP53 codon 72 polymorphism in patients with chronic lymphocytic leukaemia: identification of a subgroup with mutated IGHV genes and poor clinical outcome // Br. J. Haematol. 2011. 153. 529–540.

11. Mitra S., Misra C., Singh R.K. et al. Association of specific genotype and haplotype of p53 gene with cervical cancer in India // J. Clin. Pathol. 2005. 58. 26–31.

12. Sturm I., Bosanquet A.G., Hummel M. et al. TP53 codon 72 polymorphic variants of p53 are not related to drug resistance and disease prognosis // BMC Cancer. 2005. 5. 105.

13. Tada M., Furuuchi K., Kaneda M. et al. Inactivate the remaining p53 allele or the alternate p73? Preferential selection of the Arg72 polymorphism in cancers with recessive p53 mutants but not transdominant mutants // Cancerogenesis. 2001. 22. (3). 515–517.

14. Weiner A.S., Beresina O.V., Voronina E.N. et al. Polymorphisms in folate-metabolizing genes and risk of non-Hodgkin's lymphoma // Leuk. Res. 2011. 35. 508–515.

15. Wrench D., Waters R., Carlotti E. et al. Clinical relevance of MDM2 SNP 309 and TP53 Arg72Pro in follicular lymphoma // Haematol. 2009. 94. (1). 148–150.

PREDICTIVE IMPORTANCE OF TESTING OF POLYMORPHIC LOCI ARG72PRO EXON 4 ANTIONCOGENE TP53 IN PATIENTS WITH NON-HODGKING LYMPHOMAS

Elena Nikolaevna VOROPAeva¹, Ol'ga Valer'evna BEREZINA², Viktor Sergeevich OVCHINNIKOV², Mikhail Ivanovich VOEVODA¹, Tatyana Ivanovna POSPELOVA²

¹ Institute of Internal Medicine SB RAMS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/12

² Novosibirsk State Medical University Minzdrava Russia
630009, Novosibirsk, Krasnyi av., 52

The frequency of Arg72Pro exon 4 antioncogene TP53 genotypes, as well as their association with the 5-year survival in patients with aggressive and indolent non-Hodgkin's lymphoma (NHL) variants was studied. The statistically significant ($p = 0.040$) reduction in disease-free survival in patients with aggressive NHL and the Arg/Arg genotype (25 %) when compared with Arg/Pro and Pro/Pro patients (68,8 %) has been revealed. Thus, the testing of single nucleotide polymorphism Arg72Pro in exon 4 gene TP53 may have a predictive importance for prognosis of survival of patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma.

Key words: non-Hodgkin's lymphoma, genetic polymorphism, TP53, prognosis, survival.

Voropaeva E.N. – candidate of medical sciences, researcher of laboratory for molecular genetic researches of therapeutic diseases

Berezina O.V. – assistant of the chair for therapy, hematology and blood transfusiology, e-mail: ovberezina@mail.ru

Ovchinnikov V.S. – clinical resident of the chair for therapy, hematology and blood transfusiology, post_gem@mail.ru

Voevoda M.I. – corresponding member of RAMS, director

Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

УДК 615.15–006.04:616-018.74

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ДИФFUЗНЫМИ В-КРУПНОКЛЕТОЧНЫМИ ЛИМФОМАМИ**Владимир Дмитриевич КОПТЕВ¹, Дондок Дамдинович ЦЫРЕНДОРЖИЕВ^{2,3},
Наталья Валерьевна СКВОРЦОВА², Ольга Борисовна СЕРЕГИНА²,
Юлия Владимировна ДОЛГУШИНА²**¹ ФГБОУ ВПО Новосибирский государственный университет
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2² ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52³ ФГБУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

Проведено исследование функционального состояния эндотелия сосудов, а также сывороточного уровня TNF- α и IL-4 у 30 больных диффузными В-крупноклеточными лимфомами (ДВККЛ) до и после полихимиотерапии (ПХТ). В сыворотке крови больных ДВККЛ до ПХТ выявлено преобладание факторов вазоконстрикции (фактора Виллебранда и эндотелина-1) над стабильными метаболитами вазодилататора оксида азота, а также провоспалительного цитокина TNF- α над IL-4, что свидетельствует о наличии цитокинового дисбаланса и эндотелиальной дисфункции уже в дебюте развития заболевания. После курсов ПХТ содержание фактора Виллебранда и эндотелина-1, а также TNF- α и IL-4 в сыворотке крови больных снижалось, а оксида азота – повышалось, при этом не достигая уровня соответствующих факторов и медиаторов у здоровых доноров. Результаты исследования свидетельствуют о формировании эндотелиальной дисфункции при ДВККЛ, требующей проведения дальнейших реабилитационных мероприятий для улучшения качества жизни больных.

Ключевые слова: диффузные В-крупноклеточные лимфомы, эндотелиальная дисфункция, эндотелин-1, оксид азота, фактор фон Виллебранда, провоспалительные и противовоспалительные цитокины.

В последние десятилетия заболеваемость гемобластозами продолжает неуклонно возрастать [6, 8]. Последние достижения клинической онкологии позволили увеличить количество и продолжительность ремиссий, а также повысить качество жизни больных гемобластозами [18, 21]. Существенные прорывы в онкогематологии связаны как с улучшением диагностики опухолей крови на основании молекулярно-биологических методов верификации опухолевых клонов, так и с широким внедрением в повседневную практику высокоспециализированных многокомпонентных схем полихимиотерапии (ПХТ) [14]. Вместе с тем отсутствие строгой селективности цитостатических препаратов определяет их токсическое действие на нормаль-

ные быстропролиферирующие ткани организма, в том числе на эндотелий сосудов [15].

В научной литературе достаточно широко представлены данные о структурных и функциональных изменениях эндотелия сосудов при таких патологических процессах, как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, инсульт, сахарный диабет, ревматоидный артрит, гестозы, синдром Рейно, системные васкулиты и др. [1, 7, 9, 16, 17, 19]. Однако мы не встретили работ, посвященных исследованию функционального состояния эндотелия при гемобластозах, в частности, при таких распространенных заболеваниях, как лимфома Ходжкина и неходжкинские злокачественные лимфомы.

Коптев В.Д. – доцент кафедры, e-mail: post_gem@mail.ru

Цырендоржиев Д.Д. – д.м.н., проф.

Скворцова Н.В. – к.м.н., e-mail: nata_sk78@mail.ru

Серегина О.Б. – аспирант

Долгушина Ю.В. – аспирант

Эндотелиальная дисфункция – это сложный процесс, в механизме развития которого участвует множество факторов, нарушающих баланс в системе регуляции тонуса сосудов. Как известно, опухолевые заболевания сопровождаются развитием синдрома эндогенной интоксикации, которая приводит к нарушениям микро- и макроциркуляции, водно-электролитного обмена, кислотно-щелочного равновесия, структурным и ультраструктурным изменениям в клетках органов и тканей [10].

В литературе имеется большое количество работ, посвященных проблеме дестабилизации лизосомальных мембран при онкопроцессах, сопровождаемой увеличением содержания ферментов в крови, под действием которых образуется большое количество биологически активных веществ, в том числе и вазоактивные вещества, способные повреждать эндотелий сосудов и повышать их проницаемость [23]. Наряду с этим в развитии эндотелиальной дисфункции при гемобластозах ключевую роль могут играть про- и противовоспалительные цитокины, поскольку они обладают регуляторным действием на эндотелий сосудов. Многие авторы считают, что усиление эндогенной продукции цитокинов является важным патогенетическим звеном онкологических заболеваний, однако их роль в развитии опухолевого процесса различна. Например, умеренное повышение содержания IL-1 β и TNF- α многими авторами рассматривается как проявление активации противоопухолевого иммунитета и апоптоза [4], однако чрезмерно высокая эндогенная продукция цитокина, в частности TNF- α , не только не способствует регрессу опухоли, но и служит фактором промоции последней [11, 24]. В высоких концентрациях TNF- α проявляет свои иммуносупрессивные свойства, оказывает системное воздействие на организм с развитием интоксикационного синдрома и может усиливать цитотоксические эффекты химиотерапии в отношении нормальных тканей за счет выброса свободных кислородных радикалов с развитием окислительного стресса [2, 20].

Целью настоящей работы являлось исследование функционального состояния эндотелия сосудов, а также уровней про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови у больных диффузными В-крупноклеточными лимфомами до и после проведения курсов полихимиотерапии и установление их патогенетической роли в развитии эндотелиальной дисфункции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Всего обследовано 30 пациентов с диффузными В-крупноклеточными лимфомами в воз-
БЮЛЛЕТЕНЬ СО РАМН, ТОМ 33, № 1, 2013

расте от 20 до 55 лет, лечившихся в Городском гематологическом центре г. Новосибирска и в специализированном гематологическом отделении МУЗ Городская клиническая больница № 2. Больные были разделены на 2 группы: в I группу вошли 15 пациентов с впервые установленным диагнозом ДВККЛ до начала ПХТ, во II – 15 больных после проведения 2–6 курсов стандартной ПХТ (R-СНОР, R-СНОЕР, DНAP), включавшей кардио-, гепато-, нейро-, нефро- и гастротоксичные препараты.

В контрольную группу были отобраны 28 практически здоровых доноров обоего пола в возрасте от 22 до 57 лет.

Обязательный комплекс обследования больных включал сбор жалоб, анамнеза, стандартные лабораторные и инструментальные методы исследования, проведение компьютерной или магниторезонансной томографии органов грудной клетки и брюшной полости. Диагноз заболевания выставлялся на основании данных миелограммы, трепанобиопсии, гистологического исследования биоптата лимфоузла с иммуногистохимической или иммуноцитохимической верификацией опухоли с использованием стандартной панели моноклональных антител против дифференцировочных антигенов гемопоэтических клеток.

Помимо обязательного комплекса обследований, всем больным в сыворотке крови определяли содержание эндотелина-1 (ET-1) с использованием иммуноферментного набора для количественного определения эндотелина 1 в биологических жидкостях («Biomedica Medizinprodukte», Австрия), оксида азота (NO) по измерению содержания его стабильных метаболитов нитратов/нитритов (NO₃⁻/NO₂⁻) с использованием реактива Грисса и фактора Виллебранда (vWF) фотоэлектроколориметрическим методом [3], а также уровень цитокинов (TNF- α и IL-4) с помощью набора реагентов ProCon TNF- α , ProCon IL-4 (производство ООО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург). При определении содержания интерлейкинов использовали твердофазный иммуноферментный метод с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. Анализ проводили с неразбавленными образцами сыворотки крови больных, замороженными при температуре –20 °С. Непосредственно перед анализом образцы размораживали посредством тепловой обработки в водяной бане при температуре 37 °С, чтобы предотвратить осаждение фибриногена.

Для каждого пациента рассчитывали индексы ET-1/NO и vWF/NO, представляющие собой

отношение абсолютных величин содержания соответствующих факторов, выражали их в условных единицах (усл. ед.) и сравнивали с соответствующими значениями в контрольной группе. Для сравнительной характеристики величины дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов аналогичным образом рассчитывали индекс TNF- α /IL-4.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью лицензированного пакета компьютерных программ «Statistica 8.0» [5]. Распределение количественных данных оценивали по критерию Шапиро–Уилка. Для сравнения количественных показателей с нормальным распределением применяли *t*-критерий Стьюдента, а при их распределении, отличном от нормального, – непараметрические критерии Манна–Уитни, Колмогорова–Смирнова. Для сравнения двух зависимых групп использовали непараметрический критерий Вилкоксона. Корреляционный анализ данных проводили по Спирмену. Различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что в сыворотке крови больных ДВККЛ до начала лечения наблюдается значительное повышение содержания ET-1 и vWF, обладающих выраженным вазоконстрикторным действием. Так, в сыворотке крови пациентов I группы содержание ET-1 было в 14,1 раза, а vWF – в 2,2 раза выше, чем в сыворотке крови лиц контрольной группы. В то же время концентрация стабильных метаболитов оксида азота NO₃⁻/NO₂⁻, факторов с вазодилаторными свойствами, у этих больных,

напротив, была снижена в 2,6 раза (таблица). После курса ПХТ в сыворотке крови пациентов наблюдается уменьшение концентрации ET-1 и vWF в сочетании с увеличением содержания NO₃⁻/NO₂⁻. Так, содержание ET-1 в сыворотке крови больных после курса ПХТ снизилось в 2,7 раза, но было все еще в 5,3 раза выше, чем в контроле. Подобная картина наблюдалась и при определении содержания vWF. В этом случае после ПХТ содержание vWF в сыворотке крови больных снизилось в 1,6 раза, оставаясь, как и ET-1, на высоком уровне и будучи больше контрольных значений в 1,4 раза. Концентрация NO₃⁻/NO₂⁻ в сыворотке крови больных после ПХТ возросла в 1,8 раза, но не достигла уровня контрольных величин (см. таблицу). При этом стоит отметить, что прямой зависимости изменения уровня определяемых факторов от числа курсов ПХТ нами не было выявлено. В то же время замечено, что самое значимое изменение их уровня наблюдается после двух курсов ПХТ.

Корреляционный анализ данных у больных I группы выявил сильную прямую зависимость между содержанием в сыворотке крови вазоконстрикторов ET-1 и vWF ($r = +0,94$, $p < 0,05$). В то же время между концентрацией факторов констрикции (ET-1 и vWF) и дилатации (NO) обнаружены сильные обратные связи, соответственно $r = -0,96$ и $r = -0,98$ ($p < 0,05$). У больных II группы после ПХТ отмечается незначительное ослабление корреляции между содержанием ET-1 и vWF ($r = +0,85$), vWF и NO ($r = -0,85$), а между концентрацией ET-1 и NO – сохраняется ($r = -0,97$) ($p < 0,05$).

Для оценки соотношения вазодилатирующих, антитромбогенных, антипролиферативных факторов, с одной стороны, (NO) и вазоконс-

Таблица

Показатели функционального состояния эндотелия сосудов и цитокинового статуса больных ДВККЛ до и после полихимиотерапии (M \pm m)

Показатель	Больные до начала ПХТ (I группа, n = 15)	Больные после курса ПХТ (II группа, n = 15)	Контрольная группа (n = 28)
Содержание ET-1, фмоль/мл	4,23 \pm 0,20**	1,58 \pm 0,08**,#	0,30 \pm 0,01
Содержание vWF, %	211,57 \pm 4,20**	135,68 \pm 2,60**,#	96,38 \pm 1,20
Содержание NO ₃ ⁻ /NO ₂ ⁻ , мкмоль/мл	5,07 \pm 0,22**	9,08 \pm 0,39**,#	13,22 \pm 0,42
ET-1/NO, усл. ед.	0,88 \pm 0,08**	0,17 \pm 0,01**,#	0,02 \pm 0,01
vWF/NO, усл. ед.	27,79 \pm 1,69**	24,23 \pm 1,56**,#	7,50 \pm 0,26
Содержание TNF- α , пг/мл	282,22 \pm 17,88**	123,05 \pm 6,71**,#	47,12 \pm 1,68
Содержание IL-4, пг/мл	63,53 \pm 3,25**	78,43 \pm 4,25**,#	33,23 \pm 1,11
TNF- α /IL-4	4,84 \pm 0,59**	1,66 \pm 0,04*,#	1,51 \pm 0,05

Примечание. Отличие от величины соответствующего показателя лиц контрольной группы статистически значимо: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,001$; # – отличие от величины соответствующего показателя больных до курса ПХТ статистически значимо при $p < 0,001$.

трикторных, протромбогенных, пролиферативных (вызывающих ремоделирование сосуда) – с другой (ET-1, vWF), рассчитывали соответствующие индексы (см. таблицу). До начала проведения ПХТ величины соотношений ET-1/NO и vWF/NO у больных ДВККЛ значительно превышали соответствующие показатели у лиц контрольной группы. Так, индекс ET-1/NO у этих пациентов был в 44 раза выше, чем в группе контроля, а vWF/NO – в 3,7 раза. После ПХТ значения индексов ET-1/NO и vWF/NO снижались соответственно в 5,2 и 1,2 раза по сравнению с величинами соответствующих показателей больных I группы, в то же время оставаясь выше контрольных цифр.

Высокие величины индексов ET-1/NO и vWF/NO свидетельствуют о преобладании вазоконстрикторных факторов над вазодилаторными. С учетом того, что функциональное состояние эндотелия сосудов и/или его тонус зависят от регуляторных медиаторов NO, vWF и эндотелинов, в настоящее время сформировалось представление об эндотелиальной дисфункции, под которой понимают нарушение баланса между этими факторами с преобладанием влияния вазоконстрикторов [22]. Таким образом, у больных ДВККЛ развивается эндотелиальная дисфункция, которая характеризуется увеличением концентрации вазоконстрикторных медиаторов на фоне снижения уровня вазодилаторов.

С целью уточнения патогенетических механизмов развития эндотелиальной дисфункции в работе оценивали уровень про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных ДВККЛ. При анализе содержания цитокинов в сыворотке крови больных до начала противоопухолевой терапии выявлено достоверное увеличение концентрации как TNF- α , так и IL-4 (в 6 и 1,9 раза соответственно, см. таблицу).

Следует отметить, что у пациентов данной группы, несмотря на одновременное увеличение содержания разнонаправленных цитокинов, наблюдается преобладание провоспалительного цитокина TNF- α над противовоспалительным IL-4, что свидетельствует о наличии цитокинового дисбаланса в пользу преобладания провоспалительных уже в дебюте развития заболевания у пациентов с лимфомами.

Полученные данные также подтверждают достоверным увеличением индекса TNF- α /IL-4 (в 3,2 раза) по сравнению с контролем (см. таблицу). Выявленные изменения, скорее всего, связаны с аутоагрессивным системным воздействием провоспалительных цитокинов в ответ на опухолевую интоксикацию, которое приводит к циркуляторным расстройствам, ишемии орга-

нов и тканей, повреждению их нейтрофилами, активации прокоагулянтной активности крови и индукции апоптоза в тканях различных органов, что, в свою очередь, сопровождается дополнительной антигенной стимуляцией макрофагов и нейтрофилов и выработкой дополнительного количества медиаторов воспаления, которые могут оказывать повреждающее воздействие на эндотелий сосудов и приводить к развитию эндотелиальной дисфункции.

Проведение ПХТ у пациентов с лимфомами сопровождалось достоверным снижением уровня провоспалительного цитокина TNF- α (в 2,3 раза) и увеличением содержания противовоспалительного IL-4 (в 1,9 раза) по сравнению с пациентами первой группы (при этом индекс TNF- α /IL-4 уменьшался в 2,9 раза) (см. таблицу), что указывает на снижение выраженности цитокинового дисбаланса на фоне изменения объема опухолевой массы и выраженности интоксикационного синдрома, а также активацию компенсаторных механизмов организма, направленных на репарационные процессы в поврежденных тканях и органах.

Особо следует отметить, что, несмотря на проведенное лечение, у большинства обследованных пациентов полной нормализации цитокинового статуса не произошло (см. таблицу), что, с одной стороны, может быть связано с узким диапазоном терапевтического действия и агрессивностью применяемых противоопухолевых препаратов, а с другой – с тканевой гипоксией и дистрофическими изменениями различных органов и тканей на фоне ПХТ. Учитывая системное влияние цитокинов на организм, увеличение уровня провоспалительных цитокинов в дебюте заболевания у пациентов с ДВККЛ, вероятно, способствует развитию у них эндотелиальной дисфункции.

Снижение содержания vWF и ET-1 и повышение концентрации стабильных метаболитов NO в сыворотке крови больных после курсов ПХТ, вероятно, связано с ослаблением эндогенной интоксикации и снижением продукции провоспалительных цитокинов. Известно, что опухолевые клетки сами являются активными продуцентами цитокинов [13]. Отсюда уменьшение объема опухолевой ткани после курсов ПХТ, что способствует сокращению плацдарма выработки цитокинов и, соответственно, снижению их действия на эндотелий сосудов, приводя к ослаблению выраженности эндотелиальной дисфункции.

Таким образом, можно предположить, что в механизмах развития ЭД при ДВККЛ важную роль играет эндогенная интоксикация, которая

сопровождает эти заболевания на всех этапах развития [15], а также влияние про- и противовоспалительных цитокинов. После курсов ПХТ содержание vWF и ET-1 в сыворотке крови больных снижалось, а стабильных метаболитов NO – повышалось, хотя и не достигало нормальных значений, что свидетельствует о сохранении ЭД, требующей проведения дальнейших реабилитационных мероприятий для улучшения качества жизни больных ДВККЛ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Амосова Е.Н., Яременко О.Б., Матиящук И.Г. и др. Состояние эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазорегуляции у больных системной красной волчанкой // Укр. ревматол. журн. 2008. (4). 4–9.
2. Антонов В.Г., Козлов В.К. Патогенез онкологических заболеваний: иммунные и биохимические феномены и механизмы. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии и иммунной резистентности // Цитокины и воспаление. 2004. 3. (1). 8–19.
3. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и др. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1980. 314 с.
4. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Система интерлейкинов и рак (новые аспекты взаимодействия опухоли и организма). Киев: ДИА, 2000. 224 с.
5. Боровиков В.П. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. СПб.: Питер, 2003. 688 с.
6. Вержбицкая Н.Е., Магарилл Ю.А. Сравнительная характеристика частоты некоторых видов злокачественных неходжкинских лимфом в Кемеровской области и других географических регионах // Сиб. онкол. журн. 2007.
7. Гребенникова Л.Г. Применение окклюзионного теста для оценки функции эндотелия у больных ревматоидным артритом // ИнВестРегион. 2008. (3). 60–64.
8. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2006 году // Вестн. РОНЦ. 2008. 19. (2, прил. 1). 4–152.
9. Домашенко М.А., Орлов С.В., Костырева М.В. и др. Дисфункция эндотелия при ишемических нарушениях мозгового кровообращения на фоне ИБС // Сердце. 2007. 5. (7). 376–378.
10. Дорохин К.М., Снас В.В. Патологические аспекты синдрома эндогенной интоксикации // Анестезиол. реаниматол. 1994. (1). 56–60.
11. Кадагидзе З.Г. Цитокины // Практич. онкол. 2003. 4. (3). 131–139.
12. Карева Н.П. Клинико-патогенетические аспекты механизма действия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона при осложненных химиотерапии лимфом: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Новосибирск, 2007.
13. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с.
14. Клинические рекомендации ESMO по диагностике, лечению и наблюдению при первично-диагностированной крупноклеточной неходжкинской лимфоме // Минимальные клинические рекомендации Европейского общества медицинской онкологии (ESMO). М.: РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2003. 25–27.
15. Лосева М.И., Поспелова Т.И., Солдатов Г.С. и др. Отдаленные последствия противоопухолевой терапии гемобластозов. Новосибирск: Art-Avenue, 2005. 364 с.
16. Лысенко Н.В. Эндотелин-1 и циклический гуанозинмонофосфат в плазме крови больных ревматоидным артритом, ассоциированным с синдромом Рейно // Укр. ревматол. журн. 2002. (1). 57–60.
17. Небиеридзе Д.В. Дисфункции эндотелия и ее коррекции при артериальной гипертензии // Рус. мед. журн. 2006. 14. (2). 127–131.
18. Подольцева Э.И. Особенности лечения агрессивных лимфом // Практич. онкол. 2004. 5. (3). 194–202.
19. Шилкина Н.П., Молодкина О.А., Виноградов А.А. Изменения сосудистого русла и функционального состояния эндотелия при системных васкулитах // Научно-практич. ревматология. 2007. 2. 19–23.
20. Aukrust P., Shardal A.M., Muller F. et al. Decreased levels of total and reduced glutathione in CD4 lymphocytes in common variable immunodeficiency are associated with activation of the tumor necrosis factor system: possible immunopathogenetic role of oxidative stress // Blood. 1995. 86. 1383–1391.
21. Hennessy B.T., Hanrahan E.O., Daly P.A. Non Hodgkin's lymphoma; an update // Lancet Oncol. 2004. 5. 341–353.
22. Nedeljkovic Z.S., Gokce N., Loscalzo J. Mechanisms of oxidative stress and vascular dysfunction // Postgrad. Med. J. 2003. 79. (930). 195–199.
23. Schmitt M., Mengele K., Schueren E. et al. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Pathobiology Group standard operating procedure for the preparation of human tumour tissue extracts suited for the quantitative analysis of tissue associated biomarkers // Eur. J. Cancer. 2007. 43. (5). 835–844.
24. Szlosarek P., Kellie A.C., Balkwill F.R. Tumour necrosis factor α as a tumor promoter // Eur. J. Cancer. 2006. 42. (6). 745–750.

PATHOGENETIC ASPECTS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA

**Vladimir Dmitrievich KOPTEV¹, Dondok Damdinovich TSYRENDORZHIEV^{2,3},
Nataliya Valerjevna SKVORTSOVA², Olga Borisovna SEREGINA²,
Yulia Vladimirovna DOLGUSHINA²**

¹ *Novosibirsk State University
630090, Novosibirsk, Pirogov str., 2*

² *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52*

³ *Research Institute for Clinical Immunology SB RAMS
630099, Novosibirsk, Yadrintsevskaya str., 14*

The functional state of the vascular endothelium as well as the serum level of TNF- α и IL-4 in 30 patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) before and after chemotherapy (PCT) have been investigated. The prevalence of factors vaso-constriction (von Willebrand factor and endothelin-1) over the stable metabolites of nitric oxide as well as the significant predominance of proinflammatory cytokines TNF- α over the content of IL-4 has been revealed in blood serum of patients with DLBCL before chemotherapy. It testifies to the presence of the cytokine imbalance and endothelial dysfunction already in the debut of the disease. After the course the content of PCTs Willebrand factor and endothelin-1 as well as TNF- α and IL-4 in the serum of patients decreased while the nitrogen oxide level increased, thereat these changes did not reach the level of corresponding factors and mediators in healthy donors. The findings testify to the formation of endothelial dysfunction in patients with DLBCL, requiring further rehabilitation measures to improve the quality of life of patients DLBCL.

Key words: diffuse large B-cell lymphoma, endothelial dysfunction, endothelin-1, nitrogen oxide, von Willebrand factor, proinflammatory cytokines, anti-inflammatory cytokines.

Koptev V.D. – associate professor, e-mail: post_gem@mail.ru

Tsyrendorzhiev D.D. – doctor of medical sciences, professor, senior researcher of immune stem cell biology laboratory, e-mail: tsdon@mail.ru

Skvortsova N.V. – candidate of medical sciences, assistant of the chair for therapy, hematology and transfusiology, e-mail: nata_sk78@mail.ru

Seregina O.B. – postgraduate student of the chair for therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

Dolgushina Yu.V. – postgraduate student of the chair for therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

ПОЛИМОРФИЗМ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗ M1 И T1 (GSTM1 И GSTT1) У БОЛЬНЫХ НЕХОДЖКИНСКИМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЛИМФОМАМИ

Ольга Валерьевна БЕРЕЗИНА¹, Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА¹,
Виктор Сергеевич ОВЧИННИКОВ¹, Радион Валерьевич ТАРНОВСКИЙ¹,
Максим Леонидович ФИЛИПЕНКО²

¹ ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

² ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8

Генетически обусловленные различия в активности ферментов 2-й фазы детоксикации ксенобиотиков могут опосредовать неодинаковую предрасположенность к онкологическим заболеваниям, в том числе неходжкинским злокачественным лимфомам (НХЗЛ). В настоящем исследовании была изучена связь полиморфизма глутатион-S-трансфераз M1 и T1 (GSTM1 и GSTT1) с риском развития НХЗЛ. Обнаружена ассоциация делеции в гене GSTM1 с повышением риска развития индолентных вариантов заболевания почти в 2 раза (отношение шансов 1,96, доверительный интервал 1,07–3,58, $p < 0,02$). Для агрессивных лимфом ассоциации с полиморфными локусами GSTM1 и GSTT1 не выявлено. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что гены биотрансформации ксенобиотиков GSTM1 и GSTT1 могут играть роль в патогенезе НХЗЛ.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы, агрессивные лимфомы, индолентные лимфомы, гены биотрансформации ксенобиотиков, полиморфизм.

В настоящее время не вызывает сомнений, что процесс онкогенеза заключается в патологических изменениях сначала на молекулярном, а затем на клеточном уровне, при этом предрасположенность к злокачественным новообразованиям и опухолевая прогрессия могут модифицироваться аллельными полиморфизмами генов [3, 6]. Генетический полиморфизм, вовлеченный в метаболизм канцерогенов, исследуется в качестве возможного фактора риска возникновения различных онкологических заболеваний [11, 17, 20, 24], в том числе и неходжкинских злокачественных лимфом [12, 18]. Генетически запрограммированная система биотрансформации, деградации и выведения ксенобиотиков делает каждого индивидуума уникальным в отношении его адаптационных способностей, т. е. устойчивости или чувствительности к повреждающим внешним факторам.

Глутатион-опосредованная детоксикация играет ключевую роль в обеспечении резистентности клеток к перекисному окислению липидов свободными радикалами, алкилированию белков и способствует предотвращению поломок ДНК. Глутатион-S-трансферазы (GST) также модулируют индукцию других ферментов и белков, важных для клеточных функций, таких как репарация ДНК [1]. В зависимости от типа субстрата в семействе GST выделяют подклассы α , μ , π , θ и др.; они непосредственно вовлечены во вторую фазу биотрансформации экзогенных и эндогенных ксенобиотиков и имеют широкий изоформный спектр, что определяется полиморфизмом кодирующих их генов. Генетически обусловленные различия в ферментативной активности GST опосредуют неодинаковую предрасположенность к заболеваниям, развитие которых тесно связано с факторами внешней

Березина О.В. – ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии, e-mail: ovberezina@mail.ru

Поспелова Т.И. – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии, e-mail: post_gem@mail.ru

Овчинников В.С. – клинический ординатор кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии, e-mail: post_gem@mail.ru

Тарновский Р.В. – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии, e-mail: post_gem@mail.ru

Филипенко М.Л. – к.б.н., рук. группы фармакогеномики, e-mail: tax@niboch.nsc.ru

среды [5]. Наибольший вклад в формирование соматической и онкологической патологии вносят глутатион-S-трансферазы M1 и T1, что связано с наличием делеции в кодирующих их генах, которая приводит к практически полному отсутствию синтеза белкового продукта [13, 16]. В связи с этим исследование генов глутатион-S-трансфераз M1 и T1 информативно для проведения лабораторного скрининга неоплазий и формирования групп онкологического риска и ранней диагностики заболевания. Делеционные (нулевые) аллели GSTM1 и GSTT1 широко распространены в человеческой популяции в целом [14], но их частота сильно варьирует в зависимости от этнической принадлежности, поэтому данные литературы по вопросу о роли полиморфных вариантов ДНК в онкологическом риске и опухолевой прогрессии часто противоречивы, а результаты отдельных работ обладают плохой воспроизводимостью [3], что создает невозможность механического переноса результатов, полученных зарубежными авторами для солидных опухолей, на опухоли крови. Поэтому целью нашего исследования явилось изучение полиморфных локусов GSTM1 и GSTT1 у больных неходжкинскими злокачественными лимфомами и установление их связи с риском развития заболевания в Западно-Сибирском регионе России.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Реактивы. В работе были использованы Tween 20 («Serva», США), додецилсульфат натрия, Tris base, акриламид, N,N-метиленбисакриламид, ТЕМЕД (все «ICN», США), Taq ДНК-полимераза (Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия), протеиназа К («Serva», США). Все остальные реактивы были отечественного производства и имели категорию не ниже «хч». Дезоксинуклеозидтрифосфаты (dNTP), TaqMan-зонды и олигонуклеотидные праймеры синтезированы в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

Выборки. Группу обследованных составили 146 пациентов с впервые установленным диагнозом неходжкинской злокачественной лимфомы. Средний возраст больных – $52,4 \pm 14,97$ года (18–72 лет). По полу больные распределились поровну: мужчины и женщины по 73 человека. В соответствии с классификацией ВОЗ 2008 года [19], больные НХЗЛ были разделены на группы в зависимости от иммунологической принадлежности: с В-клеточными лимфомами – 135 человек (92,5 %), с Т-клеточными – 11 пациентов (7,5 %). Агрессивные лимфомы (диф-

фузная крупноклеточная, беркиттоподобная, плеоморфная, лимфобластная, центробластная, иммунобластная, плазмобластная, анапластическая, мантийно-клеточная, фолликулярная 3-го цитологического типа) были диагностированы у 89 пациентов (61 %), а индолентные (диффузная мелкоклеточная, пролимфоцитарная, центроцитарная, лимфоплазмоцитарная, фолликулярная 1-го и 2-го цитологического типов, из клеток маргинальной зоны, MALT-лимфома) – у 57 человек (39 %). Средний возраст больных агрессивными лимфомами составил $49,4 \pm 14,2$ года, пациентов с индолентными лимфомами – $57,2 \pm 13,5$ года. Стадия заболевания определялась согласно классификации Ann Arbor (1971 г.). В обеих группах подавляющее большинство пациентов имели продвинутые (III и IV) стадии заболевания: 75 человек (84 %) в группе агрессивных НХЗЛ и 45 пациентов (79 %) в группе индолентных лимфом. Контрольная группа состояла из 177 жителей г. Новосибирска, средний возраст – $31,0 \pm 12,02$ года. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с требованиями этического комитета.

Генотипирование. ДНК выделяли из венозной крови с использованием стандартной процедуры, включающей выделение и лизис клеток крови, гидролиз белков протеиназой К, очистку ДНК экстракцией примесей фенол-хлороформом и осаждение ДНК этанолом; а также из буккального эпителия с использованием стандартной методики выделения ДНК на силике. Амплификацию специфических участков исследуемых генов проводили методом амплификации с флуоресцентной детекцией результатов в режиме реального времени. Для исключения отсутствия флуоресцентного сигнала в связи с отсутствием ДНК или ингибированием ПЦР в реакционные смеси добавляли в качестве внутреннего контроля ПЦР легкоплавкие праймеры (LTM), структуры которых приведены в табл. 1.

ПЦР проводили в стандартном буфере, содержащем следующие компоненты: 1) 10 mM Tris-HCl (pH 8,0); 2) 50 mM KCl; 3) 0,05 % Tween 20; 4) 2,4 mM MgCl₂; 5) 0,2 mM dNTP; 6) растворы праймеров (1 mM LTM + 1 mM GSTM1 или 0,5 mM LTM + 1 mM GSTT1); 7) 0,8xSYBR Green; 9) 0,5–2 нг/мкл матрицы ДНК; 10) 0,02 ед. акт. термостабильной Taq-полимеразы. Амплификацию осуществляли с помощью амплификатора iCycler iQ5 (Bio-Rad, США) с применением методики hot-старт, при этом праймеры и dNTP с помощью парафина отделяются от ДНК и Taq-полимеразы. Реакционный объем состав-

Таблица 1
Последовательности олигонуклеотидных праймеров

Название локуса	Последовательность праймеров	Длина амплифицируемого фрагмента, пар нуклеотидов	Температура отжига, °С
GSTM1	5'-GTCAAGGACAT-CATAGACGAGAA-3' 5'-CTCAGGAGA-AACTGAAGCCAAA-3'	229	66
GSTT1	5'-GCTAGTTGCT-GAAGTCCTGCTTA-3' 5'-CTTG-GCCTTCAGAAT-GACCT-3'	287	64–66
LTM	5'-TGGGTGCTAGAG-GTATAATCG-3' 5'-TTAGAGGAAGCT-GGGTAAGAG-3'	127	64–66

лял 25 мкл, каждая реакционная смесь была покрыта равным объемом минерального масла.

ПЦР для GSTM1 выполняли следующим образом: начальная денатурация 2 мин при 95 °С, далее 40 циклов при условиях: денатурация 10 с при 95 °С, отжиг праймеров 10 с при 66,0 °С, элонгация 10 с при 72 °С, регистрация флуоресцентного сигнала 10 с при 78 °С, затем 10 с при 85 °С. Для GSTT1 ПЦР проводилась следующим образом: начальная денатурация 2 мин при 95 °С, далее 10 циклов при условиях: денатурация 10 с при 95 °С, отжиг праймеров 10 с при 66 °С, элонгация 10 с при 72 °С, затем 30 циклов при условиях: денатурация 10 с при 95 °С, отжиг праймеров 10 с при 64 °С, элонгация 10 с при 72 °С, регистрация флуоресцентного сигнала 10 с при 78 °С, затем 10 с при 91 °С. Далее регистрировали кривые плавления: 60 циклов по 10 с с повышением температуры на 0,5 °С

в каждом цикле – начальная температура составила 65 °С для GSTM1 + LTM и 70 °С для GSTT1 + LTM, регистрацию флуоресцентного сигнала производили в каждом цикле. Полученные результаты интерпретировали исходя из анализа графиков накопления флуоресценции, специфичность оценивали с помощью кривой плавления. Накопление флуоресцентного сигнала прямо пропорционально накоплению фрагментов ДНК, так как используется интеркалирующий краситель SYBR Green – вещество, способное к значительному увеличению флуоресценции при связывании с двуцепочечной молекулой ДНК. При регистрации кривой плавления происходит денатурация двуцепочечных продуктов ПЦР и, соответственно, снижается уровень флуоресцентного сигнала, температура плавления составляла 78 °С для LTM, 85 °С для GSTM1 и 91 °С для GSTT1 (рисунок).

Статистическая обработка данных. Частоты встречаемости генотипов исследуемых полиморфных локусов в выборке больных НХЗЛ сравнивали с таковыми в контрольной группе. Значимость различий оценивали с помощью критерия χ^2 . В случае, если абсолютные частоты более 20 % признаков в группе не превышали 5, использовали точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Соответствие контрольной выборки равновесию Харди–Вайнберга проверяли с помощью критерия χ^2 . Для оценки величины относительного риска использовали отношение шансов (OR) с его доверительным интервалом (С.И.) при уровне доверия 95 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании была изучена роль генов второй фазы системы биотрансформации ксенобиотиков GSTM1 и GSTT1, имеющих доказанное функциональное значение, в

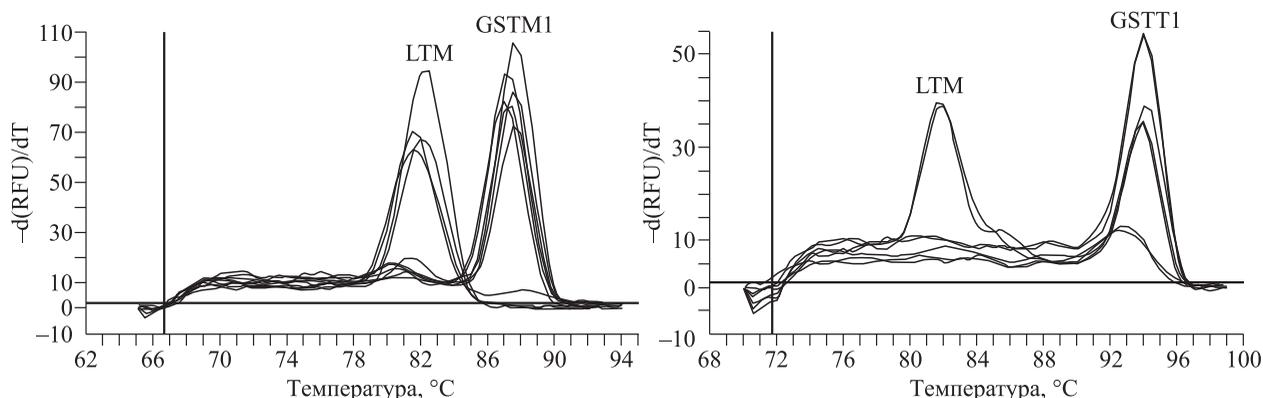


Рис. Графики производных кривых плавления продуктов ПЦР-анализа полиморфных локусов GSTM1 и GSTT1

формировании предрасположенности к развитию неходжкинских злокачественных лимфом. Делеционные генотипы глутатион-S-трансфераз M1 и T1, приводя к нарушению синтеза соответствующих ферментов, могут участвовать в повреждении ДНК и, как следствие, злокачественной трансформации путем накопления большого количества активных метаболитов, обладающих мутагенными и канцерогенными свойствами.

Были определены частоты встречаемости генотипов и их сочетаний GSTM1 и GSTT1 у пациентов с НХЗЛ и у лиц контрольной группы. Распределение частот встречаемости генотипов соответствовало закону Харди – Вайнберга в группе контроля.

Частоты генотипов с делецией в гене GSTM1 были практически одинаковы в исследуемой группе и группе контроля: 63/146 (43 %) и 70/177 (40 %) соответственно. Для гена GSTT1 наблюдалось незначительное уменьшение частоты гомозиготной делеции в группе больных НХЗЛ (36/146, 24 %) по сравнению с контролем (48/177, 27 %) и отмечена ассоциация со сниженным риском развития НХЗЛ, но различия статистически незначимы (OR = 0,88, С.И. [0,53–1,45], $p = 0,176$). Частоты совокупностей генотипов GSTM1 и GSTT1 в исследуемой группе и группе контроля также не различались.

Учитывая, что неходжкинские злокачественные лимфомы – это гетерогенная группа злокачественных лимфопрлиферативных заболеваний, была предпринята попытка оценить влияние делеции в генах GSTM1 и GSTT1 на развитие агрессивных и индолентных лимфом. Выявлена большая частота делеционного генотипа GSTM1 в группе пациентов с индолентными лимфомами по сравнению с контролем и агрессивными НХЗЛ: 32/57 (56 %), 70/177 (40 %) ($p < 0,02$) и 31/89 (34 %) ($p < 0,01$) соответственно, в то время как нормальный генотип по данному локусу, наоборот, был более редким в группе пациентов с индолентными вариантами заболевания: 25/57 (44 %), 107/177 (60 %) ($p < 0,02$) и 58/89 (66 %) ($p < 0,01$) соответственно. Разница в распределении генотипов для локуса GSTM1 позволила оценить риск развития индолентных НХЗЛ в популяции. Делеционный генотип GSTM1 ассоциируется с повышением риска развития данной группы лимфом почти в 2 раза чаще (OR = 1,96, С.И. [1,07–3,58], $p < 0,02$), соответственно дикий генотип GSTM1 обладает протективным эффектом.

Известно, что делеция в гене GSTM1 приводит к резкому снижению активности фермента, который участвует в метаболизме большого количества ксенобиотиков. В ряде исследований

показано, что дефекты ферментов второй фазы системы биотрансформации ксенобиотиков GSTM1 и GSTT1, обусловленные делециями в соответствующих генах, сопровождаются, помимо увеличения частоты мутационных процессов, такими изменениями ДНК, которые в дальнейшем не поддаются репарации, что может приводить к злокачественной трансформации [10, 21], а длительная персистенция активных метаболитов с мутагенными и канцерогенными свойствами может в дальнейшем способствовать генерализации опухоли.

Принимая во внимание полученные нами данные о неоднородности пациентов с агрессивными и индолентными вариантами НХЗЛ, были проанализированы отличия частот аллелей и генотипов изучаемых полиморфных локусов при морфологических вариантах заболевания. Из группы агрессивных НХЗЛ, с учетом наибольшей представленности, были выделены пациенты с диффузной В-крупноклеточной лимфомой ($n = 56$). Отдельному анализу также подверглись больные с другими вариантами агрессивных лимфом (Т- и В-анпластической, Т и В-лимфобластной, беркиттоподобной, мантийно-клеточной, фолликулярной 3-го цитологического типа, плеоморфной, $n = 33$), преимущественно крупноклеточными (ККЛ). Из группы индолентных НХЗЛ были выделены диффузная В-мелкоклеточная лимфома ($n = 17$) и фолликулярные лимфомы 1-го и 2-го цитологического типов ($n = 15$).

Распределение нормальных и делеционных генотипов GSTM1 и GSTT1 в группах больных агрессивными лимфомами не различалось и совпадало с популяционным. У пациентов с фолликулярными лимфомами 1-го и 2-го цитологического типов частота делеционного генотипа GSTM1 составила 10/15 (67 %), что почти в 2 раза чаще, чем у больных с агрессивными вариантами заболевания и в контроле (табл. 2). Различий в подгруппах как агрессивных, так и индолентных лимфом между собой и по сравнению с контрольной группой по полиморфному локусу GSTT1 не выявлено. Также различия в распределении сочетаний нормальных и делеционных генотипов GSTM1 и GSTT1 не достигли уровня статистической значимости. Учитывая найденные различия в частоте генотипов локуса GSTM1 у пациентов с фолликулярной лимфомой по сравнению с популяцией, была произведена оценка риска развития данного варианта НХЗЛ. Мутантный (делеционный) генотип GSTM1 обуславливает повышение риска развития фолликулярной лимфомы в 3 раза (OR = 3,06, С.И. [1,01–9,32], $p < 0,039$), тогда как

Распределение генотипов полиморфных локусов GSTM1 и GSTT1 в подгруппах агрессивных и индолентных неходжкинских злокачественных лимфом

Ген	Диффузные В-крупноклеточные лимфомы 1 n = 56 n (%)	ККЛ 2 n = 28 n (%)	Диффузные В-мелкоклеточные лимфомы 3 n = 17 n (%)	Фолликулярные лимфомы 4 n = 15 n (%)	OR [95% C.I.]	Контроль 5 n = 177 n (%)
GSTM1null	18 (32)	9 (32)	9 (53)	10 (67) $p_{4-5} < 0,039$ $p_{2-4} < 0,032$ $p_{1-4} < 0,017$	3,06 [1,01–9,32]	70 (40)
GSTM1+	38 (68)	19 (68)	8 (47)	5 (33) $p_{4-5} < 0,039$ $p_{2-4} < 0,032$ $p_{1-4} < 0,017$	0,33 [0,11–1,01]	107 (60)
GSTT1null	18 (32)	4 (14)	3 (18)	4 (27)	–	48 (27)
GSTT1+	38 (68)	25 (86)	14 (82)	11 (73)	–	129 (73)
GSTM1null/GSTTnull	8 (14)	0 (0)	0 (0)	4 (27)	–	22 (12,5)
GSTM1+/GSTT1+	28 (50)	14 (50)	3 (18)	5 (33)	–	73 (41,5)
GSTM1null/GSTT1+ и GSTM1+/GSTT1null	20 (36)	14 (50)	14 (82)	6 (40)	–	82 (46)

нормальный генотип GSTM1 обладает протективным эффектом.

Подобные результаты получены Nohaus S. et al., которые показали, что делеционный генотип GSTM1 помимо увеличения риска развития фолликулярных лимфом может модифицировать факторы, входящие в прогностические индексы FLIP1, приводя к более плохим результатам лечения у пациентов именно низкой группы риска [15]. Для ряда опухолей было выявлено увеличение частоты мутаций в гене проапоптотического белка p53 у носителей делеции в генах глутатион-S-трансфераз [8, 9, 23]. Поскольку путем апоптоза элиминируются потенциально злокачественные клетки, результатом модификации гена p53 является значительное повышение вероятности развития злокачественных опухолей. Нарушение функции p53 в результате точечных мутаций, делеций, образования комплекса с другим клеточным регулятором или изменения внутриклеточной локализации приводит к утрате супрессивных свойств белка и стимулирует опухолевый процесс. Нарушения процессов апоптоза являются ключевыми в патогенезе развития индолентных лимфом в целом и фолликулярной лимфомы в частности [3]. Было показано, что частота мутаций в гене p53 у пациентов с лимфомами меньше, чем у больных с солидными неоплазиями, но в то же время при фолликулярных лимфомах – несколько

ко больше по сравнению с другими вариантами НХЗЛ, в частности диффузной В-крупноклеточной лимфомой, и составляет до 16 % [7]. Вышесказанное может объяснять большую частоту делеционного генотипа GSTM1 именно у пациентов с фолликулярной лимфомой.

Для всех групп неходжкинских злокачественных лимфом не обнаружено влияния сочетания нормальных и делеционных генотипов на риск развития, что может быть связано с нивелированием эффектов отдельных локусов в комбинации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование выявило ассоциацию делеционного генотипа GSTM1 с увеличением риска развития индолентных НХЗЛ. Влияния полиморфного локуса GSTT1 на возникновение неходжкинских злокачественных лимфом не обнаружено. Исследование локуса GSTM1 может быть использовано как дополнительный маркер для формирования групп риска по развитию НХЗЛ и ранней диагностики данной группы неоплазий наряду с полиморфными локусами генов фолатного цикла, системы репарации ДНК, программированной клеточной смерти, хемокиновых рецепторов, роль которых в развитии НХЗЛ у жителей Западно-Сибирского региона России была показана ранее [2, 4, 7, 22].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атюкова О.Е., Пахомов А.Ю., Хандогина Е.К. Полиморфизм генов детоксикации и возможная роль отбора // Радиационная биология. Радиоэкология. 2009. 49. (5). 538–542.
2. Березина О.В., Вайнер А.С., Поспелова Т.И. и др. Ассоциация полиморфных вариантов генов фолатного цикла с риском развития индолентных и агрессивных лимфом // Бюл. СО РАМН. 2011. 31. (2). 20–25.
3. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. М.: Медицина, 2007. 1120 с.
4. Воронаева Е.Н., Скворцова Н.В., Воевода М.И., Тарновский Р.В. Клиническое значение делеции гена *CCR5* у больных неходжкинскими злокачественными лимфомами // Бюл. СО РАМН. 2011. 31. (2). 26–30.
5. Дмитриева А.И. Роль полиморфных генов системы биотрансформации ксенобиотиков и гена *p53* в патогенезе онкологических заболеваний: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Томск, 2009.
6. Мушкамбаров Н.Н. Молекулярная биология. М., 2007. 536 с.
7. Поспелова Т.И., Воронаева Е.Н., Воевода М.И., Березина О.В. Полиморфизм гена *p53* как потенциальный маркер предрасположенности к развитию неходжкинских злокачественных лимфом // Гематол. трансфузиол. 2010. 55. (1). 11–17.
8. Agodi A., Barchitta M., Cipresso R. et al. Distribution of *p53*, GST, and MTHFR polymorphisms and risk of cervical intraepithelial lesions in sicily // Int. J. Gynecol. Cancer. 2010. 20. (1). 141–146.
9. Avti P.K., Vaiphei K., Pathak C.M., Khanduja K.L. Involvement of various molecular events in cellular injury induced by smokeless tobacco // Chem. Res. Toxicol. 2010. 2. (7). 1163–1174.
10. Bellido M., Capello D., Altés A. et al. Bcl-6 *p53* mutations in lymphomas carrying the *bcl-2/Jh* rearrangement // Haematologica. 2002. 87. (9). 908–917.
11. Carlsten C., Sagoo G.S., Frodsham A.J. et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) polymorphisms and lung cancer: a literature-based systematic HuGE review and meta-analysis // Am. J. Epidemiol. 2008. 167. (7). 759–774.
12. Cho H.J., Eom H.S., Kim H.J. et al. Glutathione S-transferase genotypes influence the risk of chemotherapy-related toxicities and prognosis in Korean patients with diffuse large B-cell lymphoma // Cancer Genet. Cytogenet. 2010. 198. (1). 40–46.
13. Geisler S.A., Olshan A.F. GSTM1, GSTT1, and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a mini-HuGE review // Am. J. Epidemiol. 2001. 154. (2). 95–105.
14. Ginsberg G., Smolenski S., Hattis D. et al. Genetic Polymorphism in Glutathione Transferases (GST): Population distribution of GSTM1, T1, and P1 conjugating activity // J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev. 2009. 12. (5–6). 389–439.
15. Hohaus S., Mansueto G., Massini G. et al. Glutathione-S-transferase genotypes influence prognosis in follicular non-Hodgkin's Lymphoma // Leuk. Lymphoma. 2007. 48. (3). 564–569.
16. Landi S. Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review // Mutat. Res. 2000. 463. (3). 247–283.
17. Liu Y., Xu L.Z. Meta-analysis of association between GSTM1 gene polymorphism and cervical cancer // Asian Pac. J. Trop. Med. 2012. 5. (6). 480–484.
18. Ruiz-Cosano J., Conesa-Zamora P., González-Conejero R. et al. Role of GSTT1 and M1 null genotypes as risk factors for B-cell lymphoma: influence of geographical factors and occupational exposure // Mol. Carcinog. 2012. 51. (6). 508–513.
19. Sabbatini E., Bacci F., Sagramoso C., Pileri S.A. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues in 2008: an overview // Pathologica. 2010. 102. (3). 83–87.
20. Vijaykrishnan J., Houlston R.S. Candidate gene association studies and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia: a systematic review and meta-analysis // Haematologica. 2010. 95. (8). 1405–1414.
21. Wani M.A., Zhu Q., El-Mahdy M., Venkatachalam S., Wani A.A. Enhanced sensitivity to anti-benzo(a)pyrene-diol-epoxide DNA damage correlates with decreased global genomic repair attributable to abrogated *p53* function in human cells // Cancer Res. 2000. 60. (8). 2273–2280.
22. Weiner A.S., Beresina O.V., Voronina E.N. et al. Polymorphisms in folate-metabolizing genes and risk of non-Hodgkin's lymphoma // Leuk. Res. 2011. 35. (4). 508–515.
23. Zhang Z., Deng X., Ren X. et al. Expression of mutant *p53* and of the multidrug resistant proteins P-glycoprotein and glutathione S-transferase-pi correlated in colorectal adenocarcinoma // Scand. J. Gastroenterol. 2010. 45. (7–8). 925–934.
24. Zhu Y., He Q., Wang J., Pan H.F. The association between GSTM1 polymorphism and gastric cancer risk: a meta-analysis // Mol. Biol. Rep. 2012. 39. (1). 685–691.

GENETIC POLYMORPHISM OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASES M1 AND T1 (GSTM1 AND GSTT1) IN THE PATIENTS WITH NON-HODGKIN MALIGNANT LYMPHOMAS

Olga Valerievna BEREZINA¹, Tatyana Ivanovna POSPELOVA¹, Viktor Sergeevich OVCHINNIKOV¹, Radion Valerievich TARNOVSKY¹, Maksim Leonidovich FILIPENKO²

¹ *Novosibirsk State Medical University Minzdrava Russia
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52*

² *Research Institute for Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS
630091, Novosibirsk, Academic Lavrentiev av., 8*

Genetically determined differences in the activity of enzymes of the second phase of xenobiotic biotransformation can cause unequal predisposition to cancer, including non-Hodgkin lymphomas (NHL). The role of glutathione S-transferases M1 and T1 (GSTM1 and GSTT1) in genetic susceptibility to NHL has been analyzed in the study. The association between the deletion in the gene GSTM1 and two-fold increased risk of indolent variants of the disease (OR = 1.96; C.I. [1.07–3.581], $p < 0.02$) has been revealed. There is no association with polymorphic genes GSTM1 and GSTT1 for aggressive lymphomas. Thus, these findings provide evidence that the genes of biotransformation GSTM1 and GSTT1 may play a role in the pathogenesis of non-Hodgkin lymphomas.

Key words: aggressive non-Hodgkin's lymphoma, indolent non-Hodgkin lymphoma, genes of biotransformation, polymorphism.

Berezina O.V. – assistant of the chair for therapy, hematology and blood transfusiology, e-mail: ovberezina@mail.ru

Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

Ovchinnikov V.S. – clinical resident of the chair for therapy, hematology and blood transfusiology, post_gem@mail.ru

Tarnovsky R.V. – postgraduate student of the chair for therapy, hematology and blood transfusiology department, e-mail: post_gem@mail.ru

Filipenko M.L. – candidate of biological sciences, head of the pharmacogenomic group, e-mail: max@niboch.nsc.ru

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ИМАТИНИБА В КОМБИНАЦИИ С ЦИТОЗАРОМ И ИНТЕРФЕРОНОМ У БОЛЬНЫХ С ПЕРВИЧНО ДИАГНОСТИРОВАННЫМ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ В ХРОНИЧЕСКОЙ ФАЗЕ

Ольга Юрьевна ВИНОГРАДОВА, Анна Григорьевна ТУРКИНА,
Екатерина Юрьевна ЧЕЛЫШЕВА, Галина Анатольевна ГУСАРОВА,
Татьяна Ивановна КОЛОШЕЙНОВА, Любовь Юрьевна КОЛОСОВА,
Светлана Рудольфовна ГОРЯЧЕВА, Марина Васильевна ВАХРУШЕВА,
Нина Дмитриевна ХОРОШКО

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России
125167, Москва, Новый Зыковский пр., 4

Проблема развития резистентности к проводимой терапии – одна из актуальнейших в лечении хронического миелолейкоза сегодня. Проведено исследование возможностей предотвращения развития резистентности к иматинибу путем применения его комбинации с цитозаром у первично выявленных больных хроническим миелолейкозом либо с интерфероном-альфа – при снижении числа Ph-позитивных метафаз менее 35 %. Исследовано 14 больных в хронической фазе, у всех достигнут полный гематологический ответ, в 93 % случаев – полный цитогенетический, у 60 % пациентов – полный молекулярный, наблюдался один случай первичной и один вторичной цитогенетической резистентности. Из оставшихся 12 больных 11 пациентам отменена комбинированная терапия вследствие развития негематологической токсичности. Анализ отдаленной (через 7 лет от начала терапии) выживаемости больных, ранее участвовавших в данном исследовании, показал, что все больные живы.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, ингибиторы тирозинкиназ.

На сегодняшний день проблема развития резистентности к проводимой терапии – одна из актуальнейших в лечении хронического миелолейкоза (ХМЛ). Для профилактики и ликвидации резистентности предлагаются различные способы воздействия на опухолевые клетки, такие как повышение дозы иматиниба (в настоящее время основного препарата для терапии

ХМЛ), применение ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) 2-го поколения, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, различные экспериментальные средства. Кроме того, проводятся попытки комбинировать иматиниб с другими лекарственными препаратами (цитостатиками, иммуномодуляторами, ингибиторами белка теплового шока, сигнальных путей, других ти-

Виноградова О.Ю. – д.м.н., рук. группы медицинских регистров информационно-аналитической службы, e-mail: olgavinz@mail.ru

Туркина А.Г. – д.м.н., проф., зав. научно-консультативным отделением химиотерапии миелопролиферативных заболеваний, e-mail: turkianna@yandex.ru

Челышева Е.Ю. – к.м.н., старший научный сотрудник научно-консультативного отделения химиотерапии миелопролиферативных заболеваний, e-mail: denve@bk.ru

Гусарова Г.А. – к.м.н., старший научный сотрудник научно-консультативного отделения химиотерапии миелопролиферативных заболеваний, e-mail: galina1966@bk.ru

Колошейнова Т.И. – к.м.н., зам. заведующей научно-клинического отделения амбулаторно-поликлинической помощи

Колосова Л.Ю. – к.м.н., врач научно-клинического отделения амбулаторно-поликлинической помощи, e-mail: Lkolosva@mail.ru

Горячева С.Р. – к.м.н., врач научно-клинического отделения амбулаторно-поликлинической помощи, e-mail: svgor@blood.ru

Вахрушева М.В. – к.м.н., врач научно-клинического отделения амбулаторно-поликлинической помощи

Хорошко Н.Д. – д.м.н., проф., e-mail: khoroshko@blood.ru

розинкиназ) [6, 7, 11, 14]. «При терапии Гливексом ХМЛ ... возможно развитие лекарственной резистентности к терапии... будущее Гливека связано именно с его применением в комбинированной терапии (Dr. David Parkinson, SCRIPT – World Pharmaceutical News, ASH, Filed 10 December, 2002)» – таково мнение многих исследователей и сегодня.

В данной работе будет рассмотрена возможность предотвращения развития резистентности к терапии ХМЛ посредством сочетания иматиниба с цитозаром и интерфероном-альфа (ИФН).

Эффект ИФН при ХМЛ связывают с антипролиферативным воздействием на опухолевые клетки (вследствие угнетения ростовых генов), иммунной модуляцией, индуцированием апоптоза, нормализацией адгезии миелоидных предшественников к строме. Обладая иммуномодулирующим действием, ИФН увеличивает эффективность всех клеточных иммунных эффекторов, обладающих способностью уничтожать опухолевые клетки (Т-лимфоциты, природные киллеры, моноциты, макрофаги), влиять на продукцию иммуноглобулинов, подавлять функцию Т-супрессоров [13]. До появления ИТК применение ИФН позволило добиться не только гематологической ремиссии, но и у ряда больных (10–15 %) – цитогенетической, в единичных случаях – молекулярной ремиссии, увеличить сроки выживаемости пациентов. ИФН использовали в хронической фазе и фазе акселерации ХМЛ в качестве монотерапии, а также в комбинации с цитостатическими препаратами. До появления ИТК результаты монотерапии ИФН превосходили таковые при химиотерапии, а дальнейшие комбинации ИФН с цитозаром позволили получить большее число полных цитогенетических ответов (ПЦО) при сохранении тех же, что и при монотерапии, сроков выживаемости. Десятилетняя выживаемость пациентов, получающих интерферон, – 27–53 %, у больных с ПЦО – 65–80 %, среди них в группе прогностически низкого риска (по Sokal [15]) – 90 %, в группе высокого риска – 40 % [1, 2, 5, 6, 9, 10, 16].

По данным французских авторов, у больных с длительным (не менее 2 лет) полным молекулярным ответом (ПМО), достигнутым при терапии иматинибом, при отмене препарата в 50 % случаев не было рецидивов (исследование STIM – stop imatinib). Это была группа пациентов, которые до иматиниба получали интерферонотерапию. В то же время все больные, у которых был рецидив, изначально лечились иматинибом, но никогда не получали ИФН [12]. Поэтому французская группа исследователей

Spirit Study придерживается тактики комбинированной терапии с применением ИФН, сравнительно результаты монотерапии иматинибом в дозе 400–600 мг в сутки, комбинации иматиниба в стандартной дозе с пегилированным ИФН- α -2а и комбинации стандартных доз иматиниба с малыми дозами цитозара ($n = 626$). Наилучший эффект получен при применении комбинации иматиниба с ИФН: к 12 мес. терапии у 71 % больных получили ПЦО, у 61 % – большой молекулярный ответ (БМО), т.е. уменьшение размеров опухоли до 0,1 %. В то же время при применении монотерапии иматинибом результат составил 57 и 40 % соответственно. Однако, несмотря на достигнутые успехи уже в первый год терапии, из-за развития нежелательных явлений ИФН был отменен почти у половины (46 %) пациентов [7]. Похожие результаты получились у итальянской группы исследователей, применявших для лечения хронического миелолейкоза в хронической фазе иматиниб в суточной дозе 400 мг одновременно с пегилированным ИФН- α -2в ($n = 76$): у 81 % пациентов достигнут и сохранялся в течение 5 лет ПЦО, у 80 % – БМО. Однако и в этом случае через год терапии ИФН был отменен половине (50 %) пациентов из-за развития токсичности. Через 2 года отказаться от ИФН пришлось в 87 % случаев [11]. Достаточно интересны успехи применения иматиниба в комбинации с цитозаром (голландское исследование), позволившего к году терапии добиться ПЦО у 63 %, БМО – у 46 % больных [6]. Также успешно лечили комбинацией иматиниба в стандартной дозе с пегилированным ИФН в Дании, Финляндии, Норвегии, Швеции (кооперированное исследование). Терапию 114 больных начинали с назначения иматиниба, через 3 мес. лечения больных, достигших полного гематологического ответа (ПГО), рандомизировали на монотерапию иматинибом либо его комбинацию с пегилированным ИФН. Через 53 недели лечения в первой группе пациентов БМО был получен в 54 %, во второй группе – в 82 % случаев ($p = 0,002$), доказывая несомненное преимущество комбинированной терапии [14].

Попытки применения различных комбинаций иматиниба с ИФН и цитозаром продолжают, результаты исследований указывают на высокую эффективность терапии, однако далеко не все больные выдерживают лечение из-за высокой токсичности, которая появляется при применении нескольких препаратов [6, 7, 11]. Пока этот путь профилактики развития резистентности остается экспериментальным.

В ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России также было проведено исследование с использованием программной терапии ХМЛ, цель которого состояла в способствовании скорости достижения и стойкости цитогенетической и молекулярной ремиссии, увеличении сроков выживаемости больных ХМЛ. В данном исследовании использовали сочетанную терапию иматинибом с цитозаром и ИФН, учитывая, что первый обладает синергизмом с иматинибом относительно Rh-позитивного клона, что позволяет быстро снизить количество опухолевых клеток, а второй является эффективным иммуномодулирующим препаратом, воздействующим на Rh-позитивные клетки, что может быть использовано для сохранения и поддержания цитогенетической и молекулярной ремиссии.

ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И УСЛОВИЙ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включено 14 больных с впервые выявленным ХМЛ, среди которых было 4 мужчин и 10 женщин в возрасте от 21 до 52 (медиана (Me) 37) лет, с длительностью ХМЛ от момента диагностики от 0,5 до 7 (Me 1) мес, т. е. в ранней хронической фазе (менее 6 мес. от выявления заболевания). Обязательным было подтверждение диагноза морфологическим, цитогенетическим методами исследования костно-мозгового кроветворения и молекулярным

Клинико-гематологические показатели перед началом исследования

Параметр	Показатель, Me (разброс значений)
Селезенка, см. ниже реберной дуги	2 (0–20)
Печень, см. ниже реберной дуги	1 (0–10)
Показатели периферической крови:	
содержание гемоглобина, г/л	112 (99–137)
содержание тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	458 (150–897)
содержание лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	53 (16–301)
содержание бластов, %	3 (0–15)
содержание промиелоцитов и миелоцитов, %	14 (3–31)
содержание базофилов, %	2,5 (0–8)
содержание эозинофилов, %	2 (0–10)
содержание бластов костного мозга, %	1,5 (0–6,6)
Группа риска (Sokal), n (%):	
низкий	8 (54)
промежуточный	2 (13)
высокий	4 (33)

анализом периферической крови. Клинико-гематологическая характеристика больных представлена в таблице.

Большинство пациентов (54 %) относили к группе низкого риска прогрессии заболевания, 33 % – к группе высокого, остальные 13 % – промежуточного риска (критерии Sokal) [15].

Модель исследования была следующей.

I. Индукция ремиссии (иматиниб 400 мг в сутки + цитозар 10 мг 2 раза в день подкожно с 10 по 20 день каждого месяца), проводимая до достижения БЦО, после чего – переход на консолидирующее лечение. Мониторинг терапии включал клинический и биохимический анализ крови в 1-й месяц лечения еженедельно, далее – 2 раза в месяц (до и после инъекций цитозара); морфологический, цитогенетический анализ костного мозга – 1 раз в 3 мес.; молекулярно-генетический анализ крови – 1 раз в 3 мес.

II. Консолидация ремиссии (иматиниб 400 мг в сутки + ИФН: пегилированный интрон 50 мкг 1 раз в неделю / Интрон А 3 млн в день / Реаферон 3 млн в день). Лабораторный контроль терапии состоял в проведении клинического и биохимического анализа крови 1 раз в мес.; морфологического, цитогенетического анализа костного мозга – 1 раз в 6 мес.; молекулярно-генетического анализа крови – 1 раз в 3 мес.

Также в исследовании планировалась 3-я фаза – длительное поддерживающее лечение после получения 3–4 повторных анализов, подтверждающих ПМО (иматиниб 400 мг 10 дней 1 раз в мес., ИФН-альфа: пегилированный интрон 50 мкг 1 раз в неделю / Интрон А 3 млн в день / Реаферон 3 мл/день), однако данный этап по описанным ниже причинам выполнен не был.

Критериями снятия с исследования служили: гематологическая резистентность – отсутствие ПГО через 6 мес. терапии или его потеря, цитогенетическая резистентность – отсутствие БЦО через 12 мес. терапии или цитогенетический рецидив (согласно рекомендациям European LeukemiaNet 2006 года [4], в этом случае увеличивали дозу иматиниба до 600, 800 мг либо применяли ИТК 2-го поколения), а также непереносимость терапии (в этой ситуации назначали ИТК 2-го поколения).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наблюдение за больными в рамках данного исследования продолжалась от 6 до 98 мес. (Me 20).

Индукция ремиссии, целью которой было достижение ПГО и БЦО, проводилась всем 14 больным в течение 3–15 (Me 6) мес. В результате 11 (86 %) больных были переведены на кон-

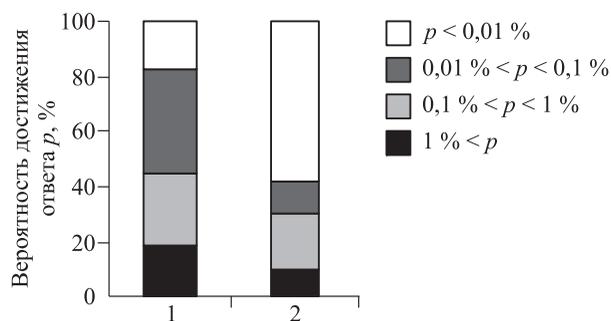


Рис. 1. Частота достижения молекулярного ответа. 1 – окончание индукции: БМО – 55 % больных; 2 – консолидация: БМО – 67 % больных

солидирующую терапию при достижении ПГО, БЦО ($n = 11$) и ПЦО ($n = 10$) (медиана времени проведения индукции составила 15 (0,5–73) мес.). Один пациент после 15 мес. применения иматиниба и цитозара снят с терапии вследствие отсутствия какого-либо цитогенетического ответа (ПГО достигнут к 3 мес. терапии), в дальнейшем у него был достигнут ПЦО и ПМО при применении монотерапии иматинибом в высоких дозах (800 мг) вне данного исследования. Еще один больной, у которого был получен ПГО и ПЦО, не смог выполнять условия протокола, и результаты его терапии не оценивались далее. Период консолидации продолжался от 0 до 73 (Ме 11) мес. (у одного из пациентов при первом введении ИФН наблюдали анафилактический шок, препарат был отменен).

ПГО к 3 мес. лечения (иматиниб и цитозар) был достигнут у всех 14 больных. БЦО был получен за 3–9 (Ме 3) мес. у 12 (93 %) больных, ПЦО – за 3–18 (Ме 6) мес. у 12 (93 %) пациентов.

Не выявлено достоверных различий между временем достижения и процентом полученных цитогенетических ответов у больных, включенных в данное исследование, и этими же показателями у пациентов в ранней хронической фазе ХМЛ, получающих монотерапию иматинибом в стандартных дозах, у последних (по сведениям базы данных ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России) ПЦО достигнут в 87 % случаев в течение 11–35 (Ме 11) мес.

Обращает на себя внимание тот факт, что у больных в группе низкого риска скорость и частота достижения БЦО и ПЦО достоверно выше ($p < 0,5$), чем в прогностически менее благоприятных группах – промежуточного и высокого риска.

У одной из пациенток на сроке 18 мес. лечения был цитогенетический рецидив, она была снята с лечения в рамках данного исследования

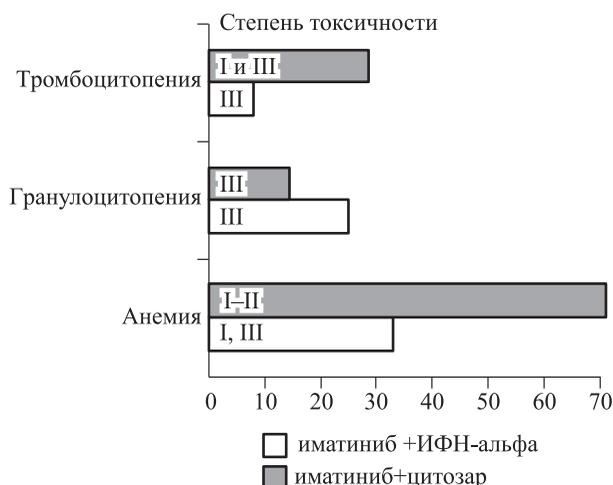


Рис. 2. Частота гематологической токсичности при применении комбинации иматиниба с цитозаром и ИФН-а

(в дальнейшем она получала терапию дазатинибом, вновь получен ПЦО, ПМО, вследствие непереносимости препарата дазатиниб был отменен, в течение 3,5 лет больная не получает какую-либо терапию, однако сохраняет ПМО).

БМО был достигнут у 10 (67 %), ПМО – у 9 (60 %) больных в течение 6–24 (Ме 12) мес. (рис. 1).

Таким образом, у всех пациентов достигнут ПГО, в 93 % случаев – ПЦО, у 60 % пациентов – ПМО. Частота и скорость достижения БЦО и ПЦО у больных в прогностически благоприятной группе риска выше. Среди 14 больных наблюдали по одному случаю первичной и вторичной цитогенетической резистентности. Случаев гематологической резистентности не наблюдалось.

Однако в процессе применения комбинированной терапии при использовании и цитозара, и ИФН имели случаи гематологической и негематологической токсичности.

Гематологическую токсичность наблюдали у 87 % больных: в 80 % случаев – I – II степени, в 33 % – III степени, токсичность IV степени не регистрировали (рис. 2). Снятия пациентов с комбинированной терапии по причине гематологических нежелательных явлений не было.

Негематологическую токсичность во время приема цитозара отмечали 73 % пациентов: 67 % – токсичность I–II степени, 13 % – токсичность III степени, токсичность IV степени отмечена не была. Основные жалобы пациентов были связаны с тошнотой, отеками, рвотой, лихорадкой.

При применении ИФН побочные явления беспокоили 92 % пациентов: 58 % – I–II сте-

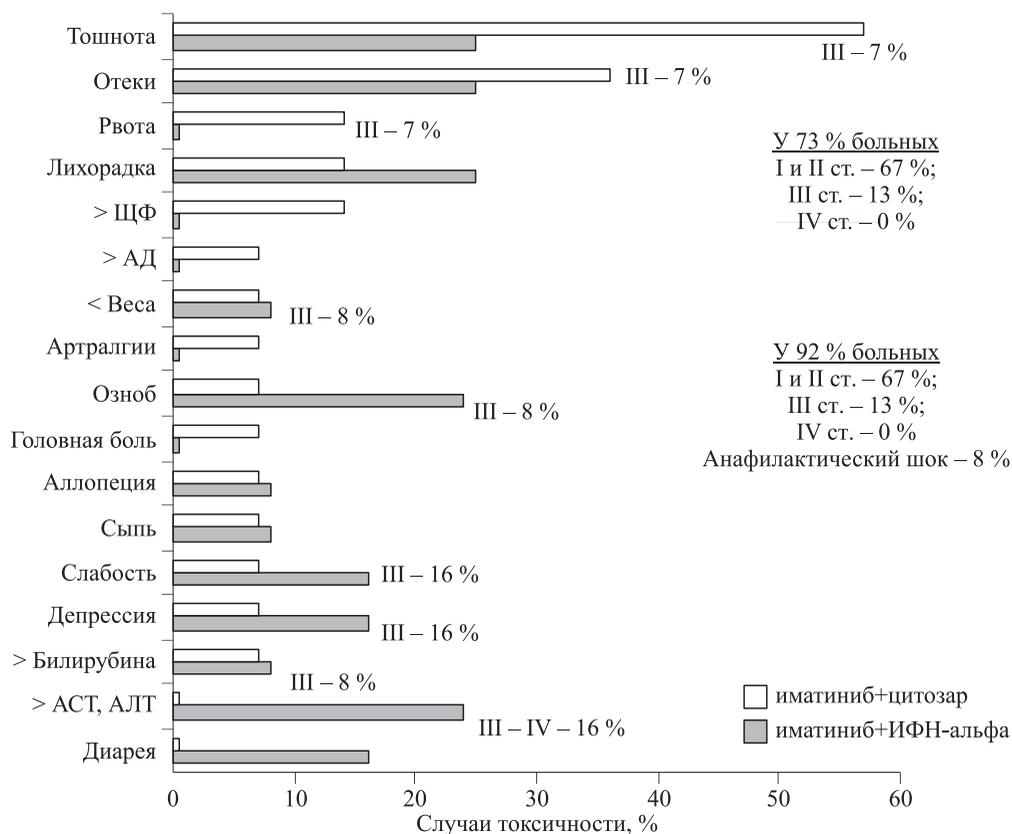


Рис. 3. Частота негематологической токсичности при применении комбинации иматиниба с цитозаром и интерфероном

пени, 25 % – III степени, 8 % – IV степени (рис. 3), у одного больного при первом введении ИФН развился тяжелый анафилактический шок, препарат был отменен, далее, при расчете частоты токсичности при применении ИФН, данный пациент не учитывался. Наиболее часто наблюдали тошноту, отеки, лихорадку, ознобы, слабость, депрессию, диарею, а также высокую частоту гепатотоксичности – у 24 % пациентов.

Вследствие некорректируемой негематологической токсичности при приеме ИФН и иматиниба 10 (92 %) пациентам был отменен ИФН: 3 – из-за гепатотоксичности, у 2 причиной отмены послужили слабость, депрессия, у 2 – гриппоподобный синдром, одному больному препарат отменили вследствие выраженных кожных высыпаний, 2 – из-за плохой переносимости при целом ряде проблем: снижении веса, аллопеции, тошноте у одного и гриппоподобном синдроме, аритмии, диареи – у другого.

Таким образом, в связи с негематологической токсичностью, развившейся при одновременном назначении иматиниба и ИФН, 10 больных были сняты с терапии по данному протоколу. Наличие гематологической токсичности, а также негематологических побочных явлений

при приеме иматиниба с цитозаром не заставило отказаться от проводимой терапии. В последнем случае, возможно, это связано с небольшой продолжительностью применения цитозара.

В результате исследования тринадцати из четырнадцати пациентам по указанным выше причинам была прервана комбинированная терапия в течение первых двух лет лечения, предполагаемый 3-й этап исследования, включающий прерывистую поддерживающую терапию, проведен не был.

Статус пациентов через 7 лет после начала исследования

Продолжает комбинированную терапию (иматиниб + ИФН) по схеме исследования только 1 пациентка (в течение 98 мес.), у которой наблюдается стойкий ПМО. Остальные больные получают монотерапию ИТК 1–2-го поколения. Одиннадцать пациентов продолжают терапию иматинибом (в стандартной дозе 400 мг в сутки – 9 больных, в высоких дозах – 600–800 мг в сутки – двое), у всех сохраняется ПЦО, у 9 – ПМО. Двое пациентов с вторичной цитогенетической резистентностью к иматинибу получали ИТК 2-го поколения: у одного (потеряла ответ

в течение данного протокола, см. выше) достигнут ПЦО, ПМО, из-за развития токсичности ИТК 2-го поколения отменен, но сохраняется ответ даже при отсутствии какой-либо терапии в течение 3,5 лет; у другого (пациент, выбывший из исследования по причине невозможности соблюдения условий протокола) – вторичная цитогенетическая резистентность к терапии ИТК 2-го поколения, сейчас получает иматиниб в дозе 800 мг, позволяющий удерживать лишь частичный гематологический ответ. На момент анализа данных все больные живы, срок наблюдения за ними с момента диагностики ХМЛ составляет 79–100 (Me 91) мес.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования на небольшой (14 человек) когорте пациентов показано, что комбинация иматиниба с химиотерапией (цитозар) для индукции ремиссии в хронической фазе ХМЛ с последующей отменой цитозара и назначением ИФН (с целью предотвращения резистентности к иматинибу) позволяет у большинства (87 %) пациентов достичь БЦО и ПЦО в оптимальные по современным критериям сроки [3]. Наиболее успешна терапия больных с прогностически благоприятной группой риска. Более чем у половины (55 %) пациентов еще в период индукции ремиссии был достигнут БМО, частота которого в дальнейшем возросла (67 % больных). Однако проводимая терапия не застраховывает от развития вторичной резистентности всех пациентов (в одном из случаев наблюдали потерю цитогенетического ответа). Кроме того, в процессе лечения было выяснено, что, подобно данным зарубежных исследователей, комбинированная терапия вызывает частые нежелательные явления (гематологическая и негематологическая токсичность в 87 и 92 % случаев соответственно), которые заставляют отказаться от сочетанного использования препаратов у подавляющего большинства больных (у 10 из 14 больных по причине негематологической токсичности). Все это предполагает невозможность длительного использования обозначенной терапевтической комбинации для профилактики развития резистентности к иматинибу, хотя, несомненно, необходимы наблюдения на большем количестве клинических случаев, возможно, с некоторой коррекцией схемы приема препаратов.

Анализ отдаленных результатов терапии ИТК в данной группе больных, показавший высокую частоту достигнутых и сохраняемых ПГО и ПЦО (кроме одного больного, не соблюдающего приверженность к лечению), БМО, 100 %

выживаемость при медианной длительности ХМЛ 91 мес., позволяет предположить, что тактика терапии, позволившая добиться раннего ПЦО и использовавшая ИФН на ранних сроках лечения, возможно, способствовала стойкости полученного ответа на терапию и увеличению продолжительности жизни больных исследуемой когорты. Учитывая, что в настоящее время исследователями обсуждается вопрос о возможном прекращении лечения иматинибом больных с многолетним стабильным ПМО, применение ИФН на ранних этапах лечения может быть одним из факторов стабильности глубокого молекулярного ответа, как это было в исследовании STIM.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Allan N.C., Richards S.M., Sheperd P.C.A. et al. UK Medical Research Council randomized multicenter trial of interferon-alfa in chronic myeloid leukemia: improved survival irrespective of cytogenetic response // *Lancet*. 1995. 345. 1392–1397.
2. Baccarani M., Russo D., Rosti G., Martinelli G. Interferon-alfa for chronic myeloid leukemia // *Semin. Hematol*. 2003. 40. 22–33.
3. Baccarani M. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European Leukemia-net // *JCO*. 2009. 27. (35). 6041–6051.
4. Baccarani M., Saglio G., Goldman J.M. et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia. Recommendations from an expert panel on behalf of the European Leukemia-net // *Blood*. 2006. 108. 1809–1820.
5. Bonifazi F., De Vivo A., Rosti G. et al. Chronic myeloid leukemia and interferon-alpha: a study of complete cytogenetic responders // *Blood*. 2001. 98. 3074–3081.
6. Deenik W., van der Holt B., Verhoef G.E.G. et al. // Dose-finding study of imatinib in combination with intravenous cytarabine: Feasibility in newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia // *Blood*. 2008. 111. 2581–2588.
7. Guilhot F., Mahon F.X., Guilhot J. et al. Randomized comparison of imatinib versus imatinib combination therapies in newly diagnosed chronic myeloid leukemia (CML) patients in chronic phase (CP): First results of the phase III (SPIRIT) trial from the French CML Group (Fl LMC) // *Blood*. 2008. 112. (74). 74.
8. Hasford J., Pffirmann M., Hehlmann R. et al. A new prognostic score for the survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa // *J. Natl. Cancer Inst*. 1998. 90. 850–858.
9. Hehlmann R., Berger U., Pffirmann M. et al. Randomized comparison of interferon α and hydroxyurea with hydroxyurea monotherapy in chronic

myeloid leukemia (CML-Study II): prolongation of survival by the combination of interferon α and hydroxyurea // *Leukemia*. 2003. 17. 1529–1537.

10. *Hehlmann R., Heimpel H., Hasford G., et al.* Randomized comparison of interferon- α with busulfan and Hydroxyurea in chronic myelogenous leukemia // *Blood*. 1994. 84. (12). 4064–4077.

11. *Palandri F., Lacobucci I., Castagnetti F., et al.* Front-line treatment of Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia with imatinib and interferon- α : 5-year outcome // 2008. 93. (5). 770–774.

12. *Rousselot P., Huguet F., Rea D. et al.* Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years // *Blood*. 2007. 109. (1). 58–60.

13. *Sacchi S., Cortes J. et al.* Effects of interferon- α therapy on lymphocyte subpopulations in

patients with chronic myeloid leukemia // *Hematol. Mol. Hematol.* 1997. 11. (1). 41–47.

14. *Simonsson B. M., Gedde-Dahl M., Markevarn et al.* Major molecular response rate at one year is higher if pegylated interferon α -2b is added to imatinib in non-HR CML leukemia patients in imatinib induced complete hematological remission // *Blood*. 2009. abstr 1110. 114. 3280.

15. *Sokal J.E.* Prognosis in chronic myeloid leukaemia: biology of the disease vs. Treatment // *Baillieres Clin. Haematol.* 1987. (1). 907–929.

16. The Italian Cooperative Study Group on Chronic Myelogenous Leukemia Interferon Alfa-2a as compared with conventional chemotherapy for the treatment of chronic myeloid leukemia // *New Engl. J. Med.* 1994. 330. 820–825.

LONG TERM RESULTS OF COMBINED TREATMENT WITH IMATINIB AND INTERFERON IN PATIENTS WITH THE NEWLY DIAGNOSED CHRONIC MYELOID LEUKEMIA IN CHRONIC PHASE

Olga Yur`evna VINOGRADOVA, Anna Grigor`evna TURKINA, Ekaterina Yur`evna CHELYSHEVA, Galina Anatol`evna GUSAROVA, Tatyana Ivanovna KOLOSHEINOVA, Lyubov Yur`evna KOLOSOVA, Svetlana Rudol`fovna GORYACHEVA, Marina Vasil`evna VAKHRUSHEVA, Nina Dmitrievna KHOROSHKO

*FSBI Hematology Research Center Minzdrava Russia
125167, Moscow, Novy Zykovsky av., 4,*

The problem of development of resistance to therapy is one of the most actual in treatment of chronic myeloid leukemia. The possibility to use the combination of imatinib and cytosine arabinoside in order to prevent the resistance to imatinib and of combination of interferon + interferon alpha in case of reduction of Ph-positive metaphases less than 35 % has been investigated. 14 patients in chronic phase have been examined. All of them achieved complete hematologic response. In 93 % of cases patients achieved complete cytogenetic response. In 60 % of cases The complete molecular response has been observed. Also there was one case of primary and one case of secondary cytogenetic resistance. In 11 of the rest 12 patients the combined therapy was stopped due to non-hematologic toxicity. The analysis of the long term survival of patients (after 7 years from the treatment start) showed that all the patients were alive.

Key words: chronic myeloid leukemia, tyrosine kinase inhibitors.

Vinogradova O.Yu. – doctor of medical sciences, head of the group of medical registries of information and analytical service, e-mail: olgavinz@mail.ru

Turkina A.G. – doctor of medical sciences, professor, head of scientific and consultative department of myeloproliferative diseases chemotherapy, e-mail: turkianna@yandex.ru

Chelysheva E.Yu. – candidate of medical sciences, senior researcher of scientific and consultative department of myeloproliferative diseases chemotherapy, e-mail: denve@bk.ru

Gusarova G.A. – candidate of medical sciences, senior researcher of scientific and consultative department of myeloproliferative diseases chemotherapy, e-mail: galina1966@bk.ru

Kolosheynova T.I. – candidate of medical sciences, deputy head of scientific and clinical department of ambulatory assistance

Kolosova L.Yu. – candidate of medical sciences, physician of scientific and clinical department of ambulatory assistance, e-mail: Lkolosva@mail.ru

Goryacheva S.R. – candidate of medical sciences, physician of scientific and clinical department of ambulatory assistance

Vakhrusheva M.V. – candidate of medical sciences, physician of scientific and clinical department of ambulatory assistance

Khoroshko N.D. – doctor of medical sciences, professor, e-mail: khoroshko@blood.ru

ПАТОГЕНЕЗ И СОВРЕМЕННАЯ ТЕРАПИЯ АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ПОЖИЛЫХ БОЛЬНЫХ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Анна Сергеевна ЛЯМКИНА¹, Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА¹,
Юлия Николаевна ОБГОЛЬЦ², Ольга Борисовна СЕРЕГИНА¹,
Татьяна Николаевна БАБАЕВА¹, Иван Борисович ВОРОТНИКОВ³

¹ ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет
Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

² МБУЗ Городская клиническая больница № 2, Городской гематологический центр
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 21

³ ГБУЗ НСО Новосибирская центральная районная больница
630501, Новосибирская область, пос. Краснообск

Цель: изучить патогенетические механизмы и современные методы коррекции анемии у пожилых больных лимфомами. **Материал и методы:** обследовано 102 пациента с Т- и В-клеточными лимфомами старше 65 лет. Пациенты имели различную соматическую патологию и анемию различной степени тяжести. Исследовался обмен железа, содержание сывороточного эритропоэтина, экспрессия рецепторов к эритропоэтину на поверхности эритрокариоцитов. Изучена эффективность применения препарата рекомбинантного человеческого эритропоэтина у больных лимфомами пожилого возраста. **Результаты:** нарушение феррокинетики исходно наблюдалось у 40,2 % больных, при этом уровень ферритина был в пределах нормы или повышен, что указывает на железоперераспределительный генез анемии. Содержание сывороточного эритропоэтина составило $22,46 \pm 24,3$ МЕ/л. У 26,1 % пациентов количество клеток, несущих рецептор к эритропоэтину, было снижено. По окончании курса лечения положительный эффект отмечен у 78,3 % обследованных, что позволило избежать гемотрансфузий.

Ключевые слова: анемия, пожилой возраст, лимфопролиферативные заболевания, эритропоэтин, рецепторы, патогенез, коррекция.

В последнее время средняя продолжительность жизни в мире значительно возросла и составляет 64 года (56–80 лет в различных странах). Согласно статистическому прогнозу, данный показатель увеличится до 73 лет к 2025 году [3, 5]. Анемия является одним из многих заболеваний, которые встречаются у лиц пожилого и старческого возраста. Чаще всего анемия у пожилых пациентов является не самостоятельной нозологической формой, а следствием различных хронических заболеваний (воспалительных, опухолевых и др.), т. е. анемией при хронических заболеваниях. Распространенность анемии в пожилом и старческом возрасте варьирует от 2,9 до 61 % у мужчин и от 3,3 до 41 % у женщин, с возрастом этот показатель достоверно возрастает [1, 7, 13, 19]. Анемия не является результатом возраста, у данной категории пациентов сохраняются все возможности репарации и эффективной регуляции костно-мозгового кроветворения [6, 9]. Развитие анемии вызывают хронические заболевания почек и печени (в

т. е. анемией при хронических заболеваниях. Распространенность анемии в пожилом и старческом возрасте варьирует от 2,9 до 61 % у мужчин и от 3,3 до 41 % у женщин, с возрастом этот показатель достоверно возрастает [1, 7, 13, 19]. Анемия не является результатом возраста, у данной категории пациентов сохраняются все возможности репарации и эффективной регуляции костно-мозгового кроветворения [6, 9]. Развитие анемии вызывают хронические заболевания почек и печени (в

Лямкина А.С. – к.м.н., ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,
e-mail: anna_lyam@mail.ru

Поспелова Т.И. – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,
e-mail: postatgem@mail.ru

Обгольц Ю.Н. – врач, e-mail: post_gem@mail.ru

Серегина О.Б. – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,
e-mail: post_gem@mail.ru

Бабаева Т.Н. – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,
e-mail: post_gem@mail.ru

Воротников И.Б. – к.м.н., врач-гематолог Новосибирского детского онкогематологического центра

22 % случаев), легочные процессы и поражение желудочно-кишечного тракта (18–19 %), эндокринные заболевания (16 %), злокачественные новообразования, геморрой и ревматоидный артрит (5–6 %) [2, 7]. У большинства пациентов сочетаются несколько нозологических форм. Анемия как заболевание системы крови (железодефицитная, В12- и фолиеводефицитная, апластическая, гемолитическая) составляет всего 6 %. Не удается установить причину анемии у 20 % больных [1, 2, 7]. При различных злокачественных новообразованиях также часто встречаются анемии, в развитии которых имеют значение два или более патогенетических механизма (перераспределение железа, дефицит железа вследствие хронических кровопотерь, гемолиз, костно-мозговая недостаточность при метастазировании). При гематологических опухолях (множественная миелома, неходжкинские лимфомы) анемия развивается у 60–80 % пожилых пациентов. При остром миелобластном, остром лимфобластном лейкозе, миелодиспластическом синдроме анемия может быть самостоятельным синдромом данного заболевания [28].

Значение умеренного анемического синдрома у больных часто недооценивается. Однако развитие анемии у пожилых сопровождается значительным ухудшением качества жизни (снижение умственной и физической активности, быстрая утомляемость, подавленное настроение), отягощает течение имеющейся патологии и создает угрозу преждевременной смерти [13], сопряжено с нарушением когнитивных функций — снижением интеллекта, памяти, концентрации внимания [14]. Низкий уровень гемоглобина способствует ухудшению оксигенации миокарда, развитию атеросклероза, нарушению обменных процессов. Очень важно, чтобы все больные с анемией получали адекватную терапию их анемического состояния, что позволяет значительно улучшить качество жизни пациентов и результаты терапии их основного заболевания [25, 26].

Патофизиология анемии при хронических заболеваниях и злокачественных новообразованиях — это взаимодействие между популяцией опухолевых клеток и иммунной системой, в результате чего происходит активация макрофагов и повышается экспрессия различных цитокинов, таких как интерфероны, фактор некроза опухоли-альфа и интерлейкин-1 β . Воздействие повышенного уровня данных цитокинов приводит к уменьшению периода жизни эритроцитов, снижению реутилизации железа костным мозгом, неадекватной продукции эритропоэтина (ЭПО), супрессии эритроидных предшествен-

ников, как следствие этого, к вторичной миелодисплазии и развитию анемии злокачественных новообразований [4, 8, 17, 21–24, 30].

В последние годы во всем мире наблюдается тенденция к сокращению переливания компонентов донорской крови для коррекции анемического синдрома в связи с возрастающей опасностью инфицирования вирусами гепатита В и С, иммунодефицита, риском развития гемосидероза паренхиматозных органов и иммунодепрессивного воздействия [15].

Целью настоящего исследования явилось изучение патогенетических механизмов и современных методов коррекции анемического синдрома у пожилых больных неходжкинскими лимфомами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 102 пациента с Т- и В-клеточными неходжкинскими лимфомами пожилого возраста (65–78 лет), госпитализированных в 2002–2012 гг. в специализированное гематологическое отделение Муниципального учреждения здравоохранения Городская клиническая больница № 2 (Городского гематологического центра) г. Новосибирска.

Все больные с лимфомами получали курсы специфической полихимиотерапии по поводу основного заболевания. Мужчин было 41 (40,2 %), женщин 61 (59,8 %).

В анализируемой группе больных наибольшее число пациентов — 87 человек (85 %) имели неходжкинские лимфомы IV стадии, 9 человек — II стадии, 6 человек — III стадии. Согласно классификации ВОЗ, агрессивные лимфомы (высокой степени злокачественности) диагностированы у 31 больного (30,4 %), индолентные лимфомы (низкой степени злокачественности) — у 71 пациента (69,6 %). Среди В-клеточных лимфом преобладала лимфоцитарная лимфома — у 21 человека (20,6 %), мелкоклеточный и смешанно-клеточный вариант фолликулярной лимфомы диагностирован у 25 человек (24,5 %), диффузная В-крупноклеточная лимфома — у 26 человек (25,5 %), экстранодальная лимфома из клеток маргинальной зоны (MALT-лимфома) — у 12 пациентов (11,8 %), лимфома из клеток мантии, нодальная лимфома из маргинальной зоны, плазмноклеточная миелома — у 18 человек (17,6 %).

Больные, включенные в исследование, получили от 3 до 8 курсов полихимиотерапии. В терапии использовались протоколы, включающие миело-, кардио-, нефро- и гепатотоксические препараты: при индолентных НХЛ

(НСЗ) – (R)COP, (R)CHOP, при агрессивных НХЛ (BC3) – (R)CHOP, (R)CHOEP, (R)DHAP.

Все пациенты наряду с онкогематологической патологией имели различные соматические заболевания: хронический атрофический гастрит выявлен у 18 человек (17,6 %), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки – у 14 (13,7 %), хронический панкреатит – у 19 (18,6 %), желчнокаменная болезнь, калькулезный холецистит – у 12 больных (11,8 %), ишемическая болезнь сердца – у 48 (47 %), артериальная гипертензия – у 54 пациентов (52,9 %), хронический пиелонефрит – у 46 (45,1 %), хроническая почечная недостаточность – у 16 больных (15,7 %), сахарный диабет II типа – у 8 больных (7,8 %). У всех обследованных имелось по 2 и более нозологические формы. Помимо основного заболевания, все пациенты страдали анемическим синдромом различной степени тяжести, проявляющимся как изменениями в показателях общего анализа крови, так и клинически. Анемия легкой степени тяжести (содержание гемоглобина более 90 г/л) определялась у 69 больных (67,6 %), средней степени тяжести (содержание гемоглобина 70–89 г/л) – у 26 (25,5 %), анемия тяжелой степени (содержание гемоглобина менее 70 г/л) – у 7 пациентов (6,7 %). Группу сравнения, репрезентативную по полу, возрасту и основному заболеванию, составили 56 больных лимфомами пожилого возраста без анемического синдрома.

Обязательный комплекс исследований включал стандартное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование, исследование миелограммы, трепанобиоптата, гистологическое, иммуноморфологическое исследование, компьютерную и ЯМР-томографию внутренних органов. Обследование проводилось на фоне получаемых больными курсов полихимиотерапии, до проведения заместительных гемотрансфузий. Для изучения патогенетических механизмов развития анемии у всех пациентов проводились специальные методы исследования: оценка обмена железа (содержание сывороточного железа, общая железосвязывающая способность сыворотки (ОЖСС), коэффициент насыщения трансферрина (КНТ), уровень сывороточного ферритина), гемограммы, миелограммы в динамике, содержание витамина В12 и фолиевой кислоты, определение уровня сывороточного эритропоэтина (с-ЭПО), экспрессии рецепторов к эритропоэтину на поверхности эритроидных клеток костного мозга, цитокинов сыворотки крови, влияющих на гемопоэз (IL-1 β , TNF- α , IFN- γ).

Содержание эритропоэтина в сыворотке крови больных определяли с помощью ферментативно-усиленной хемилюминесценции (технология DPC (США)), являющейся модернизированным иммуноферментным методом с высокой специфичностью и чувствительностью. Анализ проводили на автоматическом пробирочном анализаторе закрытого типа «IMMULITE ONE» (DPC, США), использующего реактивы производителя прибора.

Исследование экспрессии рецепторов к эритропоэтину проводилось методом иммуноцитохимического исследования мазков костного мозга с помощью козьих моноклональных антител против рецептора к эритропоэтину («Sigma-Aldrich», США) и моноклональных анти-козьих Ig G, конъюгированных с щелочной фосфатазой («Sigma-Aldrich», США). В качестве системы визуализации использовался субстрат-хромоген («ДАКО»). Контрольную группу составили 20 клинически здоровых лиц, средний возраст $45,7 \pm 8,4$ года.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), стандартную ошибку среднего арифметического значения (σ) и представляли в виде $M \pm \sigma$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Структура жалоб пациентов представлена в таблице. В-симптомы (потливость, снижение массы тела, лихорадка), отражающие выраженность синдрома интоксикации при лимфомах, были отмечены у 51,0 % больных с анемией. Всех больных беспокоила слабость, 87,3 % человек – головокружение, повышенная утомляемость, сердцебиение. Шум в голове и одышку при незначительной физической нагрузке отмечали 61,8 % обследованных, снижение памяти и головную боль – 41,2 %, боль в области сердца – 35,3 %. Кроме того, больные предъявляли жалобы на подавленное настроение, нарушение сна, чувство перебоев в сердце, раздражительность. В группе сравнения слабость, повышенная утомляемость и сердцебиение встречались значительно реже – только у 41,1 % обследованных. Следует отметить, что если в группе больных с анемическим синдромом состояние было расценено как средней степени тяжести и тяжелое у 65 человек (63,7 %), то в группе больных без анемии этот показатель составил лишь 16,1 % (9 человек). Большая тяжесть состояния

Таблица

Частота и структура жалоб у больных лимфомами пожилого возраста с анемией (1) и без анемии (2)

Жалобы	Группа 1, n = 102		Группа 2, n = 56	
	Абсолютное значение	%	Абсолютное значение	%
Слабость	102	100	23	41,1
Головокружение, сердцебиение	89	87,3	23	41,1
Шум в голове, ушах, одышка	63	61,8	9	16,1
В-симптомы (потливость, снижение массы тела, лихорадка)	52	51,0	29	51,8
Ухудшение памяти, головная боль	42	41,25	11	19,6
Боль в области сердца	36	35,3	4	7,14

и большее количество жалоб у пожилых больных лимфомами с анемией указывает на значимость анемического синдрома в ухудшении общего состояния больных наряду с воздействием цитостатических препаратов, используемых в терапии лимфом.

Средний уровень гемоглобина на момент первичного обследования был равен 89,9 г/л, гематокрит – 27,1 %. Гипохромный характер анемии был у 26 пациентов (25,5 %), гиперхромный – у 10 (9,8 %), у остальных анемии носили характер нормохромных. Гипорегенераторный характер анемии зарегистрирован у 82 больных (80,4 %), норморегенераторный – у 20 (19,6 %), гиперрегенераторный не регистрировался.

По данным миелограммы, сужение эритроидного ростка костного мозга отмечено у 77 пациентов (75,5 %), нормальный эритроидный ряд определялся у 15 человек (14,7 %), гиперплазия эритроидов выявлена у 10 больных (9,8 %). Кроме того, у 47 больных (46,1 %) были признаки вторичной миелодисплазии (нарушение созревания гранулоцитарного ростка, гипер- и гипосегментация нейтрофилов, микро- и макроформы мегакариоцитов). Нарушения феррокинетики (снижение содержания сывороточного железа, КНТ, повышение ОЖСС) исходно наблюдались у 41 человека (40,2 %), а у 27 пациентов (26,5 %) появились в процессе терапии. При этом уровень ферритина был в пределах нормы или повышен у всех больных, что указывает на железоперераспределительный генез анемического синдрома у данной категории больных. Содержание с-ЭПО составило $22,46 \pm 24,3$ МЕ/л, что, согласно данным литературы, аномально низко для пациентов с анемическим синдромом [20]. Эффективность терапии препаратами рекомбинантного человеческого эритропоэтина (рч-ЭПО) повышается при исходно низком уровне ЭПО сыворотки крови [10, 12]. В группе сравнения сужение эритроидов костного мозга отмечено у

18 пациентов (32,1 %), нормальный эритроид определялся у 37 человек (66,1 %), гиперплазия эритроидов выявлена у одного больного (1,8 %). Нарушение феррокинетики наблюдалось у 11 человек (19,6 %). Уровень ферритина также был в пределах нормы или повышен у всех больных, что указывает на нарушение метаболизма железа. Содержание с-ЭПО в группе сравнения составило $14,32 \pm 0,97$ МЕ/л, что при нормальном уровне гемоглобина соответствует норме. Признаки дефицита витамина B_{12} и фолиевой кислоты (мегалобластный тип кроветворения в костном мозге, снижение уровня сывороточного витамина B_{12} , фолиевой кислоты, гиперхромия эритроцитов) отмечены у 10 больных. Эти пациенты получали терапию витамином B_{12} и фолиевой кислотой по 500–1000 г и 5–30 мг соответственно с положительным эффектом у всех больных. Средний уровень сывороточного витамина B_{12} и фолиевой кислоты в целом по группе составил 212,9 пг/мл и 14,7 нг/мл соответственно.

Эритропоэтин действует на эритрокариоциты костного мозга через поверхностный ЭПО-рецептор (ЭПО-Р). Чувствительность эритробластов к ЭПО является преходящей: она постепенно уменьшается с увеличением созревания, и клетки за стадией эритробластов больше не зависят от ЭПО и обнаруживают меньшее число ЭПО-Р на клетку. Ретикулоциты и эритроциты не имеют ЭПО-Р. Дефицит ЭПО-Р на поверхности эритропоэтин-чувствительных клеток может стать причиной развития анемического синдрома даже при нормальном уровне сывороточного эритропоэтина.

Исследование экспрессии рецепторов к эритропоэтину на поверхности эритропоэтин-чувствительных клеток костного мозга проведено у 23 больных с анемическим синдромом: у 18 пациентов (78,3 %) с лимфомами низкой степени злокачественности и у 5 (21,7 %) с аг-

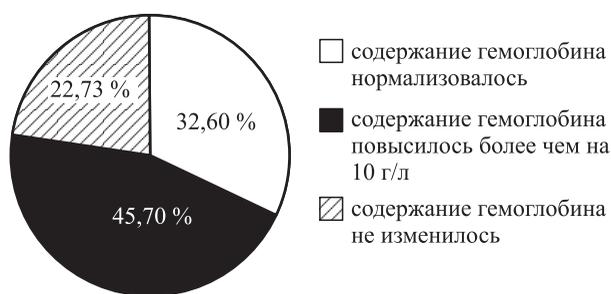


Рис. Эффективность терапии анемического синдрома препаратом рекомбинантного человеческого эритропоэтина у больных лимфопролиферативными заболеваниями пожилого возраста

рессивными. Среднее количество ЭПО-Р-положительных (ЭПО-Р+) клеток в костном мозге составило $22,2 \pm 4,23$ % при среднем количестве эритрокариоцитов костного мозга $24,1 \pm 4,06$ %. Количество ЭПО-Р+ клеток ($26,4 \pm 4,81$ %) соответствовало числу эритрокариоцитов костного мозга ($26,4 \pm 4,75$ %) лишь у 17 человек из 23 (73,9 %), у 6 пациентов (26,1 %) оно было значительно снижено ($10,2 \pm 3,93$ % и $17,7 \pm 4,26$ % соответственно) ($p < 0,0001$). При этом у 2 больных из 6 уровень с-ЭПО был нормальным, у одной больной – значительно повышенным (880 МЕ/л), а у 3 – снижен. Таким образом, полученные нами данные указывают на то, что у 1/4 больных лимфомами с анемическим синдромом одной из причин развития анемии является уменьшение экспрессии рецепторов к эритропоэтину на поверхности эритроидных клеток костного мозга. Это может обуславливать резистентность эритрокариоцитов костного мозга к эндогенному эритропоэтину и неэффективность терапии препаратами рекомбинантного человеческого эритропоэтина.

Нами была изучена эффективность применения препарата рч-ЭПО у больных лимфомами пожилого возраста с анемическим синдромом (92 человека). Пациенты получали терапию препаратами рч-ЭПО (эпоэтин- α) по 8000 МЕ подкожно 3 раза в неделю в течение 4–8 недель. При наличии признаков дефицита железа исходно или через 2 недели терапии больные получали препараты железа 200 мг в сутки. Эффективность терапии оценивалась по выраженности клинического эффекта, динамике гемограммы, миелограммы. По окончании курса лечения положительный эффект отмечен у 78,3 % обследованных (72 человека из 92), при этом у 30 больных (32,6 %) зарегистрирована нормализация уровня гемоглобина и у 42 (45,7 %) – уменьшение степени тяжести анемии, что поз-

волило избежать гемотрансфузий. Среднее содержание гемоглобина возросло до 114,8 г/л, а гематокрит увеличился до 34,4 %. Отсутствовал выраженный клинический эффект через 3 месяца терапии у 20 пациентов (рисунки).

У всех больных химиотерапия была проведена в планируемые сроки, что позволило получить полную или частичную ремиссию у 63,7 % пациентов. Стабилизация процесса отмечена у 24,5 % пациентов, прогрессирование основного заболевания – у 11,8 %. Улучшение самочувствия после терапии препаратом рч-ЭПО отметили 83 обследованных (81,4 %).

Группу пациентов пожилого возраста с анемией, получающих ЭПО-терапию, сравнили с сопоставимой группой из 56 пациентов пожилого возраста с анемическим синдромом, не получающих терапию препаратами рч-ЭПО. Обнаружено, что каждому больному на фоне проводимой полихимиотерапии для уменьшения степени тяжести анемического состояния потребовалось от 2 до 16 гемотрансфузий, в среднем каждому пациенту было перелито 1870 мл эритроцитарной массы. Это сделало невозможным проведение полихимиотерапии в адекватных дозах и в рекомендуемые сроки, что привело к прогрессированию заболевания у 26 человек (46,5 %) из данной группы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Значительное количество общеанемических жалоб, более тяжелое состояние больных указывает на высокую значимость анемического синдрома в ухудшении течения основного заболевания у пожилых пациентов с лимфомами. Анемия отягощает общее состояние пациентов (в 63,7 % случаев), ограничивает проведение противоопухолевой терапии в адекватных дозах, что приводит к снижению результатов лечения и ведет к прогрессированию заболевания (у 46,5 % обследуемых).

2. Одной из ведущих причин анемии у больных неходжкинскими лимфомами является снижение синтеза эндогенного эритропоэтина, дающее возможность коррекции анемии с помощью препаратов рекомбинантного эритропоэтина, что подтверждено в наших исследованиях, представленных ранее [10]. У ряда пациентов снижение уровня гемоглобина связано с недостаточной экспрессией рецепторов к эритропоэтину на поверхности эритрокариоцитов костного мозга.

3. Рекомбинантный человеческий эритропоэтин является эффективным средством коррекции анемии при гемобластазах у лиц пожилого

возраста, позволяющим избежать трансфузий эритроцитарной массы и связанных с ними осложнений, что подтверждается целым рядом клинических исследований [10–12, 18, 27–29].

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН в рамках ГК № 16.522.11.7057.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анемия – скрытая эпидемия / Ред. В.М. Чернова. М.: МегаПро, 2004. 76 с.

2. Богданова О.М. Клинико-гематологическая характеристика гипохромных анемий у лиц пожилого и старческого возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Великий Новгород, 2003.

3. Вартанян Ф., Мкртчян С. Динамика демографической ситуации в мире // Врач. 2001. (8). 43–44.

4. Дьячкова Н.Ю., Ковынев И.Б., Воропаева Е.Н. и др. Влияние вторичной миелодисплазии на выживаемость пациентов со злокачественными лимфомами // Бюл. СО РАМН. 2011. (2). 37–40.

5. Задачи по достижению здоровья для всех. Материалы ВОЗ, сборник. Копенгаген, 2000. 238 с.

6. Козинец Г.И., Погорелов В.М. Консерватизм – стабильность кроветворения. // Клин. лаб. диагностика. 1998. (12). 21–32.

7. Кондурцев В.А., Павлова Т.В. Классификация причин анемий у пожилых больных инфарктом миокарда // Гематол. трансфузиол. 2004. (4). 35–39.

8. Павлов А.Д., Морщакова Е.Ф. Этиология и патогенез анемий при злокачественных новообразованиях // Вопр. гематол. онкол. иммунол. педиатр. 2004. 3. (1). 50–55.

9. Погорелов В.М., Козинец Г.И., Ковалева Л.Г. Лабораторно-клиническая диагностика анемий. М.: МИА, 2004. 173 с.

10. Поспелова Т.И., Лямкина А.С. Анемия при лимфомах. 2-е изд., перераб. и доп. Новосибирск: Наука, 2009. 150 с.

11. Романенко Н.А., Абдулкадыров К.М. Патогенетическая коррекция анемии эритропоэстимулирующими препаратами у больных лимфолифферативными заболеваниями (обзор литературы) // Онкогематология. 2011. 93. (3). 39–50.

12. Романенко Н.А., Беркос М.В., Бессмельцев С.С. и др. Прогностическое значение сывороточного эритропоэтина при коррекции анемии препаратами рекомбинантного эритропоэтина у пациентов с лимфолифферативными заболеваниями // Казанский мед. журн. 2012. 93. (4). 584–590.

13. Ania B.J., Suman V.J., Fairbanks V.F. et al. Incidence of anemia in older people: an epidemiologic study in a well defined population // J. Am. Geriatr. Soc. 1997. 45. 825–831.

14. Argyniadon S., Vlachonikolis J., Melisopoulon H. et al. What extent anemia coexists with cognitive impairment in elderly: a gross-sectional study in Greece // BMC Fam. Pract. 2001. 2. 5–10.

15. Barra S., Barzan L., Maione A. et al. Blood transfusion and other prognostic variables in the survival of patients with cancer of the head and neck // Laryngoscope. 1994. 104. 95–98.

16. Becker A., Stadler P., Lavey R.S. et al. Severe anemia is associated with poor tumor oxygenation in head and neck squamous cell carcinomas // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2000. 46. 459–446.

17. Begnin Y. Erythropoiesis and erythropoietin in multiply myeloma // Leuk. Lymphoma. 1995. 18. 413–421.

18. Cabanillas M.E., Kantarjian H., Thomas D.A. et al. Epoetin alpha decreases the number of erythrocyte transfusions in patients with acute lymphoblastic leukemia, lymphoblastic lymphoma, and Burkitt leukemia/lymphoma: results of a randomized clinical trial // Cancer. 2012. 118. (3). 848–855.

19. Carmel R. Anemia and aging: an overview of clinical, diagnostic and biological issues // Blood Rev. 2001. 15. 9–18.

20. Cazzola M., Mercuriali F., Brugnara C. Use of recombinant human erythropoietin outside the setting of anemia // Blood. 1997. 89. 4248–4267.

21. Ludwig H., Fritz E., Kotzmann H. et al. Erythropoietin treatment of anemia associated with multiple myeloma // N. Engl. J. Med. 1990. 322. 1693–1699.

22. Means R.T., Krants S.B. Inhibition of human erythroid colony-forming units by tumor necrosis factor requires beta interferon // J. Clin. Invest. 1993. 91. 416–419.

23. Salvazini C., Casali B., Salvo D. et al. The role of interleukin-1, erythropoietin and red cell bound immunoglobulins in the anemia of rheumatoid arthritis // Clin. Exp. Rheumatol. 1991. 9. 241–246.

24. Schooley J.C., Kulgren B., Allison A.C. Inhibition by interleukin-1 of the action of erythropoietin on erythroid precursors and its possible role in the pathogenesis of hypoplastic anaemias // Br. J. Haematol. 1987. 67. 11–17.

25. Suzuki Y., Tokuda Y., Fujiwara Y. et al. Weekly epoetin beta maintains haemoglobin levels and improves quality of life in patients with non-myeloid malignancies receiving chemotherapy // Jpn. J. Clin. Oncol. 2008. 38. (3). 214–221.

26. Truong P.T., Parhar T., Hart J. et al. Population-based analysis of the frequency of anemia and its management before and during chemotherapy in

patients with malignant lymphoma // *Am J. Clin. Oncol.* 2010. 33. (5). 465–468.

27. Tsuboi M., Ezaki K., Tobinai K. et al. Weekly administration of epoetin beta for chemotherapy-induced anemia in cancer patients: results of a multicenter, Phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study // *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2009. 39. (3). 163–168.

28. Yang S., Jun M., Hong-Li Z. et al. A multicenter open-labeled study of recombinant erythropoietin-

beta in the treatment of anemic patients with multiple myeloma, low-grade non-Hodgkin's lymphoma, or chronic lymphocytic leukemia in Chinese population // *Int. J. Hematol.* 2008. 88. (2). 139–144.

29. Zijlstra J., Sturm I., Topp M.S. et al. Epoetin alfa in patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma: results of the randomized placebo-controlled GHSG HD15EPO trial // *J. Clin. Oncol.* 2010. 28. (13). 2239–2245.

30. Zucker S. Anemia in cancer // *Cancer Invest.* 1985. 3. 249–260.

PATHOGENESIS AND MODERN THERAPY OF ANEMIA IN ELDERLY PATIENTS WITH LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASES

Anna Sergeevna LYAMKINA¹, Tatyana Ivanovna POSPELOVA¹, Yuliya Nikolaevna OBGOLTS², Olga Borisovna SEREGINA¹, Tatyana Nikolaevna BABAEVA¹, Ivan Borisovich VOROTNIKOV³

¹Novosibirsk State Medical University Minzdrava Russia
630091, Novosibirsk, Krasniy av., 52

²City Novosibirsk Municipal Hospital No. 2
630051, Novosibirsk, Polzunov str., 21

³Novosibirsk Central Regional Hospital
630501, Novosibirsk region, settlement Krasnoobsk

Aim: To study the pathological mechanisms and modern methods of correction of anemia in elderly patients with lymphomas. **Material and Methods:** 102 patients with T-and B-cell lymphomas of over-65 age have been examined. Patients had different somatic pathology and anemia of varying severity. Iron metabolisms, serum erythropoietin, erythropoietin receptor on the surface of erythrokaryocytes have been studied. The efficacy of the drug recombinant human erythropoietin for elderly patients with lymphomas has been investigated. **Results:** impaired iron metabolism at baseline was observed in 40.2 % of patients, thereat the serum ferritin levels were normal or elevated, indicating to the anemia resulting from disorders of iron metabolism. The average level of serum erythropoietin was 22.46 ± 24.3 IU/l. In 26.1 % of patients of EPO-R + cells was reduced. At the end of the treatment effect was positive in 78.3 % of patients, thus avoiding blood transfusions.

Keywords: anemia, elderly age, lymphoproliferative disease, erythropoietin receptor, the pathogenesis of anemia, anemia correction.

Lyamkina A.S. – candidate of medical sciences, assistant professor of the chair for therapy, haematology and transfusiology, e-mail: anna_lyam@mail.ru

Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for therapy, haematology and transfusiology, e-mail: postatgem@mail.ru

Obgolts Yu.N. – physician, e-mail: post_gem@mail.ru

Seregina O.B. – postgraduate student of the chair for therapy, haematology and transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

Babaeva T.N. – postgraduate student of the chair for therapy, haematology and transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

Vorotnikov I.B. – candidate of medical sciences, physician, e-mail: post_gem@mail.ru

ТАКТИКА ТЕРАПИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОЛЕЙКОЗЕ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ. КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Екатерина Юрьевна ЧЕЛЫШЕВА¹, Анна Григорьевна ТУРКИНА¹,
Евгения Сергеевна ПОЛУШКИНА², Роман Георгиевич ШМАКОВ³

¹ ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России
125167, Москва, Новый Зыковский пр., 4

² ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии
им. акад. В.И. Кулакова Минздравсоцразвития России
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4

Представлен случай успешного завершения беременности у больной с хронической фазой хронического миелолейкоза. Особенностью данного наблюдения была необходимость выбора терапии хронического миелолейкоза во время беременности. На момент диагностики беременности и при дальнейшем мониторинге у пациентки с клинико-гематологической ремиссией наблюдалось нарастание опухолевого клона, определяемое с помощью метода количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени по уровню экспрессии химерного онкогена *BCR-ABL*. Со II триместра беременности пациентка получала терапию иматинибом, что сопровождалось быстрым снижением уровня транскрипта и достижением полного молекулярного ответа при хорошей переносимости лечения. Беременность завершилась рождением здорового ребенка на сроке 37 недель. Обсуждаются подходы по тактике терапии хронического миелолейкоза во время беременности.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, беременность, иматиниб.

До последнего времени беременность была крайне редким событием у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ). Отчасти это обусловлено распространенностью заболевания преимущественно среди больных старшего возраста. Кроме того, плохой прогноз заболевания и неизбежность развития продвинутых фаз ХМЛ до применения ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) не позволяли говорить о целесообразности сохранения беременности. Однако высокие показатели длительной выживаемости (9-летняя выживаемость до 75 % у больных в поздней хронической фазе [1], до 85 % в ранней хронической фазе [2]) при терапии ИТК, возможность достижения глубокой ремиссии заболевания и хорошее качество жизни больных в настоящее время делают все более актуальным рассмотрение вопросов о сохранении беременности и планировании семьи у больных ХМЛ.

Единого унифицированного подхода к терапии ХМЛ при беременности не разработано. Каждый случай требует индивидуальных решений и тщательного мониторинга. В настоящий момент для терапии ХМЛ зарегистрированы три ИТК: иматиниб и ИТК второго поколения нилотиниб и дазатиниб. Учитывая тот факт, что лечение ИТК проводится в непрерывном режиме, следует учесть два основных риска: 1) риск воздействия ИТК на плод во время беременности; 2) риск рецидива заболевания при прерывании приема ИТК.

В большинстве представленных в литературе случаев беременность у больных ХМЛ диагностирована при терапии иматинибом; при терапии ИТК второго поколения есть единичные описания. При применении иматиниба во время беременности описаны случаи с формированием аномалий развития плода, а также за-

Челышева Е.Ю. – к.м.н., старший научный сотрудник научно-консультативного отделения миелопролиферативных заболеваний, e-mail: denve@bk.ru

Туркина А.Г. – д.м.н., проф., зав. научно-консультативным отделением миелопролиферативных заболеваний, e-mail: turkianna@yandex.ru

Полушкина Е.С. – к.м.н., научный сотрудник акушерского физиологического отделения, e-mail: epolushkina@mail.ru

Шмаков Р.Г. – д.м.н., рук. акушерского физиологического отделения, e-mail: mdshmakov@mail.ru

вершившиеся самопроизвольными выкидышами [3–5]. Поэтому в случае желая большой ХМЛ сохранить беременность, как правило, стандартной рекомендацией является прерывание терапии. Однако отсутствие лечения на период вынашивания беременности представляет собой опасность с точки зрения развития рецидива. По данным французского исследования STIM (STop IMatinib), установлено, что почти у половины больных с хронической фазой (ХФ) ХМЛ и длительным (в течение 2 лет) полным молекулярным ответом (ПМО), который характеризуется отсутствием экспрессии маркера опухолевых клеток химерного транскрипта *BCR-ABL*, при отмене лечения наблюдались молекулярные рецидивы. Вероятность сохранения ПМО в течение 12 мес. после отмены лечения составляла 41 %. Рецидивы развивались в основном в течение первых 6–7 месяцев после отмены иматиниба [6] и были обратимы при возобновлении терапии. Темпы развития дальнейшего рецидивирования ХМЛ (цитогенетический рецидив, гематологический рецидив) не описаны.

Оптимальной схемой ведения беременности с учетом этих рисков можно считать ее планирование при достижении стабильного ПМО длительностью не менее 2 лет. При этом показан перерыв в приеме ИТК на время беременности под контролем молекулярного мониторинга и возобновление лечения сразу после родоразрешения. Однако на практике в момент диагностики беременности градация ответа на терапию может быть разной: от ПМО до отсутствия клинико-гематологической ремиссии. Не решены вопросы о том, какая степень ремиссии является показанием для возобновления терапии при ХМЛ, а также какую терапию и на каких сроках возможно применять.

В данном сообщении представлен случай успешного завершения беременности у больной ХМЛ с отсутствием полной молекулярной ремиссии, особенностью которого была необходимость взвешивания рисков проведения терапии и выбора терапии во время беременности.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациентке А., 1987 г. р., в сентябре 2007 г. установлен диагноз: хронический миелолейкоз, хроническая фаза, группа промежуточного риска (Sokal score 2).

Диагноз установлен на основании клинической картины (слабость, тяжесть в левом подреберье, спленомегалия) и данных общего анализа крови. На момент установления диагноза в гемограмме: *содержание лейкоцитов*

279 × 10⁹/л, гемоглобина 110 г/л, тромбоцитов 717 × 10⁹/л, бластов 3 %, промиелоцитов 1 %, миелоцитов 27 %, юных 9 %, палочкоядерных 33 %, сегментоядерных 22 %, базофильных 2 %, эозинофильных 2 %, лимфоцитов 1 %. По данным ультразвукового исследования отмечалась *спленомегалия 21,7 × 9,6 см.* Диагноз хронического миелолейкоза подтвержден данными цитогенетического исследования: кариотип 46 XX t (9;22), Ph⁺-хромосома выявлена в 100 % метафаз (24.09.2007). Проводилась циторедуктивная терапия гидроксимочевинной, на фоне которой отмечено улучшение самочувствия, нормализация уровня лейкоцитов, исчезновение миелоцитарного сдвига. Однако в дальнейшем в течение 7 месяцев пациентка не являлась на прием к гематологу, специфической терапии не получала. Обратилась к гематологу повторно в апреле 2008 г. с прогрессом клинической симптоматики, нарастанием слабости, болей в левой половине живота (спленомегалия +20 см). В гемограмме на момент повторного обращения: *содержание лейкоцитов 119,5 × 10⁹/л, гемоглобина 108 г/л, тромбоцитов 302 × 10⁹/л, бластов 8 %, юных 5 %, палочкоядерных 15 %, сегментоядерных 60 %, базофильных 5 %, эозинофильных 5 %, лимфоцитов 2 %.* Была назначена терапия иматинибом (Гливек) в дозе 400 мг/сут. В течение 1,5 мес. получена клинико-гематологическая ремиссия. В течение года больная соблюдала режим терапии, однако с 2009 г. самостоятельно снижала дозу иматиниба до 300 мг/сут, делала перерывы в лечении. При этом полная клинико-гематологическая ремиссия сохранялась. Пациентка отказывалась от выполнения стерильных пункций. Контрольное цитогенетическое исследование костного мозга было выполнено однократно, через 2 года терапии, в апреле 2010 г. Отмечен полный цитогенетический ответ (ПЦО): кариотип 46 XX. Одновременно было выполнено молекулярно-биологическое исследование периферической крови методом количественной полимеразной цепной реакции (RQ-ПЦР), констатирован ПМО.

В июле 2011 г., в возрасте 24 лет, у пациентки диагностирована беременность. Зачатие произошло во время перерыва в терапии иматинибом. На момент обращения к гематологу срок составил 6 недель, перерыв в терапии – около 2 месяцев. Каких-либо сопутствующих заболеваний у пациентки не было. Беременность была первой, и пациентка настаивала на ее сохранении. У больной сохранялась полная клинико-гематологическая ремиссия. В гемограмме: *содержание лейкоцитов 9,3 × 10⁹/л, гемоглобина*

127 г/л, эритроцитов $4,14 \times 10^{12}/л$, тромбоцитов $216 \times 10^9/л$, сегментоядерных 70 %, эозинофильных 4 %, лимфоцитов 18 %, моноцитов 5 %.

Учитывая отсутствие на тот момент актуальных данных по цитогенетическому и молекулярному мониторингу, с целью оценки степени ремиссии было выполнено молекулярно-биологическое исследование периферической крови RQ-ПЦР. Уровень экспрессии *BCR-ABL* составлял 1,11 % (IS), что свидетельствовало об отсутствии прогностически благоприятного большого молекулярного ответа (БМО) и относительно большой массе опухоли. Как правило, уровень экспрессии *BCR-ABL* ≥ 1 % (IS) коррелирует с потерей ПЦО [7]. Для больных без изначального большого молекулярного ответа (БМО) описано несколько случаев наблюдения беременности при ХМЛ без терапии, при которых отмена ИТК на ранних сроках беременности и длительный перерыв в лечении приводили к развитию гематологического рецидива [8, 9]. Таким образом, риск развития гематологического рецидива при отсутствии терапии у пациентки был существенным. Однако темпы рецидивирования были трудно предсказуемы: специальных исследований по прекращению терапии у пациентов с таким уровнем минимальной остаточной болезни не проводилось.

Риск воздействия на плод в первом триместре беременности при возобновлении лечения также был расценен как существенный. Учитывая сохраняющуюся клинико-гематологическую ремиссию, было принято решение о продолжении наблюдения пациентки без терапии, рекомендован мониторинг общего анализа крови 1 раз в месяц и выполнение RQ-ПЦР 1 раз в месяц.

На сроках от 6 до 15 недель беременность развивалась нормально, пациентка терапии не получала. Сохранялась клинико-гематологическая ремиссия. RQ-ПЦР была выполнена на 15-й неделе беременности, результат получен и оценен к 17-й неделе. Уровень экспрессии *BCR-ABL* составлял 7,7 % (IS). На этом сроке беременности происходит завершение органогенеза и формирования плаценты, и риск воздействия на плод лекарственных препаратов, которые не проникают через плацентарный барьер, снижен по сравнению с I триместром. Учитывая нарастание опухолевого клона в динамике и, соответственно, увеличение риска гематологического рецидива, решено было возобновить специфическую терапию ХМЛ с целью предотвращения прогрессии.

Выбор терапии у пациентки во II триместре беременности сводился к альтернативе между назначением альфа-интерферона или возобновлением терапии иматинибом. Следует отметить, что оба этих лекарственных средства относятся к категории «D», согласно разработанной системе классификации FDA (*Food and Drug Administration – Администрация по продуктам питания и лекарственным препаратам, США*) [10]. В соответствии с этой классификацией, учитывающей потенциальную тератогенность лекарств, к категории «D» относятся «препараты, применение которых связано с определенным риском для плода, однако их возможно использовать в случае, если польза от их применения превосходит возможное побочное действие».

В качестве аргументов «за» назначение терапии альфа-интерфероном рассматривался тот факт, что препарат не проникает через плацентарный барьер, нет тератогенных эффектов, а также есть многочисленные данные об успешных исходах беременности. При совместной работе ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова Минздравсоцразвития России и ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России накоплен собственный опыт ведения около 50 беременностей у больных с хроническими миелопролиферативными заболеваниями на фоне лечения альфа-интерфероном [11]. Однако ограничивающим к применению фактором также является плохая переносимость такой терапии у многих пациентов. Кроме того, лечение альфа-интерфероном при большой массе опухоли у больных ХМЛ может обуславливать недостаточный контроль ремиссии [12]. Среди собственных наблюдений в ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России только в половине случаев у больных ХМЛ с изначальным отсутствием цитогенетического ответа в момент диагностики беременности (у 3 из 6 пациенток) удавалось поддерживать полную гематологическую ремиссию при применении препаратов альфа-интерферона на протяжении беременности [13]. Возможность получения в дальнейшем у этих пациенток более глубоких ремиссий при возобновлении терапии иматинибом могла быть ниже, требовалась коррекция дозы или перевод на терапию ИТК второго поколения. При обсуждении возможности возобновления лечения иматинибом со II триместра беременности основным аргументом в пользу этого решения была возможность адекватного контроля ремиссии для пациентки с полученным ранее ПМО на этом виде терапии.

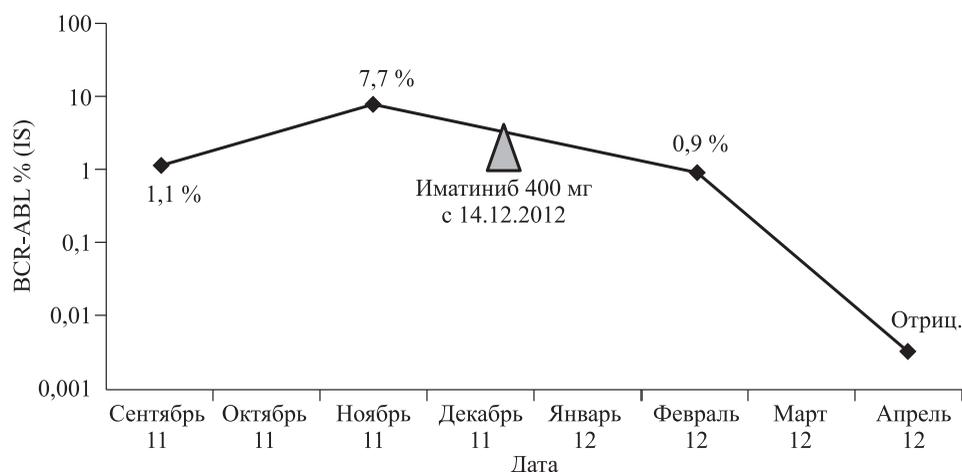


Рис. Данные молекулярного мониторинга пациентки А. в период беременности

По данным литературы, иматиниб не проникает через плацентарный барьер [14], переносимость лечения иматинибом хорошая; также есть данные литературы по успешному завершению беременности при терапии иматинибом [5]. При этом собственный опыт назначения иматиниба со II триместра беременности был относительно небольшим: 3 случая, которые завершились рождением здоровых детей.

Пациентка была подробно информирована о преимуществах и недостатках этих видов лечения. После совместного обсуждения и взвешивания всех рисков было принято решение о возобновлении лечения иматинибом в дозе 400 мг/сут под контролем клинического анализа крови, RQ-ПЦР мониторинга крови, мониторинга состояния плода. Терапия иматинибом была возобновлена с 21-й недели беременности. Показатели гемограммы были стабильными, сохранялась клинико-гематологическая ремиссия, отмечен умеренный лейкоцитоз $11-13 \times 10^9/\text{л}$, укладывающийся в картину лейкоцитоза при беременности. Переносимость лечения была хорошей, клинически значимых побочных явлений терапии не отмечено.

По результатам молекулярного исследования RQ-ПЦР, через 2 месяца после возобновления терапии иматинибом экспрессия *BCR-ABL* в крови снизилась до 0,9 %, а еще через 2 месяца был получен отрицательный результат RQ-ПЦР (при чувствительности более 4lg). Динамика результатов молекулярного мониторинга отражена на рисунке.

Беременность протекала без осложнений. По данным скрининга, проведенного в I и II триместрах беременности, был отмечен низкий риск формирования врожденных пороков развития плода. На протяжении беременности кроме

иматиниба пациентка получала, по рекомендации гинеколога, фолиевую кислоту, витамин Е, йодомарин, магне В6.

Плод, по данным УЗИ-мониторинга и функциональных методов исследования, развивался нормально. На 37-й неделе беременности (при госпитализации в акушерско-гинекологическую клинику) по данным УЗИ диагностирована плацентарная недостаточность с синдромом задержки развития плода I степени (отставание по массе на 3 недели, предполагаемая масса плода 2000 г), трехкратное обвитие пуповиной вокруг шеи плода. По данным функциональных методов оценки состояния плода (доплерометрия, кардиотокография) были выявлены выраженные нарушения состояния плода. В связи с прогрессирующей гипоксией плода было принято решение об экстренном оперативном родоразрешении (кесарево сечение). Родился живой мальчик, вес 2048 г, рост 48 см, оценка по шкале Апгар 8–9 баллов. После родов пациентка продолжила терапию иматинибом в дозе 400 мг/сут. Лактация была подавлена препаратами бромкриптина, так как иматиниб экскретируется с грудным молоком [5, 10]. Ребенок растет и развивается нормально, находится на искусственном вскармливании. К возрасту 4,5 мес. массо-ростовые показатели составляют: вес 6300 г, рост 63 см.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном случае отмечена возможность рождения здорового ребенка у пациентки с ХМЛ при применении иматиниба со II триместра. При принятии решения о терапии во время беременности принимались во внимание риск воздействия лекарственных средств на плод на ранних и поздних сроках беременности, а также риск рецидива ХМЛ с учетом данных молеку-

лярно-биологического исследования экспрессии *BCR-ABL*.

По имеющимся данным доклинических исследований и описанным в литературе случаям беременности при терапии иматинибом следует учитывать риск развития внутриутробных аномалий и риск самопроизвольного прерывания беременности [5, 10]. С другой стороны, так как иматиниб не проникает через плаценту [12], логично предполагать, что после формирования плацентарного барьера (15–16-я недели беременности) вероятность воздействия препарата на плод снижена. Далеко не по всем случаям применения иматиниба при беременности, о которых сообщается в литературных источниках, отслежены исходы беременности, представлены характеристики пациенток, их сопутствующей патологии, сопутствующей терапии и других потенциальных факторов влияния на развитие плода. Поэтому окончательные выводы о возможности применения иматиниба при беременности делать, безусловно, нужно с осторожностью, основываясь на тщательном анализе каждого случая.

В целом можно отметить, что баланс между риском воздействия препаратов на плод и риском развития рецидива при отмене терапии в каждом случае должен быть определен индивидуально, с учетом результатов клинико-гематологического статуса, а также цитогенетического, молекулярно-генетического исследований, отражающих объем опухолевой массы. Необходимость терапии ХМЛ при беременности – это вопрос, который решается в каждом конкретном случае беременности с учетом взвешивания этих двух рисков.

Оптимальным решением является достижение максимально полного ответа на лечения (ПМО), его стабилизация и планирование беременности в этот период. Все пациентки детородного возраста должны быть подробно информированы о важности соблюдения режима терапии и получения наиболее полной ремиссии.

Для более четкого и взвешенного суждения о наиболее безопасном ведении беременности при ХМЛ необходим анализ максимально возможного доступного количества информации по этому вопросу, накопление собственного опыта и создание алгоритмов мониторинга и терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лазарева О.В. Информационные технологии мониторинга и анализа отдаленных результатов терапии больных хроническим миелолейкозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2011.
2. Виноградова О.Ю. Клиническая эволюция хронического миелолейкоза в процессе лечения ингибиторами тирозинкиназ: автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2011.
3. Investigators Brochure, STI 571 (formerly CGP 57148B), and data on file, Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland.
4. Hensley M.L., Ford J.M. Imatinib treatment: specific issues related to safety, fertility, and pregnancy // *Semin. Hematol.* 2003. 40. (2). 21–25.
5. Pye S., Cortes J., Ault P. et al. The effects of imatinib on pregnancy outcome // *Blood.* 2008. 111. (12). 5505–5508.
6. Mahon F.X., Réa D., Guilhot J. et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial // *Lancet Oncol.* 2010. 11. (11). 1029–1035.
7. Аксенова Е.В., Крутов А.А., Солдатова И.Н. и др. Молекулярный мониторинг у пациентов с хроническим миелолейкозом: корреляция с цитогенетическим ответом, прогностическое значение, оценка ответа на терапию // *Клинич. онкогематол.* 2010. (2). 151–159.
8. Bayraktar S., Morency B., Escalyn M.P. Successful pregnancy in a patient with chronic myeloid leukaemia exposed to dasatinib during the first trimester // *BMJ Case Reports.* 2010. doi:10.1136/bcr.2975.
9. Conchon M., Sanabani S.S., Bendit I. et al. Two successful pregnancies in a woman with chronic myeloid leukemia exposed to nilotinib during the first trimester of her second pregnancy: case study // *J. Hematol. Oncol.* 2009. 2. 42.
10. Briggs G.G., Freeman R.K., Yaffe S.J. Drugs in pregnancy and lactation: a reference guide to fetal and neonatal risk. LWW, 2008. 918–921.
11. Полушкина Е.С., Шмаков П.Г., Хорошкова Н.Д. и др. Тактика ведения беременности у женщин с онкогематологическими заболеваниями (Часть II – миелопролиферативные заболевания) // *Клинич. онкогематол.* 2009. 2. (3). 250–256.
12. Conchon M., Sanabani S.S., Serpa M. et al. Successful pregnancy and delivery in a patient with chronic myeloid leukemia while on Dasatinib therapy // *Adv. Hematol.* 2010. 1–4.
13. Chelysheva E.Y., Turkina A.G., Kolosheina T.I. et al. Pregnancy outcomes and treatment regimens in patients with chronic myeloid leukemia // 17th congress of European Hematology Association. Amsterdam, 2012. Abstract 0766.
14. Russell M.A., Carpenter M.W., Akhtar M.S. et al. Imatinib mesylate and metabolite concentrations in maternal blood, umbilical cord, placenta and breast milk // *J. Perinatol.* 2007. 27. 241–243.

TACTICS OF THERAPY IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA DURING PREGNANCY. CLINICAL CASE

**Ekaterina Yurjevna CHELYSHEVA¹, Anna Grigorjevna TURKINA¹,
Evgenija Sergeevna POLUSHKINA², Roman Georgievich SHMAKOV³**

¹ *FBSI Hematology Research Center Minzdrava Russia
125167, Moscow, Novy Zykovsky av., 4*

² *FBSI «Scientific Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician V.I.Kulakov
of Ministry of Health and Social Development of Russia
117997, Moscow, Akademic Oparin str., 4*

A case of a successful pregnancy outcome in a patient with chronic phase of chronic myeloid leukemia has been provided. The need to choose a therapy during pregnancy was the particularity of the case. The increasing of the leukemic cell mass evaluated by quantitative method of real-time polymerase chain reaction (expression of chimeric oncogene *BCR-ABL*) has been observed at the moment of pregnancy diagnostics and during further monitoring. Since the 2nd trimester of pregnancy the patient was treated by imatinib. BCR-ABL transcript level rapidly decreased and a complete molecular remission was achieved at high tolerability. A healthy child was born at the 37th week of pregnancy. The approaches to therapy tactics of chronic myeloid leukemia during pregnancy have been discussed.

Key words: cchronic myeloid leukemia, pregnancy, imatinib.

Chelysheva E.Yu. – candidate of medical sciences, senior researcher of scientific and consultative department of myeloproliferative disorders, e-mail: denve@bk.ru

Turkina A.G. – doctor of medical sciences, professor, head of scientific and consultative department of myeloproliferative disorders, e-mail: turkianna@yandex.ru

Polushkina E.S. – candidate of medical sciences, researcher of obstetric physiological department, e-mail: epolushkina@mail.ru

Shmakov R.G. – doctor of medical sciences, head of obstetric physiological department, e-mail: mdshmakov@mail.ru

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕРВОГО И ПОВТОРНОГО КУРСОВ ИНДУКЦИОННОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ *DE NOVO* ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

**Сергей Васильевич ГРИЦАЕВ, Ирина Степановна МАРТЫНКЕВИЧ,
Ирина Михайловна ЗАПРЕЕВА, Иван Иванович КОСТРОМА,
Александр Николаевич СЕРГЕЕВ, Марина Петровна ИВАНОВА,
Софья Александровна ТИРАНОВА, Надежда Александровна ПОТИХОНОВА,
Кудрат Мугутдинович АБДУЛКАДЫРОВ**

*ФГБУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России
191024, Санкт-Петербург, 2-я Советская ул., 16*

Одним из важнейших факторов выживаемости больных острым миелоидным лейкозом является достижение полной ремиссии. Для оценки эффективности первого индукционного курса «7 + 3» были проанализированы результаты лечения 93 больных *de novo* острым миелоидным лейкозом в возрасте от 17 до 76 лет. Полная ремиссия была достигнута у 59,1 % больных, ответа не было у 33,1 % больных и ранняя смерть констатирована у 7,5 % больных. Вариант ответа зависел от возраста и характера цитогенетических aberrаций. Наименьшая эффективность химиотерапии отмечена у больных с моносомным кариотипом. В качестве повторного индукционного курса была использована химиотерапия по схеме «7 + 3» или с введением цитоарабина в разовой дозе ≥ 1 г/м² в монорежиме или в комбинации с антрациклиновыми антибиотиками. Полная ремиссия была констатирована у 11,5 % больных, у которых выявлен промежуточный прогностический вариант кариотипа. При выборе интенсивности и состава повторного индукционного курса химиотерапии необходимо ориентироваться на молекулярно-генетический фенотип лейкозных клеток.

Ключевые слова: *de novo* острый миелоидный лейкоз, индукция ремиссии, курс «7 + 3», кариотип, полная ремиссия, повторный индукционный курс.

Условием, без которого невозможно прогнозировать длительную выживаемость больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), является полная ремиссия [1]. В случае отсутствия ответа на индукционные курсы химиотерапии (ХТ) прогноз ухудшается, несмотря на попытки интенсификации лечения, включения новых цитостатиков и проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [2, 3].

Полная ремиссия (ПР) определяется как количество бластов без палочек Ауэра менее 5 % при подсчете в морфологических препаратах

костного мозга (КМ) не менее 200 ядросодержащих клеток. Дополнительными признаками являются отсутствие экстрамедуллярных очагов поражения, абсолютное количество нейтрофилов $> 1 \times 10^9$ /л, концентрация тромбоцитов $\geq 100 \times 10^9$ /л и отсутствие показаний к переливаниям эритроцитной массы [4]. В ряде случаев ПР верифицируется при более низких значениях показателей с оговоркой на отсутствие восстановления параметров периферической крови (ПК). Тем не менее данный вариант ответа на ХТ сопряжен с ухудшением выживаемости больных ОМЛ [1].

Грицаев С.В. – д.м.н., главный научный сотрудник, e-mail: griцаevsv@mail.ru

Мартынкевич И.С. – д.б.н., рук. молекулярно-генетической лаборатории, e-mail: genetics.spb@mail.ru

Запорева И.М. – врач к/о «Гематология», rniiht@mail.ru

Кострома И.И. – младший научный сотрудник, rniiht@mail.ru

Сергеев А.Н. – младший научный сотрудник, rniiht@mail.ru

Иванова М.П. – к.м.н., научный сотрудник, rniiht@mail.ru

Тиранова С.А. – к.м.н., врач клинико-гематологической лаборатории, rniiht@mail.ru

Потихонова Н.А. – к.м.н., рук. клинико-гематологической лаборатории, rniiht@mail.ru

Абдулкадыров К.М. – д.м.н., проф., рук. гематологической клиники, Заслуженный деятель наук РФ, e-mail: rniiht@mail.ru

Достижение ПР после индукционной ХТ зависит от многих условий. Это сроки инициации противолейкозного лечения, которые, как было продемонстрировано М. Sekeres с соавт. [5], имеют принципиальное значение для молодых больных. Отсроченное начало может сопровождаться увеличением частоты летальных исходов [6]. Не менее важным оказывается и биологический фенотип лейкозных клеток, определяющий их чувствительность к цитостатическим препаратам [7–10]. Клиническим критерием резистентности бластов к ХТ является скорость санации ПК и КМ [11, 12].

Наибольшее распространение в качестве индукционной ХТ получил курс «7 + 3»: цитарабин (Ара-Ц) по 100–200 мг/м² внутривенно каждые 12 часов или в виде длительной инфузии 7 последовательных дней в комбинации с даунорубицином по 45–60 мг/м² внутривенно однократно в сутки 3 последовательных дня. Частота ПР составляет 40–70 %. После повторного курса число ответов увеличивается на 10–15 % [4, 11, 13–17].

Данные показатели, а также повышение эффективности при назначении дополнительных препаратов [18–22] позволяют предположить, что схема «7 + 3» может быть не единственно возможным вариантом индукционной ХТ. Привлекательным способом увеличения эффективности представляется наращивание доз Ара-Ц и даунорубицина [14, 15, 23, 24]. Вместе с тем риск тяжелых токсических осложнений не может быть оправдан, если существует возможность достичь ПР при назначении стандартных доз цитостатиков. В этой ситуации оправданной была бы адаптация интенсивности индукционных курсов к прогностическому варианту ОМЛ согласно характеру молекулярно-генетических повреждений [25]. Но в силу методических особенностей результаты цитогенетического исследования в большинстве случаев доступны преимущественно в период завершения индукционной ХТ. В этой связи особую актуальность приобретает проблема интенсивности повторной терапии при неудаче первого курса «7 + 3».

Цель исследования – изучить эффективность первого и второго курсов индукционной ХТ у больных *de novo* ОМЛ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели был проведен ретроспективный анализ результатов лечения 93 больных ОМЛ (за исключением острого промиелоцитарного лейкоза) с известным возрастом на момент инициации ХТ и изучен-

ным кариотипом. Возраст пациентов составлял от 17 до 76 лет (медиана 48 лет), старше 60 лет было 14 человек (15,1 %).

Диагноз ОМЛ устанавливали согласно критериям классификации ВОЗ опухолей кроветворной и лимфоидной тканей [26] по результатам морфологических, цитохимических, иммунологических и, при необходимости, иммуногистохимических исследований препаратов крови и костного мозга.

Для изучения кариотипа был использован стандартный GTG-метод. Комплексный кариотип устанавливали при обнаружении трех и более независимых хромосомных aberrаций. Случаи с двумя и более аутосомными моносомиями или одной аутосомной моносомией с одним и более структурным повреждением верифицировали как моносомный кариотип согласно рекомендациям D. Vreems с соавт. [27]. Для определения прогностического варианта кариотипа были использованы рекомендации European LeukemiaNet [25].

Мутационный статус генов *FLT3* и *NPM1* изучен с применением метода полимеразной цепной реакции тотальной геномной ДНК [28].

Лечение начинали после подписания больным информированного согласия. Доза и способ введения Ара-Ц были одинаковыми для всех больных: внутривенно по 100 мг/м² 2 раза в сутки в течение 7 дней. Вид и разовая доза антрациклинов различались в зависимости от протокола, зарегистрированного в гематологической клинике Российского НИИ гематологии и трансфузиологии в тот или иной период времени. Были использованы даунорубицин по 45 или 60 мг/м² и идарубицин по 12 мг/м².

Эффективность ХТ оценивали по критериям Международной рабочей группы [4]. Контрольную пункцию КМ выполняли в среднем через 3 недели после инициации ХТ, т. е. при восстановлении показателей ПК. В случае персистирующей цитопении аспирацию КМ осуществляли, не дожидаясь роста количества лейкоцитов.

В качестве повторной индукционной терапии, назначаемой при неудаче, были курсы «7 + 3» или курсы с введением Ара-Ц в разовой дозе ≥ 1 г/м² в виде монотерапии или комбинации с антрациклинами.

Сопутствующую терапию проводили согласно практике, принятой в гематологической клинике Российского НИИ гематологии и трансфузиологии.

Случаи летальных исходов в течение 28 дней от начала ХТ расценивали как раннюю смерть.

При оценке статистической значимости различий между группами использовали точный

критерий Фишера, различия принимали достоверными при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Благоприятные, промежуточные и неблагоприятные варианты кариотипа установлены у 18, 60 и 15 больных соответственно. Моносомный кариотип верифицирован у 13 пациентов, 10 из которых имели множественные хромосомные aberrации.

Результаты первого индукционного курса «7 + 3» были следующими. Полная ремиссия достигнута у 55 больных (59,1%). Ответа не было у 31 пациента (33,3%). В течение первых 28 дней умерло 7 человек (7,5%). Медиана возраста больных с ПР, без ответа и умерших в ранние сроки составила 43, 52 и 56 лет соответственно; $p = 0,009$. Корреляции возраста (≤ 60 лет и > 60 лет) с вариантом ответа не установлено, $r = 0,145$; $p = 0,164$.

При анализе эффективности 1-го индукционного курса в группах больных с разными вариантами кариотипа установлено, что частота ПР достоверно снижается по мере ухудшения прогноза: 17 пациентов (94,4%) с благоприятным, 33 (55,0%) с промежуточным и 5 (33,3%) с неблагоприятным кариотипом, $p = 0,026$.

У всех больных из группы с благоприятным кариотипом была получена ПР. В то же время ХТ была неэффективной у 23 (38,3%) и 8 (53,3%) больных с промежуточным и неблагоприятным кариотипом соответственно. Различия были недостоверными ($p = 0,072$), тем не менее полученные данные позволяют говорить о тенденции к увеличению случаев неудачи у больных ОМЛ с неблагоприятными хромосомными aberrациями.

Различия в частоте случаев ранней смерти было недостоверным, несмотря на худшие показатели в группе с неблагоприятными цитогенетическими aberrациями: 2 (13,3%) пациента,

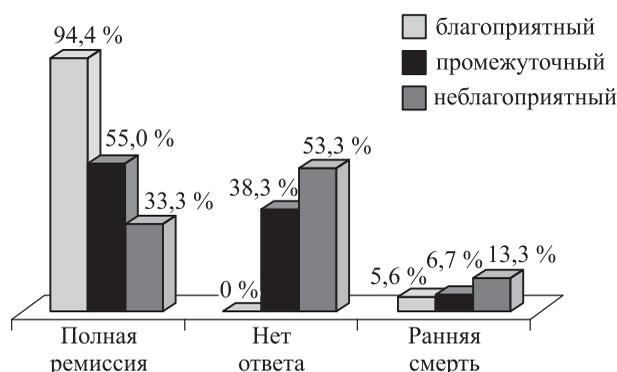


Рис. Результаты первого курса «7 + 3» и прогностические варианты кариотипа

в то время как в группах больных с благоприятным и промежуточным кариотипом – соответственно 1 (5,6%) и 4 (6,7%), $p = 0,352$ (рисунок).

Одновременно была установлена корреляционная связь прогностического варианта кариотипа с достижением ПР ($r = 0,377$; $p = 0,0001$) и неудачей первого индукционного курса ХТ ($r = 0,344$; $p = 0,0007$), но не с ранней смертью ($r = 0,083$; $p = 0,427$).

Для подтверждения негативного влияния неблагоприятных хромосомных aberrаций на результаты 1-го индукционного курса был проведен дополнительный анализ после распределения больных в 4 группы, включая группу с моносомным кариотипом.

Как видно из таблицы, наихудшая эффективность была у больных с моносомным кариотипом: у 4 из 13 больных (30,8%) была констатирована ПР. Причина – отсутствие ответа у основной части больных (53,8%). Различия по такому показателю, как ранняя смерть, было недостоверным.

Из 38 пациентов с нормальным кариотипом на ХТ не ответили 14 человек (36,8%). В связи с этим дополнительному анализу были подвергнуты результаты лечения больных ОМЛ с нормальным кариотипом (26 человек), у которых

Таблица

Результаты первого курса «7 + 3» у больных *de novo* ОМЛ, распределенных в 4 группы с разными прогностическими вариантами кариотипа

Кариотип	n	Вариант ответа		
		Полная ремиссия	Нет ответа	Ранняя смерть
Благоприятный	18	17 (94,4%)	–	1 (5,6%)
Промежуточный*	55	30 (54,5%)	22 (40,0%)	3 (5,5%)
Неблагоприятный*	7	4 (57,1%)	2 (28,6%)	1 (14,3%)
Моносомный	13	4 (30,8%)	7 (53,8%)	2 (15,4%)
<i>p</i>		0,003	0,005	0,561

Примечание: * – после выделения из состава этих групп больных с моносомным кариотипом.

был изучен мутационный статус генов *FLT3* и *NPM1*. Различий в частоте ПР у больных с мутацией *FLT3-ITD* и без нее, независимо от статуса гена *NPM1*, не выявлено: 42,9 и 73,7 % соответственно, $p = 0,235$.

Эффективность второго индукционного курса по разным причинам была оценена у 26 из 31 больного, не ответивших на первую ХТ.

Повторный курс «7 + 3» получили 16 пациентов. Курс с введением Ара-Ц в разовой дозе ≥ 1 г/м² был проведен 10 больным. Эффективность обоих вариантов ХТ была крайне низкой: ПР зарегистрирована у двух (12,5 %) и одного (10,0 %) человека соответственно, у которых был выявлен промежуточный вариант кариотипа. В ранние сроки умерло 3 больных, которым был проведен курс «7 + 3».

Таким образом, после двух индукционных курсов ПР была констатирована у 58 из 93 больных *de novo* ОМЛ (62,4 %).

ОБСУЖДЕНИЕ

Острый миелоидный лейкоз – гетерогенная группа клональных заболеваний кроветворной ткани. Несмотря на общий для всех вариантов ОМЛ морфологический признак, а именно количество миелобластов в КМ ≥ 20 % [26], различие биологических механизмов возникновения и развития определяет вариабельность клинического течения отдельных случаев ОМЛ. Тем не менее независимо от морфологических, цитогенетических и молекулярных характеристик лечение больных ОМЛ осуществляется по единому принципу, предполагающему этапность терапии. Первый этап подразумевает достижение ПР после одного или двух курсов индукционной ХТ. Целью последующего лечения является профилактика рецидива заболевания. Это так называемая консолидирующая терапия.

Интенсивность постремиссионного лечения варьирует от поддерживающих курсов ХТ до аллогенной ТГСК [29] и зависит от целого ряда прогностических факторов, важнейшим из которых является вариант кариотипа [25]. Однако подобный подход на этапе индукции ремиссии невозможен в большинстве случаев. Необходимость скорейшей инициации специфического лечения [5] не оставляет времени на ожидание результатов молекулярно-генетического обследования.

Признавая принципиальную роль консолидирующей терапии в осуществлении контроля за резидуальными опухолевыми клетками и, тем самым, ее значение для безрецидивной выживаемости, следует отметить, что без достижения

морфологической и цитогенетической ремиссии после первых курсов ХТ невозможно прогнозировать дальнейшее улучшение выживаемости и качества жизни больных ОМЛ [1–3, 11, 30].

Рассматривая проблемы первых курсов ХТ, необходимо подчеркнуть важность сроков обследования и адекватной оценки морфологических препаратов КМ для определения варианта ответа. Несмотря на рекомендуемую аспирацию КМ на 14 день от начала ХТ, избыточное количество бластов в этот период не обязательно сопряжено с неэффективностью ХТ, особенно при тенденции к снижению их числа. Вполне оправданными для планирования повторного индукционного курса могут быть результаты исследования пунктата КМ на 21 день [12, 31, 32].

Отсутствие ответа на курс «7 + 3» приблизительно у половины больных *de novo* ОМЛ поднимает вопрос о том, насколько данная схема может рассматриваться как «стандарт» индукционной терапии. Открытым остается вопрос и о целесообразности повторного курса «7 + 3» в случае неэффективности первого [33]. Не ясно, следует ли отсутствие ответа на первые 2 индукционных курса расценивать как резистентность лейкозных клеток к цитостатическим препаратам. И если феномен резистентности обусловлен биологическим фенотипом бластов, то насколько оправдана коррекция индукционной терапии при доступности информации о прогностическом варианте кариотипа к моменту назначения очередной ХТ. Эти и другие вопросы обуславливают непрекращающиеся попытки модифицировать индукционную терапию.

Для увеличения частоты и качества ПР используют такие подходы, как интенсификация разовых доз Ара-Ц и даунорубина, удлинение сроков введения Ара-Ц, включение дополнительных цитостатиков и/или препаратов, воздействующих на отдельные молекулярные мишени. Вместе с тем следует признать, что, несмотря на предпринимаемые усилия, в большинстве исследований не удалось продемонстрировать значимого улучшения результатов.

Так, при мета-анализе данных 3 рандомизированных исследований не выявлено различия в частоте ПР при назначении Ара-Ц в дозе ≥ 1 г/м² за введение и 100 мг/м² за введение. В то же время улучшение общей выживаемости позволило предположить, что высокие дозы Ара-Ц элиминируют лейкозные клетки, которые могут спровоцировать развитие рецидива, но не способны преодолеть первичную химиорезистентность бластов [34]. В рандомизированном исследовании, проведенном В. Lowenberg с со-

авт. [23], также не было установлено различий в частоте ПР у больных ОМЛ при введении в первом индукционном курсе Ара-Ц в разовой дозе 200 мг/м² или 1000 мг/м²: соответственно 80 и 82 %, $p = 0,45$. Не было и различия в 5-летней общей выживаемости (соответственно 40 и 42 %, $p = 0,87$). Отчасти это может быть следствием кумулятивного эффекта миелосупрессивного действия высоких доз Ара-Ц с увеличением случаев нелейкозной смерти в постремиссионном периоде. Дальнейшее наращивание разовой дозы Ара-Ц в индукционном периоде до > 2 г/м² признано неоправданным, так как не сопровождается увеличением концентрации активных метаболитов в лейкозных клетках [35].

Необходимо подчеркнуть, что попытки включения высоких доз Ара-Ц в индукционные курсы затрагивает и такую не менее актуальную проблему, как дальнейшее лечение больных, у которых не получен ответ. Единственным вариантом может быть только аллогенная ТГСК, успех которой зависит непосредственно от объема лейкозных клеток [3].

В двух рандомизированных исследованиях было установлено, что назначение даунорубина в дозе 90 мг/м² в день в составе курса «7 + 3» с суточным внутривенным введением Ара-Ц по 100 или 200 мг/м² в день сопровождается достоверным увеличением частоты ПР по сравнению со схемами, в которых доза даунорубина была 45 мг/м² в день [14, 15]. Вместе с тем необходимо отметить, что частота ПР у больных ОМЛ с благоприятным, промежуточным и неблагоприятным кариотипом была разной: 81,3, 58,7 и 51,4 % соответственно, $p < 0,001$ [14]. Ухудшение результатов было ассоциировано и с увеличением возраста больных. Немаловажное влияние на эффективность терапии оказывали также такие факторы, как количество лейкоцитов, спленомегалия, наличие экстрамедуллярных очагов поражения, общий статус больного [15]. В свою очередь S. Ohtake с соавт. [24] не обнаружили приоритета курсовой дозы даунорубина в 250 мг/м² над идарубицином, вводимым по 12 мг/м² в течение трех последовательных дней.

Не менее привлекательным представляется включение в состав индукционных схем моноклональных антител, ингибиторов *p*-гликопротеина, индукторов апоптоза, пуриновых аналогов [18, 19, 21, 36–40]. Однако полученные данные носят неоднозначный характер и требуют дополнительных клинических исследований.

Результаты анализа историй болезни 93 больных *de novo* ОМЛ в целом соответствуют данным других авторов, хотя частота ПР и не

достигает показателей, представленных в ряде публикаций. Помимо ретроспективного характера исследования на полученные результаты могли оказывать влияние и другие факторы.

Прежде всего, это возраст старше 60 лет у 15 % больных. Несмотря на то, что основанием для лечащего врача отдать предпочтение курсу «7 + 3» в качестве первой индукционной ХТ был низкий индекс коморбидности, следует признать, что выбор интенсивности лечения больных старше 60 лет должен быть более взвешенным. Токсичность «стандартных» для молодых больных курсов ХТ может оказаться чрезмерной для больных ОМЛ пожилого возраста, а тяжесть и длительность постцитостатической цитопении – приводить к необратимым нарушениям функции жизненно важных органов. В качестве подтверждения следует привести факт увеличения смертности в первые недели после начала ХТ по мере увеличения возраста больных (см. рисунок).

На результатах первого курса противолейкозной ХТ могло сказаться и включение в схему «7 + 3» разных антрациклинов. Возможно, частота ПР могла быть выше при назначении всем больным идарубина [41–43]. Тем более что часть больных получала даунорубин в курсовой дозе 135 и 180 мг/м², эффективность которой могла быть существенно ниже лечебного потенциала идарубина, вводимого по 36 мг/м² за курс [24].

Несмотря на негативное влияние возраста и вида использованного антрациклина на частоту ПР, данные проведенного исследования свидетельствуют прежде всего о принципиальном значении биологического фенотипа лейкозных клеток.

Ассоциация эффективности ХТ «7 + 3» с вариантом кариотипа поднимает вопрос о сроках инициации и интенсивности первой индукционной ХТ. Следует ли ожидать результаты цитогенетического исследования для того, чтобы выбрать вариант противолейкозной терапии? Готового ответа на этот вопрос нет. Однако факт ухудшения результатов лечения молодых больных ОМЛ по мере увеличения интервала между диагностикой заболевания и началом ХТ [5] позволяет однозначно высказаться в пользу раннего назначения цитостатиков. В противном случае можно дойти до абсурда в виде повторного исследования кариотипа при отсутствии роста клеток в культуре.

Возможно, что решением проблемы может быть включение высокодозного Ара-Ц в состав индукционного курса. Но, несмотря на сообщения о повышении частоты ПР при введении

Ара-Ц в дозе ≥ 1 г/м²/введение [22, 23], риск развития тяжелых токсических осложнений представляется неоправданным, если существует вероятность ответа на менее интенсивную ХТ. Собственные данные свидетельствуют о том, что у большинства больных СBF ОМЛ, половины больных с промежуточным кариотипом и трети больных с неблагоприятными хромосомными aberrациями, включая моносомный кариотип, после первого стандартного курса «7 + 3» достигнута ПР.

Несмотря на то что мутация *FLT3-ITD* сопряжена с ухудшением выживаемости больных ОМЛ [28], ее негативного влияния на частоту ПР не установлено. Это соответствует данным других авторов [44].

Наибольший интерес представляют данные о низкой эффективности повторного индукционного курса ХТ. Характер исследования и небольшое число наблюдений не позволяют сделать окончательных выводов. Тем не менее, признавая низкую эффективность повторного курса «7 + 3» у больных ОМЛ с промежуточным кариотипом и неблагоприятными цитогенетическими aberrациями, следует предположить, что и Ара-Ц в дозе ≥ 1 г/м² за введение с антрациклинами или без них не является абсолютной «терапией спасения». Возможно, немаловажное значение имеет длительность межкурсового интервала. Так, по данным J. Lancet с соавт. [30], увеличение интервала на период более 21 дня сопряжено с ухудшением эффективности ХТ. Однако, принимая во внимание ассоциацию ответа с биологическим фенотипом лейкозных клеток, следует предположить, что основным механизмом неэффективности индукционных курсов является резистентность бластных клеток к цитостатикам, включая высокие дозы Ара-Ц.

Отсутствие улучшения результатов при использовании блокаторов гена множественной лекарственной резистентности [37, 39] стимулирует клинические исследования по изучению лечебного потенциала других лекарственных средств. Одним из перспективных направлений представляется включение в состав курсов ХТ аналогов пурина: флударабина и кладрибина [36, 38, 40]. Не менее привлекательно применение блокаторов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в сочетании с цитостатическими препаратами [45].

Результаты проведенного анализа в совокупности с данными литературы позволяют предложить предварительную схему дифференцированного выбора второго индукционного курса. Показанием для курса ХТ «7 + 3» может быть

тенденция к снижению количества бластов в КМ у больных с промежуточным вариантом кариотипа. Для большинства остальных молодых больных ОМЛ оправданным представляется назначение высокодозного Ара-Ц в комбинации с антрацендионами («НАМ») и/или аналогами пурина («FLAG±Ida», «CLAG») [38, 40]. При наличии HLA-совместимого донора эффективным может оказаться последовательное проведение ХТ и аллогенной ТГСК («FLAMSA-RIC») [46]. В случае отсутствия ответа у больных СBF ОМЛ с мутацией гена *c-Kit* эффективным может оказаться включение блокаторов тирозинкиназы в состав индукционной ХТ.

Планируемые и проводимые клинические исследования вселяют надежду, что в ближайшее время удастся унифицировать тактику индукционной терапии и адаптировать ее к прогностическому варианту ОМЛ. Однако уже сейчас данные клинико-гематологического мониторинга и результаты молекулярно-генетического исследования позволяют дифференцированно выбирать интенсивность повторного индукционного курса, обеспечивающего наибольшую вероятность ответа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Walter R.B., Kantarjian H.M., Huang X. et al.* Effect of complete remission and responses less than complete remission on survival in acute myeloid leukemia: a combined Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group, and M.D. Anderson Cancer Center Study // *J. Clin. Oncol.* 2010. 28. 1766–1771.
2. *Litzow M.R., Othus M., Cripe L.D. et al.* Failure of three novel regimens to improve outcome for patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia: a report from the Eastern Cooperative Oncology Group // *Br. J. Haematol.* 2010. 148. 217–225.
3. *Ravandi F., Cortes J., Faderl S. et al.* Characteristics and outcome of patients with acute myeloid leukemia refractory to 1 cycle of high-dose cytarabine-based induction chemotherapy // *Blood.* 2010. 116. 5818–5823.
4. *Cheson B.D., Bennett J.M., Kopecky K.J. et al.* Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia // *J. Clin. Oncol.* 2003. 21. 4642–4649.
5. *Sekeres M.A., Elson P., Kalaycio M.E. et al.* Time from diagnosis to treatment initiation predicts survival in younger, but not older, acute myeloid leukemia patients // *Blood.* 2009. 113. 28–36.
6. *Altman J.K., Rademaker A., Cull E. et al.* Administration of all-trans retinoic acid to newly diag-

nosed patients with acute promyelocytic leukemia is delayed even at experienced centers and associated with an increased early death rate: a retrospective analysis of 205 patients // *Blood*. 2011. 112. Abstr. 942.

7. Quintas-Cardama A., Qui Y.H., Post S., Kornblau S.M. High p53 protein expression level independent of mutational status is an adverse prognostic factor for survival in acute myeloid leukemia // *Blood*. 2011. 112. Abstr. 1490.

8. Metzeler K.H., Becker H., Maharry K. et al. ASXL1 mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN favorable genetic category // *Blood*. 2011. 118. 6920–6929.

9. Rombouts E.J.C., Pavic B., Lowenberg B., Ploemacher R.E. Relation between CXCR-4 expression, Flt3 mutations, and unfavorable prognosis of adult acute myeloid leukemia // *Blood*. 2004. 104. 550–557.

10. Medeiros B.C., Othus M., Fang M. et al. Prognostic impact of monosomal karyotype in young adult and elderly acute myeloid leukemia: the Southwest Oncology Group (SWOG) experience // *Blood*. 2010. 116. 2224–2228.

11. Elliott M.A., Litzow M.R., Letendre L.L. et al. Early peripheral blood blast clearance during induction chemotherapy for acute myeloid leukemia predicts superior relapse-free survival // *Blood*. 2007. 110. 4172–4174.

12. Yanada M., Borthakur G., Ravandi F. et al. Kinetics of bone marrow blasts during induction and achievement of complete remission in acute myeloid leukemia // *Haematologica*. 2008. 93. 1263–1265.

13. Breems D. A., Löwenberg B. Acute myeloid leukemia with monosomal karyotype at the far end of the unfavorable prognostic spectrum // *Haematologica*. 2011. 96. 491–493.

14. Fernandez H.F., Sun Z., Yao X. et al. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia // *N. Engl. J. Med.* 2009. 361. 1249–1259.

15. Lowenberg B., Ossenkoppele G.J., van Putten W. et al. High-dose daunorubicin in older patients with acute myeloid leukemia // *N. Engl. J. Med.* 2009. 361. 1235–1248.

16. Miyawaki S., Ohtake S., Fujisawa S. et al. A randomized comparison of 4 courses of standard-dose multiagent chemotherapy versus 3 courses of high-dose cytarabine alone in postremission therapy for acute myeloid leukemia in adults: the JALSG AML201 Study // *Blood*. 2011. 117. 2366–2372.

17. The AML collaborative group. A systematic collaborative overview of randomized trials comparing idarubicin with daunorubicin (or other anthracyclines) as induction therapy for acute myeloid leukemia // *Br. J. Haematol.* 1998. 103. 100–109.

18. Borthakur G., Kantarjian H., Ravandi F. et al. Phase 1 study of sorafenib in patients with refractory or relapsed acute leukemias // *Haematologica*. 2011. 96. 62–68.

19. Burnett A.K., Hills R.K., Green C. et al. The impact on outcome of the addition of all-trans retinoic acid to intensive chemotherapy in younger patients with nonacute promyelocytic acute myeloid leukemia: overall results and results in genotypic subgroups defined by mutations in NPM1, FLT3, and CEBPA // *Blood*. 2010. 115. 948–956.

20. Burnett A.K., Hills R.K., Milligan D.W. et al. Attempts to optimize induction and consolidation treatment in acute myeloid leukemia: results of the MRC AML12 trial // *J. Clin. Oncol.* 2009. 28. 586–595.

21. Burnett A.K., Hills R.K., Milligan D. et al. Identification of patients with acute myeloblastic leukemia who benefit from the addition of gemtuzumab ozogamicin: results of the MRC AML15 trial // *J. Clin. Oncol.* 2010. 29. 369–377.

22. Quintas-Cardama A., Kantarjian H., Ravandi F. et al. Outcomes of patients with newly-diagnosed acute myeloid leukemia over the last 5 decades at M.D. Anderson Cancer Center // *Blood*. 2011. 112. Abstr. 2606.

23. Lowenberg B., Pabst T., Vellenga E. et al. Cytarabine dose for acute myeloid leukemia // *N. Engl. J. Med.* 2011. 364. 1027–1036.

24. Ohtake S., Miyawaki S., Fujita H. et al. Randomized study of induction therapy comparing standard-dose idarubicin with high-dose daunorubicin in adult patients with previously untreated acute myeloid leukemia: the JALSGAML201 Study // *Blood*. 2011. 117. 2358–2365.

25. Dohner H., Estey E.H., Amadori S. et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet // *Blood*. 2010. 115. 453–474.

26. Vardiman J.W., Thiele J., Arber D.A. et al. The 2008 revision of the World Health Organisation (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes // *Blood*. 2008. 114. 937–951.

27. Breems D.A., van Putten W.L., de Greef G.E. et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype // *J. Clin. Oncol.* 2008. 26. 4791–4797.

28. Мартынкевич И.С., Грицаев С.В., Москаленко М.В. и др. Мутации генов FLT3 и NPM1 у больных острыми миелоидными лейкозами и влияние мутации FLT3-ITD на выживаемость больных с нормальным кариотипом // *Терапевт. арх.* 2010. (12). 33–39.

29. Tallman M.S., Gilliland D.G., Rowe J.M. Drug therapy for acute myeloid leukemia // *Blood*. 2005. 106. 1154–1163.
30. Chen Y., Cortes J., Estrov Z. et al. Persistence of cytogenetic abnormalities at complete remission after induction in patients with acute myeloid leukemia: prognostic significance and the potential role of allogeneic stem-cell transplantation // *J. Clin. Oncol.* 2011. 29. 2507–2513.
31. Lancet J.E., List A.F., Bello C.M. et al. Outcomes and prognostic factors following double-induction chemotherapy in AML – a large, single institutional experience // *Blood*. 2011. 112. Abstr. 3605
32. Morris T.A., Rizzieri D.A., de Castro C.M. et al. Re-induction therapy decisions based on day 14 bone marrow biopsy in acute myeloid leukemia // *Blood*. 2011. 112. Abstr. 3590.
33. Rowe J.M., Kim H.T., Cassileth P.A. et al. Adult patients with acute myeloid leukemia who achieve complete remission after one or two cycles of induction have a similar prognosis // *Cancer*. 2010. 116. 5012–5021.
34. Kern W., Estey E.H. High-dose cytosine arabinoside in the treatment of acute myeloid leukemia: review of three randomized trials // *Cancer*. 2006. 107. 116–124.
35. Plunkett W., Liliemark J.O., Adams T.M. et al. Saturation of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine 5-triphosphate accumulation in leukemia cells during high-dose 1- β -D-arabinofuranosylcytosine therapy // *Cancer Res*. 1987. 47. 3005–3011.
36. Borthakur G., Kantarjian H., Wang X. et al. Treatment of core-binding-factor in acute myelogenous leukemia with fludarabine, cytarabine, and granulocyte colony-stimulating factor results in improved event-free survival // *Cancer*. 2008. 113. 3181–3185.
37. Cripe L.D., Uno H., Paietta E.M. et al. Zosuquidar, a novel modulator of P-glycoprotein, does not improve the outcome of older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia: a randomized, placebo-controlled trial of the Eastern Cooperative Oncology Group 3999 // *Blood*. 2010. 116. 4077–4085.
38. Holowiecki J., Grosicki S., Kyrz-Krzemien S. et al. Prospective, randomized, multicenter phase III, Polish Adult Leukemia Group study comparing DAF (DNR+AraC+Fludarabine), DAC (DNR+AraC+Cladribine), and standard DA regimen in induction of untreated acute myeloid leukemia patients – first report // *Blood*. 2005. 106. Abstr. 4616.
39. Kolitz J.K., George S.L., Marcucci G. et al. P-glycoprotein inhibition using valspodar (PSC-833) does not improve outcomes for patients younger than age 60 years with newly diagnosed acute myeloid leukemia: Cancer and Leukemia Group B study 19808 // *Blood*. 2010. 116. 1413–1421.
40. Komrokji R.S., Pinilla-Ibarz J., Yu D. et al. A phase II study of CLAG regimen in combination with imatinib mesilate in relapsed or refractory acute myeloid leukemia // *Blood*. 2011. 112. Abstr. 2604.
41. Berman E., Heller G., Santorsa J. et al. Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia // *Blood*. 1991. 77. 1666–1674.
42. Wiernik P.H., Banks P.L., Case D.C. et al. Cytarabine plus idarubicin or daunorubicin as induction and consolidation therapy for previously untreated adult patients with acute myeloid leukemia // *Blood*. 1992. 79. 313–319.
43. Vogler W.R., Velez-Garcia E., Weiner R.S. et al. A phase III trial comparing idarubicin and daunorubicin in combination with cytarabine in acute myelogenous leukemia: a Southeastern Cancer Study Group Study // *J. Clin. Oncol.* 1992. 10. 1103–1111.
44. Schnittger S., Schoch C., Dugas M. et al. Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease // *Blood*. 2002. 100. 59–66.
45. Yee K.W., Zeng Z., Konopleva M. et al. Phase I/II study of the mammalian target of rapamycin inhibitor everolimus (RAD001) in patients with relapsed or refractory hematologic malignancies // *Clin. Cancer Res*. 2006. 12. 5165–5173.
46. Chemnitz J.M., von Lilienfeld-Toal M., Holtick U. et al. Intermediate intensity conditioning regimen containing FLAMSA, treosulfan, cyclophosphamide, and ATG for allogeneic stem cell transplantation in elderly patients with relapsed or high-risk acute myeloid leukemia // *Ann. Hematol.* 2012. 91. 47–55.

THE EFFECTIVENESS OF THE FIRST AND REPEATED INDUCTION COURSES OF PATIENTS WITH *DE NOVO* ACUTE MYELOID LEUKEMIA

**Sergeiy Vasil'evich GRITSAEV, Irina Stepanovna MARTYNKEVICH,
Irina Mikhailovna ZAPREEVA, Ivan Ivanovich KOSTROMA,
Aleksandr Nikolaevich SERGEEV, Marina Petrovna IVANOVA,
Sophja Aleksandrovna TIRANOVA, Nadezda Aleksandrovna POTIKHONOVA,
Kudrat Mugutdinovich ABDULKADYROV**

*Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of FMBA
191024, Saint-Petersburg, 2nd Sovetskaya str., 16*

Complete remission is the main condition to improve survival of patients with acute myeloid leukemia (AML). The results of first induction of chemotherapy (CT) «7 + 3» of 93 patients aged from 17 to 76 years with de novo AML were next: in 59.1 % – complete remission (CR), in 33.1 % – no response and in 7.5 % – early death. The variant of response depended on the age and character of cytogenetic aberrations. The worst results were in AML patients with monosomal karyotype. The CT according to the scheme «7 + 3» or with the cytarabine introduction by single dose ≥ 1 g/m² at mono-regime or in combination with anthracyclines antibiotics has been used as the second induction course. The effectiveness of the second induction therapy was very low. CR was reached only in 11,5 % patients with intermediate karyotype regardless of the intensity of the CT. The conclusion that the intensity and composition of second CT has to be dependent on karyotype has been made.

Key words: de novo acute myeloid leukemia, induction chemotherapy, course «7 + 3», karyotype, complete remission, the second course of induction therapy.

*Gritsaev S.V. – doctor of medical sciences, professor, chief researcher, e-mail: gritsaevsv@mail.ru
Martynkevich I.S. – doctor of biological sciences, head of molecular genetic laboratory, e-mail: genetics.spb@mail.ru
Zapreeva I.M. – physician of clinical department “Hematology”, rniht@mail.ru
Kostroma I.I. – junior researcher, rniht@mail.ru
Sergeev A.N. – junior researcher, rniht@mail.ru
Ivanova M.P. – candidate of medical sciences, researcher, rniht@mail.ru
Tiranova S.A. – candidate of medical sciences, physician of hematological laboratory, rniht@mail.ru
Potikhonova N.A. – candidate of medical sciences, head of hematological laboratory, rniht@mail.ru
Abdulkadyrov K.M. – doctor of medical sciences, professor, the honored worker of sciences of the Russian Federation, head of hematology clinic, e-mail: rniht@mail.ru*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОВТОРНОЙ ТЕРАПИИ БОРТЕЗОМИБОМ У ПАЦИЕНТОВ С РЕФРАКТЕРНЫМИ И РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ ФОРМАМИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

Наталья Валерьевна СКВОРЦОВА¹, Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА,
Ирина Николаевна НЕЧУНАЕВА², Владимир Александрович ФРАДКИН²,
Галина Викторовна ШАМАЕВА², Людмила Михайловна МАСЛОВА²

¹ ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет
Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

² МБУЗ Городская клиническая больница № 2, Городской гематологический центр
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 21

Оценивали эффективность повторной терапии бортезомибом у 95 пациентов с рефрактерными и рецидивирующими формами множественной миеломы, наблюдавшихся в Городском гематологическом центре города Новосибирска. Медиана возраста больных составила 65 лет (36–81), проведено от 4 до 10 курсов терапии. Общий объективный ответ у пациентов, повторно получавших бортезомиб, составил 68,4 %. Из них полный и почти полный ответ достигнут у 20 % пациентов, частичный ответ наблюдался у 34,7 % больных. В группе пациентов, получавших VD, объективный ответ достигнут у 66,6 % пациентов. Среди пациентов, получавших VMP и CVD, общий ответ составил 71 и 66,7 % соответственно. Медиана длительности сохранения ответа составила 12 месяцев, медиана общей выживаемости не достигнута. Побочные эффекты бортезомиба были предсказуемыми и управляемыми, наиболее значимыми из них являются гастроинтестинальные, гематологические, астения и периферическая нейропатия. Таким образом, повторное применение бортезомиба – эффективный и безопасный метод лечения рефрактерных и рецидивирующих форм множественной миеломы.

Ключевые слова: бортезомиб, комбинированные режимы, множественная миелома, повторная терапия.

Множественная миелома – один из наиболее частых вариантов гемобластозов у взрослых, который, несмотря на современные подходы к терапии, до сих пор считается неизлечимым. Успехи в изучении патофизиологии множественной миеломы позволили лучше понять биологию этой опухоли и стали основой для создания новых лекарственных средств. В последнее десятилетие в клиническую практику вошли два класса лекарственных препаратов – иммуномодулирующие агенты (талидомид, леналидомид) и ингибитор внутриклеточных протеасом (бортезомиб), которые обладают совершенно иным механизмом действия, нежели цитостатические

препараты, что изменило подходы к лечению данного тяжелого заболевания [3, 8, 13].

Одним из таких препаратов, проявивших высокую эффективность при множественной миеломе, является бортезомиб, который благодаря способности предотвращать резистентность к химиотерапии и преодолевать влияние неблагоприятных прогностических признаков в настоящее время с успехом применяется не только в терапии I линии, но и в лечении рефрактерных и рецидивирующих форм множественной миеломы [7, 9, 10].

Опыт, полученный в последние годы при исследовании пациентов с рецидивами и реф-

Скворцова Н.В. – к.м.н., ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППП, e-mail: nata_sk78@mail.ru

Поспелова Т.И. – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППП, e-mail: postatgem@mail.ru

Нечунаева И.Н. – к.м.н., зав. отделением гематологии, e-mail: post_gem@mail.ru

Фрадкин В.А. – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППП, e-mail: post_gem@mail.ru

Шамалева Г.В. – к.м.н., врач-гематолог отделения гематологии, e-mail: post_gem@mail.ru

Маслова Л.М. – врач-гематолог отделения гематологии, e-mail: post_gem@mail.ru

рактерными формами множественной миеломы, показал, что повторная терапия бортезомибом оправдана и что комбинации на основе бортезомиба продолжают показывать клиническую эффективность у больных, ранее получавших бортезомиб и другие компоненты комбинированного режима [1, 11, 12].

Целью данного исследования явилась оценка эффективности и безопасности повторной терапии бортезомибом у пациентов с рефрактерными и рецидивирующими формами множественной миеломы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В Городском гематологическом центре г. Новосибирска с февраля 2008 г. по август 2012 г. бортезомиб получили 95 пациентов с рефрактерными и рецидивирующими формами множественной миеломы (40 мужчин и 55 женщин) в возрасте от 36 до 81 года (медиана 65 лет). Стадирование проводилось с использованием классификации Durie Salmon (1975 г.) и международной системы стадирования ISS (2005 г.). У большинства пациентов была диагностирована IIIA стадия процесса (по Durie Salmon), I стадия по ISS выявлена у 63 пациентов, II стадия – у 25 и III стадия – у 7 обследованных. Среди иммунологических вариантов заболевания преобладала миелома G (75 %), миелома A диагностирована у 20 % пациентов, миелома Бенс-Джонса – у 5 % обследованных. Каждому больному было проведено от 4 до 10 курсов терапии.

Все пациенты, вошедшие в анализ, ранее уже получали бортезомиб в качестве индукционных курсов, или терапии II линии. Из них 15 пациентам назначался бортезомиб в монорежиме (6–8 циклов), 30 – в сочетании с дексаметазоном (V-Dex) (суммарно 6–8 циклов), 36 – в составе протокола VMP (8–9 циклов), 14 пациентам – в виде протокола PAD (4–6 циклов).

В дальнейшем пациентам, резистентным к последней программе терапии или у которых возник рецидив/прогрессия заболевания, повторно начато лечение бортезомибом.

Выбор программы лечения осуществляли в зависимости от наличия и длительности ответа на предшествующую терапию. При длительности предшествующего ответа на бортезомибсодержащие протоколы менее 1 года, а также у пациентов, не ответивших на индукционную терапию бортезомибом, повторно использовалась другая комбинация препаратов на основе бортезомиба. Если перерыв после окончания последнего цикла лечения превышал 1 год, то

бортезомиб назначался в той же комбинации. Длительность заболевания на момент начала повторной терапии варьировала от 9 до 44 мес., а длительность периода наблюдения от начала повторной терапии – от 4 до 48 мес. В зависимости от используемой программы повторного лечения нами для анализа выделено 3 группы пациентов.

В первую группу вошли 42 пациента, которые получали терапию бортезомибом в составе протокола V-Dex: бортезомиб 1,3 мг/м² внутривенно в 1-, 4-, 8-, 11-й дни плюс дексаметазон по 20 мг внутрь в 1-, 2-, 4-, 5-, 8-, 9-, 11-, 12-й дни каждого 21-дневного цикла. На момент оценки полученных результатов пациенты получили от 4 до 9 циклов терапии.

Вторую группу составили 38 пациентов, которым был назначен бортезомиб в комбинации с протоколом MP: 1–4 циклы включали бортезомиб 1,3 мг/м² в 1-, 4-, 8-, 11-, 22-, 25-, 28-, 32-й дни и мелфалан 9 мг/м² с преднизолоном 60 мг/м² per os в 1–4-й дни цикла; 5–9 циклы – бортезомиб 1,3 мг/м² в 1-, 8-, 22-, 29-й дни и MP в стандартных дозах в 1–4 дни (от 4–9 циклов).

В третью группу включено 15 больных, которым проводился протокол CVD: бортезомиб 1,3 мг/м² внутривенно в 1-, 4-, 8-, 11-й дни плюс дексаметазон по 20 мг внутрь в 1-, 2-, 4-, 5-, 8-, 9-, 11-, 12-й дни в сочетании с циклофосфамидом 500 мг внутрь однократно ежедневно в течение всего периода лечения (от 6 до 8 циклов).

После окончания программы терапии все пациенты, достигшие клинического ответа, получали поддерживающую терапию по схеме: бортезомиб 1,3 мг/м² в 1-, 8-, 15- и 22-й дни, с последующим 12-дневным перерывом (с 23 по 35 дни). Длительность поддерживающей терапии варьировала от 6 месяцев до 1 года или до развития рецидива/прогрессирования заболевания.

Эффект терапии оценивали после 4 и 8 циклов терапии бортезомибом с использованием унифицированных международных критериев EBMT, согласно которым выделяли полный ответ (ПО), почти полный ответ (ППО), частичный ответ (ЧО), минимальный ответ (МО), стабилизацию и прогрессирование заболевания (СЗ + ПЗ) [6].

Оценка токсичности бортезомиба проводилась с использованием критериев Национального ракового института США (the National Cancer Institute Common Toxicity Criteria – NCI CTC), версия 3–0 (Cancer Therapy Evaluation Program, Department of Health and Human Services, December 2003).

При выполнении статистической обработки данных по методу Каплана–Майера рассчитывали общую выживаемость, определяемую как промежуток времени от даты включения в протокол больных до смерти от любой причины или до даты последней явки больного.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка результатов повторного использования бортезомиба в сочетании с дексаметазоном показала, что общий клинический ответ достигнут у большинства пациентов – 28 (66,6 %) из 42. При этом ПО и ППО отмечены у 8 человек (19 %), ЧО – у 15 (35,7 %), МО – у 5 (12 %), стабилизация или прогрессирование болезни – у 14 (33,3 %). Среднее число циклов до получения ответа варьировало от 4 до 8. Медиана времени до достижения ответа составила 74 дня.

При использовании бортезомиба в комбинации с протоколом МР объективный ответ (ПО + ППО) получен у 8 пациентов (21 %), ЧО – у 13 (34,5 %), МО – у 6 больных (15,5 %). Таким образом, общая частота клинического ответа составила 71 % (ПО + ППО + ЧО + МО). У 11 пациентов (29 %) эффекта от лечения не достигнуто (СЗ + ПЗ). Медиана времени до достижения общего ответа составила 88 дней. Число циклов терапии до получения ПО варьировало от 5 до 9, ЧО – от 3 до 8 циклов.

У пациентов, получавших повторную терапию бортезомибом в составе протокола CVD, общий ответ на терапию (ПО + ППО + ЧО + МО) был получен у 10 из 15 (66,7 %) пациентов, из них у 3 (20 %) человек был достигнут объективный ответ (ПО + ППО), у 5 (33,3 %) – ЧО, у 2 (13,4 %) – МО, у 5 (33,3 %) пациентов ответа на терапию не получено (СЗ + ПЗ). Медиана времени до достижения ответа составила 84 дня. Число циклов терапии до получения ответа варьировало от 4 до 7.

В целом по группе пациентов, получивших повторную терапию бортезомибом, вне зависимости от назначаемого протокола терапии общий ответ (ПО + ППО + ЧО + МО) достигнут у 68,4 % больных, ПО + ППО – у 20 %, ЧО – у 34,7 % и МО – у 13,7 %. Медиана времени до достижения ответа составила 86 дней. Медиана длительности сохранения ответа составила 12 месяцев. Медиана общей выживаемости не достигнута (рисунок).

Следует отметить, что количество ПО и ЧО не имело существенных различий в зависимости от назначаемого протокола лечения, что указывает на равноценность применяемых программ

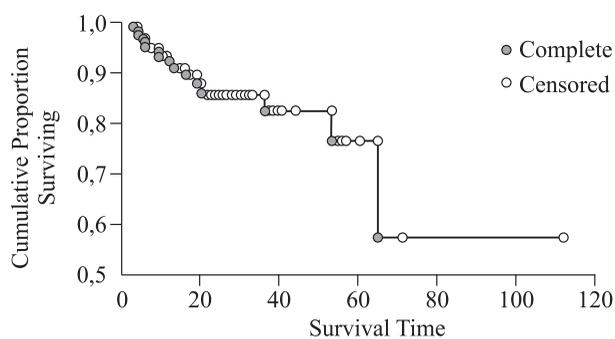


Рис. Общая выживаемость больных множественной миеломой, получавших повторную терапию бортезомибом

терапии, которые могут успешно использоваться в различных возрастных группах больных.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что бортезомиб может оставаться важным компонентом алгоритма терапии при повторном назначении у пациентов с прогрессированием и рецидивами множественной миеломы.

Повторное применение бортезомиба сопровождалось предсказуемыми и устранимыми побочными эффектами, сопоставимыми с таковыми при лечении первичных пациентов и рефрактерных и рецидивирующих форм множественной миеломы, о которых мы сообщали в предыдущих исследованиях (таблица) [4, 5].

Из проявлений негематологической токсичности наиболее часто отмечалась периферическая нейропатия – у 58 % пациентов (см. таблицу). Появление ее признаков наблюдалось преимущественно после проведения 3–5 циклов терапии. Чаще диагностировалась нейропатия I–II степени (у 55,2 % пациентов), частота нейропатии III степени составила 2,8 %. Признаков нейропатии IV степени, требовавшей отмены введения препарата, не отмечено. В случае нейропатии I–II степени проводилась редукция дозы препарата (с 1,3 до 1,0 или 0,7 мг/м²). При развитии нейропатии III степени терапию бортезомибом временно прекращали и в последующем редуцировали дозу вводимого препарата либо увеличивали интервалы между его введениями. Развитие большого числа нейротоксических осложнений связано со свойством бортезомиба вызывать дегенеративные изменения в нервной системе, доказанные в эксперименте. В свою очередь, достаточно серьезной предпосылкой для высокой чувствительности периферических нервов при множественной миеломе к нейротоксическим свойствам бортезомиба являются проявления самого заболевания, характеризующиеся компрессией нервных кореш-

Таблица

Частота основных побочных эффектов (%) на фоне повторной терапии бортезомибом

Нежелательное явление (n = 95)	Частота встречаемости, %	
	Степень I–II	Степень III–IV
Периферическая нейропатия	55,2	2,8
Астения	33	12
Herpes zoster	18	–
Диарея	29	–
Запоры	38	–
Инфекции	33,6	–
Лихорадка	25	–
Рвота	20	1
Кожный зуд	10	–
Сыпь	12	–
Тромбоцитопения	15,3	9,7
Анемия	15,2	4,8
Нейтропения	20	–

ков спинного мозга опухолевым инфильтратом, опухолевой инфильтрацией периферических нервов и внутриспинальным опухолевым ростом с поражением нитей конского хвоста, что вызывает демиелинизацию нервов [2].

Следует отметить, что в подавляющем большинстве случаев периферическая нейропатия была обратима в течение 3–4 месяцев после назначения пациентам длительно комплекса витаминов группы В (нейромультивит, мильгамма), тиоктовой кислоты (тиогама, тиоктацид), ноотропных препаратов (луцетам), антиконвульсантов при нейропатических болях (тебантин, прегабалин).

Реже встречались астения – у 45 % пациентов, в виде немотивированной слабости и повышенной утомляемости, а также гастроинтестинальная токсичность (диарея и обстипация) у 29 и 38 % больных соответственно. Данные желудочно-кишечные осложнения были, как правило, от слабых до умеренных и поддавались лечению обычными методами (см. таблицу).

Из других негематологических побочных явлений у 25 % больных отмечалась лихорадка и у 33,6 % – инфекции. Среди инфекционных осложнений преобладал herpes zoster, также встречались конъюнктивиты, блефариты и инфекции верхних дыхательных путей, которые не оказывали существенного влияния на ход лечения (см. таблицу). В дальнейшем частоту возникновений herpes zoster удалось снизить профилактическим назначением ацикловира

в терапевтической дозе в течение всего цикла введения бортезомиба.

Следует отметить, что тяжесть негематологических побочных эффектов в основном соответствовала I–II степени токсичности и не требовала отмены или снижения дозы вводимого препарата.

Достаточно редко (с частотой 10 и 12 % соответственно) регистрировались изменения со стороны кожи в виде эритематозных и уртикарных элементов на коже туловища и лица. Эти симптомы также легко купировались приемом десенсибилизирующих препаратов и не являлись причиной изменения режима терапии (см. таблицу).

Применение бортезомиба в некоторых случаях сопровождалось развитием преходящей обратимой миелосупрессии. Наиболее часто гематологическая токсичность проявлялась снижением уровня тромбоцитов (2–3 степени токсичности) и наблюдалась у 25 % пациентов. Механизм развития тромбоцитопении при применении бортезомиба не до конца ясен. Согласно литературным данным, известно, что бортезомиб может индуцировать тромбоцитопению за счет временного воздействия на продукцию тромбоцитов мегакариоцитами, а не за счет прямого цитотоксического эффекта. Возможно, имеет место ингибирование созревания тромбоцитов в костном мозге. В нашем исследовании тромбоцитопения у большинства пациентов была преходящей, возникала к концу цикла лечения и исчезала в межкурсовый период, не требуя трансфузионной поддержки.

Развитие анемии и нейтропении наблюдалось значительно реже и в основном у значительно предлеченных пациентов. Анемия 1–2 степени была выявлена у 15,2 % пациентов, 3 степени – у 4,8 % больных, нейтропения 1–2 степени – у 20 % пациентов соответственно (см. таблицу).

В преобладающем большинстве проявления гематологической токсичности соответствовали 1–2 степени, что не являлось основанием для редукции дозы бортезомиба или его отмены.

Таким образом, повторное назначение бортезомиба в различных сочетаниях является безопасным и высокоэффективным методом лечения рецидивирующих и рефрактерных форм множественной миеломы (частота общего ответа (ПО + ППО + ЧО + МО), вне зависимости от используемого протокола лечения, составила 68,4 %). Используемые для повторной терапии бортезомибсодержащие протоколы равноценны по достижению общего ответа (VD – 66,6 %, CVD – 66,7 % и VMP – 71 %), что дает воз-

возможность успешно применять их в различных возрастных группах больных множественной миеломой, независимо от стадии болезни. Переносимость бортезомиба является хорошей, профиль нежелательных явлений сопоставим с таковым при первичном лечении.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» ФГБУ «НЦКЭМ» СО РАМН в рамках ГК № 16.522.11.7057.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бессмельцев С.С., Карягина Е.В., Стельмащенко Л.В. и др. Бортезомиб (Велкейд) в комбинации с дексаметазоном в лечении рефрактерных/рецидивирующих форм множественной миеломы у пожилых больных // Онкогематология. 2010. (2). 40–45.
2. Бессмельцев С.С., Карягина Е.В., Стельмащенко Л.В. и др. Частота, характеристика и методы лечения периферической нейропатии у больных множественной миеломой, получающих бортезомиб (велкейд) // Онкогематология. 2008. (3). 52–62.
3. Вотякова О.М. Современная терапия множественной миеломы // Бюл. сиб. мед. 2008. (Прил. 3). 33–41.
4. Поспелова Т.И., Скворцова Н.В., Нечунаева И.Н. Результаты лечения множественной миеломы препаратом Бортезомиб // Онкогематология. 2009. (2). 35–42.
5. Скворцова Н.В., Мельникова Т.В., Мельниченко Е.В., Мишенин А.В. Эффективность таргетной терапии множественной миеломы с использованием ингибиторов протеасом // Бюл. СО РАМН. 2011. (2). 94–101.
6. Blade J., Samson D., Reece D. et al. 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. 1115–1123.
7. Karin M., Cao Y., Greten F.R., Li Z.W. NF- κ B in cancer: from innocent bystander to major culprit // Nat. Rev. Cancer. 2002. 2. 301–310.
8. Kyle R.A., Rajkumar S.V. Multiple myeloma // Blood. 2008. 111. (6). 2962–2972.
9. Mitsiades N., Mitsiades C.S., Richardson P.G. et al. The proteasome inhibitor PS-341 potentiates sensitivity of multiple myeloma cells to conventional chemotherapeutic agents: therapeutic applications // Blood. 2003. 101. 2377–2380.
10. Montagut C., Rovira A., Mellado B. et al. Pre-clinical and clinical development of the proteasome inhibitor bortezomib in cancer treatment // Drugs Today (Barc.). 2005. 41. 299–315.
11. Richardson P.G., Barlogie B., Berenson J. et al. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma // N. Engl. J. Med. 2003. 348. 2609–2617.
12. Richardson P.G., Britmberg H., Jagannath S. et al. Characterization and reversibility of peripheral neuropathy in patients with advanced multiple myeloma treated with bortezomib (VELCADE). The SUMMIT and CREST Study Group // Hematol. J. 2004. 5. (Suppl.). S129.
13. Smith A., Wisloff F., Samson D. UK Myeloma Forum, Nordic Myeloma Study Group and British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma // Br. J. Haematol. 2006. 132. 410–451.

ANTITUMOR ACTIVITY OF BORTESOMIB RETREATMENT IN RELAPSED OR REFRACTORY MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

Nataliya Valerjevna SKVORTSOVA¹, Irina Nikolaevna NECHUNAEVA²,
Vladimir Aleksandrovich FRADKIN², Galina Viktorovna SHAMAEVA²,
Lyudmila Mikhailovna MASLOVA²

¹Novosibirsk State Medical University Minzdrava Russia
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52

²Municipal Clinical Hospital N 2
630051, Novosibirsk, Polzunov str., 21

The efficacy of re-treatment with bortezomib was evaluated in 95 patients with refractory and relapsing forms of multiple myeloma (MM) in hematology center of Novosibirsk. The median age of patients was 65 years (36–81), 4–10 courses of therapy were held. Overall objective response rate in patients retreated with bortezomib was 68.4 %. CR and nCR was achieved in 20 % of patients, a partial response (PR) was observed in 34.7 % of patients. In the group of patients treated with VD, objective response was achieved in 66.6 % of patients. Among patients treated

with VMP and CVD, overall response rate was 71 % and 66.7 %, respectively. Median (Me) of prolonged response was 12 months, Me of overall survival has not been reached. The side effects of bortezomib were predicted and controlled. The most significant of them were gastrointestinal and hematology adverse events, asthenia and peripheral neuropathy. Thus, bortezomib is the high-effective remedy, playing the important role in MM therapy as the first and subsequent lines of the treatment.

Key words: bortezomib, combined modes, multiply myeloma, proteasome inhibitor, retreatment.

Skvortsova N.V. – candidate of medical sciences, assistant of the chair for therapy, hematology and transfusiology ,
e-mail: nata_sk78@mail.ru

Nechunaeva I.N. – candidate of medical sciences, head of the department of hematology, e-mail: post_gem@mail.ru

Fradkin V.A. – postgraduate student of the chair for therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

Shamaeva G.V. – candidate of medical sciences haematologist of the department for haematology,
e-mail: post_gem@mail.ru

Maslova L.M. – haematologist of the department for haematology, e-mail: post_gem@mail.ru

УДК 616.15-006:614.2

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ
В ОНКОГЕМАТОЛОГИИ****Татьяна Ивановна ИОНОВА***ФГБУ Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова
198103, г. Санкт-Петербург, наб. р. Фонтанки, 154*

Исследование качества жизни – простой, надежный и эффективный инструмент оценки состояния больного со злокачественным заболеванием крови до лечения, в ходе противоопухолевой терапии и в периоде ремиссии. Системный мониторинг состояния больного со злокачественным заболеванием крови предполагает применение дихотомической модели, включающей оценку клинического ответа и ответа, связанного с качеством жизни. Клинический ответ основан на объективных показателях – физикальных, лабораторных и инструментальных данных; ответ, связанный с качеством жизни, базируется на субъективных данных, включающих оценку функционирования больного, сделанную им самим. В рамках российского многоцентрового проспективного исследования «Показатели качества жизни и профиль симптомов у больных хроническим миелолейкозом на фоне лечения при резистентности или непереносимости ранее проводившейся терапии, включавшей иматиниб» проведена комплексная оценка эффективности терапии, включающая определение клинического ответа и ответа на лечение, связанного с качеством жизни. В программу было включено 55 больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ), имеющих резистентность или непереносимость ранее проводившейся терапии, включавшей иматиниб. Гематологический и цитогенетический ответ на терапию дазатинибом зарегистрирован у большинства пациентов. В процессе терапии дазатинибом происходило улучшение качества жизни больных. У большинства больных зарегистрирован ответ на лечение, связанный с качеством жизни, в виде улучшения или стабилизации, а также отмечено снижение или стабилизация выраженности актуальных симптомов. Количество больных с критическим и значительным ухудшением качества жизни в процессе терапии уменьшалось. Полученные предварительные данные свидетельствуют об эффективности второй линии терапии у больных ХМЛ при резистентности к иматинибу как с точки зрения объективных показателей, так и с точки зрения оценок, данных пациентом.

Ключевые слова: качество жизни, онкогематология, больные, иматиниб, лимфомы.

В онкогематологии исследования качества жизни проводятся более тридцати лет. Необходимость этого научного направления закреплена в ряде документов, которыми руководствуется международное онкологическое сообщество. 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]. Согласно рекомендациям Food and Drug Administration (FDA) (США, 1985 г.), оценку качества жизни больного следует включать в клинические исследования, связанные с внедрением новых лекарственных препаратов в онкологию. В 2009 г. FDA подготовлены рекомендации, специально посвященные методам оценки качества жизни и

симптомов при определении эффективности лекарственных препаратов в клинических исследованиях [2]. В Европе для координации научных программ в области исследования качества жизни у гематологических больных в 2006 г. в рамках Европейской гематологической ассоциации создана Научная рабочая группа «Качество жизни и симптомы». Большая роль в организации и работе Научной рабочей группы принадлежит профессору Андрею Аркадьевичу Новичку. Будучи руководителем клиники гематологии и клеточной терапии Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова в Москве (2003–2011 гг.), А.А. Новик развивал научные направления, связанные с внедрением метода оценки качества жизни больных в научные исследования и клиническую практику, которые получили признание в международном медицинском сообществе. В 2009 г. он был из-

Ионова Т.И. – проф. кафедры гематологии и клеточной терапии ИУВ, рук. отдела мониторинга качества жизни, e-mail: tation16@gmail.com

бран председателем Научной рабочей группы Европейской гематологической ассоциации, по инициативе А.А. Новика и при его непосредственном участии подготовлено и издано руководство Европейской гематологической ассоциации «Рекомендации по использованию оценок, данных пациентом, в гематологии» (2012 г.).

Значимость и актуальность нового научного направления в гематологии нашла отражение в деятельности Европейской гематологической ассоциации: 2012–2013 рабочий год Ассоциации провозглашен годом качества жизни.

Концепция исследования качества жизни в отечественной онкогематологии разработана под руководством профессора Новика на кафедре гематологии и клинической иммунологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова Минобороны России при участии экспертов Межнародного центра исследования качества жизни на основании общей концепции исследования качества жизни в клинической медицине, сформулированной академиком РАМН Ю.Л. Шевченко. Особенность концепции исследования качества жизни в онкогематологии заключается в составляющей, характеризующей методологию исследования, и касается следующих этапов: разработки протокола исследования, обследования больных, анализа и интерпретации результатов.

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ В ОНКОГЕМАТОЛОГИИ

Разработка протокола – обязательный компонент в программах исследования качества жизни [3]. Протокол создается отдельно для каждого исследования качества жизни. Его содержание определяется целями и задачами исследования. Основными разделами протокола являются:

- цели и задачи исследования;
- критерии включения/исключения больных;
- дизайн исследования;
- клиническая (-ие) карта (-ы) больного;
- инструмент (-ы) исследования;
- обоснование объема выборки;
- требования к мониторингу;
- информированное согласие больного на участие в исследовании;
- таблицы учета данных;
- рекомендации по проведению исследования.

При определении целей и задач исследования качества жизни у больных с тем или иным злокачественным заболеванием системы крови

необходимо учитывать особенности биологии опухоли и способов лечения данного заболевания. Другими важными составляющими протокола, которые разрабатываются с учетом специфики заболевания и способов его лечения, являются дизайн исследования и клиническая карта больного. Выбор инструментов исследования осуществляется на этапе создания протокола и во многом определяется биологическими особенностями опухоли и программами противоопухолевой терапии.

Дизайн исследования представляет собой структурно-логическую схему 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 клинические карты больного, которые заполняются врачом-исследователем, и опросники, которые заполняются больным.

Важны временные рамки обследования больного. В структуре наиболее распространенного в онкогематологии лонгитюдного исследования качества жизни большую роль играют так называемые «точки» исследования. Их количество и интервалы между ними определяются в соответствии с целями и задачами исследования, а также с учетом особенностей течения заболевания и методов его лечения. В том случае, когда цель исследования заключается в определении эффективности противоопухолевой терапии, дизайн исследования является «продольным» (проспективным) и включает несколько точек исследования. Первая обязательная точка исследования – до начала лечения. Количество и интервалы между последующими точками исследования (в процессе лечения и после его окончания) определяются исходя из предполагаемых сроков клинического ответа на лечение. В контексте данной задачи исследование качества жизни должно проводиться перед очередным курсом противоопухолевого лечения. Следует акцентировать внимание на том, что точки исследования, их количество и интервалы между ними в значительной степени зависят от вида проводимого лечения. Особенности дизайна исследования будут определяться вариантом противоопухолевой терапии.

Целью исследования в онкогематологии может быть не только определение эффективности лечения. Одной из важных задач при реализации современных агрессивных программ химиотерапии является определение токсичности противоопухолевого лечения. В этом случае точки

обследования у пациентов с одной и той же нозологией и аналогичной программой противоопухолевой терапии будут иными, нежели при оценке эффективности лечения. Особенность состоит в том, что исследование качества жизни при решении данной задачи проводят в сроки, когда ожидается максимальная выраженность побочных эффектов лечения. В зависимости от вида химиотерапии или лучевой терапии качество жизни может оцениваться во время курса, сразу после его завершения или через определенный период времени.

Отдельной задачей может быть изучение влияния опухоли и паранеопластических синдромов на физическое, психологическое и социальное функционирование больного. Подобная задача предполагает дизайн, отличный от такового при оценке эффективности лечения или изучении токсических эффектов противоопухолевой терапии. В этом случае дизайн исследования называется «поперечным» и оценка качества жизни проводится однократно. Такое исследование предполагает сравнение показателей качества жизни больных с соответствующими показателями популяционной «нормы». Оценка качества жизни проводится до начала противоопухолевой терапии. При разработке дизайна исследования также важно учитывать биологические особенности опухоли. Это необходимо, в первую очередь, для адекватной интерпретации полученных данных. Так, при латентном развитии опухоли и бессимптомном ее течении параметры качества жизни индивидуума могут быть в пределах популяционной нормы. В данном случае исследователь сталкивается с феноменом дискордантности, когда очевидны биологические признаки наличия неопластического процесса и отсутствуют функциональные нарушения, определяемые на уровне субъективных переживаний пациента. Феномен дискордантности диктует необходимость тщательного сопоставления клинических данных и параметров качества жизни больного. Показатели качества жизни онкогематологического пациента не должны подвергаться анализу и интерпретации вне связи с биологическими и клиническими характеристиками. Только системный анализ, опирающийся на достаточный ряд объективных признаков и адекватный объем субъективных данных, позволяет получить максимально точную и полную информацию о биологических характеристиках опухоли, состоянии организма больного и функциональной адаптации индивидуума к болезни и проводимому лечению.

Выбор опросника исследования качества жизни у онкогематологических больных опре-

деляется целями и задачами исследования и зависит от биологических особенностей опухоли и вида лечения. Неточность в выборе инструмента может привести к получению ошибочных данных и выводов, не соответствующих цели и задачам исследования. Еще один важный компонент протокола исследования качества жизни – клиническая карта больного. Она заполняется врачом-исследователем и создается отдельно для каждого протокола. Структура клинической карты больного и количество позиций, входящих в ее состав, определяются на основании целей и задач исследования. Специфика содержания и структуры карты в значительной степени зависит от биологических характеристик опухоли и программы лечения. В ряде случаев в рамках одного протокола для разных точек исследования разрабатывается несколько вариантов карт, отличающихся по объему клинической информации. При исследовании, дизайн которого предполагает оценку качества жизни до лечения, в его процессе и после окончания, создаются следующие клинические карты – карта больного до лечения, карта динамического наблюдения, карта больного после окончания лечения.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ АНАЛИЗА ДАННЫХ О КАЧЕСТВЕ ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ОНКОГЕМАТОЛОГИИ

Большой зарубежный и отечественный опыт исследования качества жизни и симптомов у больных со злокачественными заболеваниями системы крови свидетельствует о значительных перспективах метода. Существенный вклад в формирование приоритетных направлений развития метода оценки качества жизни в онкогематологии внес профессор А.А. Новик. Первое направление заключается в разработке подходов, упрощающих интерпретацию результатов оценки качества жизни пациента. Отметим, что в ряде случаев интерпретация данных качества жизни и их клиническое применение затруднительны из-за того, что качество жизни человека многомерно в своей основе, и для его оценки используют общие или специальные опросники, состоящие из нескольких шкал. Количество шкал варьирует в зависимости от вида инструмента. Многомерность получаемых значений создает ряд трудностей при интерпретации полученных данных. Изменения каждой из шкал могут иметь различную величину, а порой и направленность. Дать точную и однозначную оценку изменений нескольких шкал с их логичной клинической интерпретацией бывает доста-

точно сложно. Для преодоления данной проблемы актуальны исследования с целью разработки интегрального показателя качества жизни, однозначно характеризующего качество жизни пациента.

Другая перспективная область исследований качества жизни связана с разработкой программ риск-адаптированной терапии в онкологии и гематологии [4–7]. В ее основу положен принцип выбора программы лечения с учетом факторов риска, которые могут оказывать влияние на исход лечения. Известно, что результаты лечения больных с одним и тем же диагнозом значительно варьируют в зависимости от гистологической картины, характера течения заболевания и ряда прогностических факторов. В ряде работ продемонстрирована гетерогенность популяции больных с точки зрения показателей их качества жизни [8–13]. Результаты исследований убеждают, что они могут рассматриваться как дополнительные факторы, влияющие на прогноз заболевания [14–18]. Для того, чтобы использовать данные о показателях качества жизни больных в программах риск-адаптированной терапии, необходимо иметь систему стратификации больных по параметрам качества жизни. Разработка подходов к стратификации популяции больных со злокачественными заболеваниями системы крови на основании показателей качества жизни позволит оптимизировать программы риск-адаптированной терапии для этой категории больных.

Еще одно важное направление развития методов исследования качества жизни – разработка современных подходов оценки результатов лечения с использованием показателей качества жизни. В соответствии с руководством «Рекомендации по использованию оценок, данных пациентом, в гематологии» (2012 г.), подготовленным Научной рабочей группой Европейской гематологической ассоциации для определения результатов лечения, помимо клинического ответа следует оценивать ответ, связанный с качеством жизни [19]. На рис. 1 представлена дихотомическая модель оценки результатов лечения в онкогематологии. В этой связи актуальной является разработка способов определения ответа на лечение, связанного с качеством жизни, и использование данной информации в комплексной оценке результатов лечения онкогематологических больных.

Рассмотрим применение указанных подходов на примере отечественных исследований, выполненных при участии Межнационального центра исследования качества жизни. В работе, выполненной в 2004–2007 гг., изучали показате-

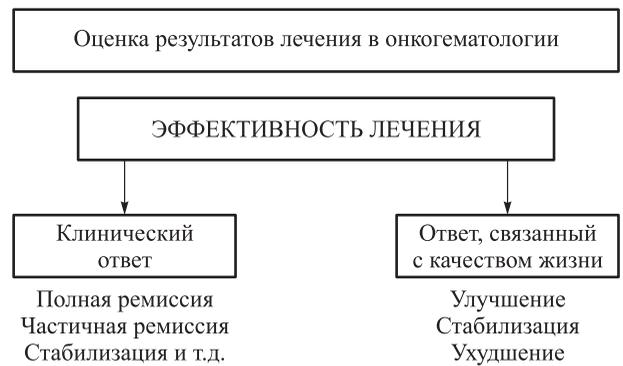


Рис. 1. Дихотомическая модель оценки результатов лечения в онкогематологии

тели качества жизни первичных больных агрессивными и индолентными неходжкинскими лимфомами (НЛ) в сравнении с популяционной нормой. В исследование включено 114 пациентов с агрессивными НЛ и 62 пациента с индолентными НЛ. Средний возраст больных агрессивными НЛ – 52,3 года; мужчины/женщины – 58/56. I стадию заболевания имели 8 больных, II – 17, III – 22, IV – 67. У большинства больных (73 %) отмечены В-симптомы. Распределение пациентов по общесоматическому статусу ВОЗ было следующим: 0 – 5 %, 1 – 22 %, 2 – 30 %, 3 – 39 %, 4 – 4 %. Большинство пациентов (60,4 %) имели благоприятный прогноз по Международному прогностическому индексу. Средний возраст больных индолентными НЛ составил 62 года; мужчины/женщины – 35/27. I стадия заболевания была диагностирована у 17 больных, II – у 10, III – у 7, IV – у 28. Распределение пациентов по общесоматическому статусу ВОЗ было следующим: 0 – 16,1 %, 1 – 32,3 %, 2 – 48,4 %, 3 – 3,2 %. Большинство больных (61,3 %) имели благоприятный прогноз по Международному прогностическому индексу. Оценку качества жизни проводили с помощью общего опросника SF-36.

Показатели качества жизни у больных агрессивными НЛ по всем шкалам опросника SF-36 были существенно (статистически значимо) ниже, чем у здоровых респондентов. Значительные различия между больными агрессивными НЛ и здоровыми респондентами также выявлены методом интегральных профилей [20]. Профиль качества жизни у больных агрессивными НЛ существенно сжат и деформирован по сравнению с профилем, соответствующим нормативным показателям качества жизни (рис. 2).

Среднее значение интегрального показателя (ИП) качества жизни у больных агрессивными НЛ составило 0,21 (стандартное отклонение σ 0,20), что в 2 раза ниже, чем соответствующее

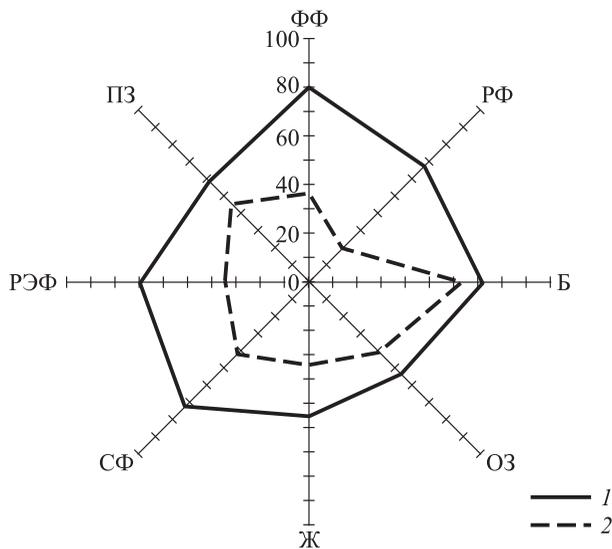


Рис. 2. Профиль качества жизни первичных больных агрессивными неходжкинскими лимфомами в сравнении с популяционной нормой. 1 – популяционная норма; 2 – больные агрессивными НЛ

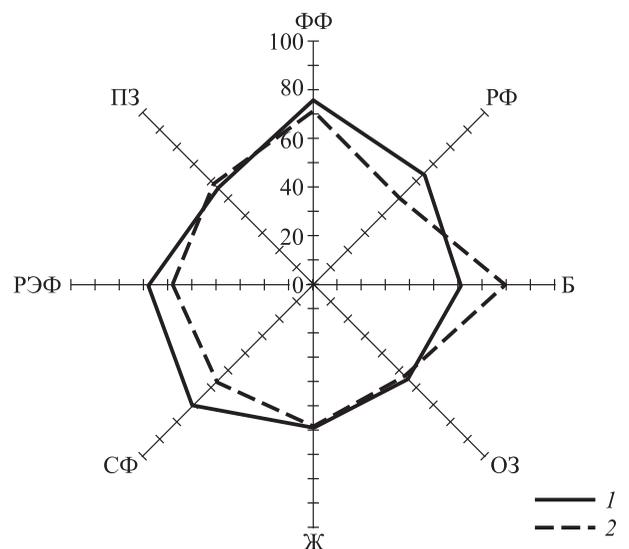


Рис. 3. Профиль качества жизни первичных больных индолентными неходжкинскими лимфомами в сравнении с популяционной нормой. 1 – популяционная норма; 2 – больные индолентными НЛ

значение в группе здоровых респондентов – 0,42 (σ 0,21). Различия были статистически значимы при $p < 0,001$.

Параметры качества жизни первичных больных индолентными НЛ не отличались от соответствующих показателей популяционной нормы. Статистически значимые отличия не выявлены ни по одной из шкал опросника SF-36. Профили качества жизни больных индолентными НЛ и здоровых респондентов были сходными (рис. 3). Средние значения ИП качества жизни у больных и здоровых также не отличались: 0,39 (σ 0,27) и 0,38 (σ 0,20) соответственно.

Стратификацию больных согласно градациям снижения ИП качества жизни проводили отдельно в группах агрессивных НЛ и индолентных НЛ. Как для агрессивных, так и для индолентных НЛ выделено пять групп больных в зависимости от степени снижения ИП качества жизни. Распределение первичных больных агрессивными и индолентными НЛ по группам, отличающимся по степени снижения ИП качества жизни, существенно отличалось у пациентов с различными видами лимфом (рис. 4, а).

У больных агрессивными НЛ половина больных имела либо критическое (39 %), либо значительное (13 %) снижение ИП качества жизни. У 17 % больных наблюдалось умеренное снижение ИП качества жизни; у 12 % – незначительное. И, наконец, у 20 % первичных больных агрессивными НЛ ИП качества жизни соответствовал популяционной норме. Напротив, в группе индолентных НЛ большинство больных

(69 %) не имели снижения ИП качества жизни. Значительное и критическое снижение ИП качества жизни было зарегистрировано у небольшого количества больных: 5 и 7 % пациентов соответственно (рис. 4, б).

Отметим, что средние значения ИП качества жизни существенно различались в группах с различной степенью снижения данного показателя. Особого внимания заслуживают чрезвычайно низкие значения ИП качества жизни в группе с его критическим снижением у больных как агрессивными, так и индолентными НЛ – среднее значение показателя в этой группе практически в 10 раз меньше, чем в группе с незначительным снижением ИП качества жизни (соответственно 0,03 и 0,34 для агрессивных НЛ, 0,04 и 0,30 для индолентных НЛ) и в несколько раз меньше, чем в группе с умеренным снижением ИП качества жизни (соответственно 0,03 и 0,21 для агрессивных НЛ, 0,04 и 0,19 для индолентных НЛ).

Полученные данные свидетельствуют о наличии феномена гетерогенности популяции больных НЛ в зависимости от значения ИП качества жизни. Важным представляется факт устойчивого распределения выборки пациентов как с агрессивными, так и с индолентными НЛ на пять групп в зависимости от градации снижения ИП качества жизни. При этом тип распределения больных согласно степени снижения ИП качества жизни существенно различается у пациентов с индолентными и агрессивными лимфомами. В группе индолентных

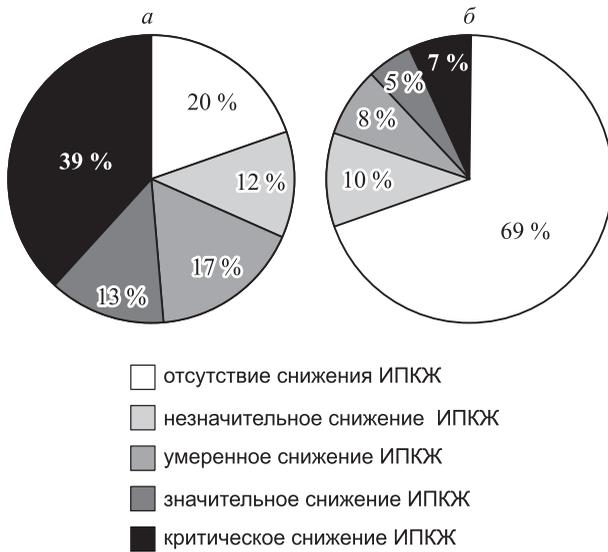


Рис. 4. Распределение первичных больных агрессивными (а) и индолентными (б) лимфомами в зависимости от степени снижения ИП качества жизни. ИПКЖ – интегральный показатель качества жизни

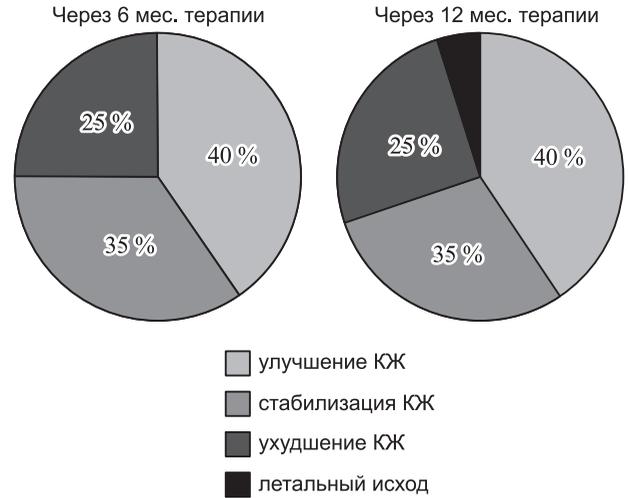


Рис. 5. Распределение больных согласно ответу на лечение, связанному с качеством жизни, у больных хроническим миелолейкозом через 6 и 12 мес. терапии дазатинибом. КЖ – качество жизни

НЛ большинство пациентов не имели снижения ИП качества жизни; критическое или значительное снижение качества жизни характерно для небольшого количества больных. В группе агрессивных лимфом только у 20 % больных отсутствовало снижение ИП качества жизни; более половины пациентов имели либо значительное, либо критическое снижение ИП качества жизни. Выявленные различия в распределении больных индолентными и агрессивными лимфомами в группах в зависимости от снижения ИП качества жизни логично отражают биологические особенности сравниваемых видов лимфоидных опухолей. Применение нового подхода, основанного на расчете ИП качества жизни, позволяет стратифицировать популяцию больных НЛ и выявить особенности их распределения согласно градациям снижения качества жизни при различном течении заболевания.

В другом многоцентровом проспективном исследовании «Показатели качества жизни и профиль симптомов у больных хроническим миелолейкозом на фоне лечения при резистентности или непереносимости ранее проводившейся терапии, включавшей иматиниб», инициированном Межнародным центром исследования качества жизни в 2011 г., проводили комплексную оценку эффективности терапии, включающую определение клинического ответа и ответа на лечение, связанного с качеством жизни.

На сентябрь 2012 г. в программу было включено 55 больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ), имеющих резистентность или не-

переносимость ранее проводившейся терапии, включавшей иматиниб. Закончили мониторинг в рамках программы 19 больных, выбыли 4 человека по следующим причинам: отсутствие эффекта – 1; отказ пациента от лечения из-за побочных эффектов – 1; летальный исход – 2. Доза дазатиниба составила 100 мг/сут у 87 % пациентов. Продолжительность мониторинга одного больного составила 12 мес.; обследование больных проводили до начала второй линии терапии, через 1, 3, 6 и 12 мес. после начала терапии. Качество жизни оценивали с помощью общего опросника SF-36, симптомы – с помощью опросника MDASI.

Гематологический (ГО) и цитогенетический (ЦО) ответ на терапию дазатинибом зарегистрирован у большинства пациентов, распределение было следующим: полный ГО – 19 человек (90 %), частичный ГО – 1 (5 %), отсутствие ГО – 1 (5 %); полный ЦО (0 % метафаз Ph+) – 7 пациентов (35 %), частичный ЦО – (1–35 % метафаз Ph+) – 10 (50 %), отсутствие ЦО – (≥ 95 % метафаз Ph+) – 3 (15 %). В процессе терапии дазатинибом происходило улучшение качества жизни больных. У большинства пациентов зарегистрирован ответ на лечение, связанный с качеством жизни, в виде улучшения или стабилизации (рис. 5), а также отмечено снижение или стабилизация выраженности актуальных симптомов (слабость, потливость в покое, мышечные спазмы, отеки). Количество больных с критическим и значительным ухудшением качества жизни в процессе терапии уменьшалось (рис. 6).

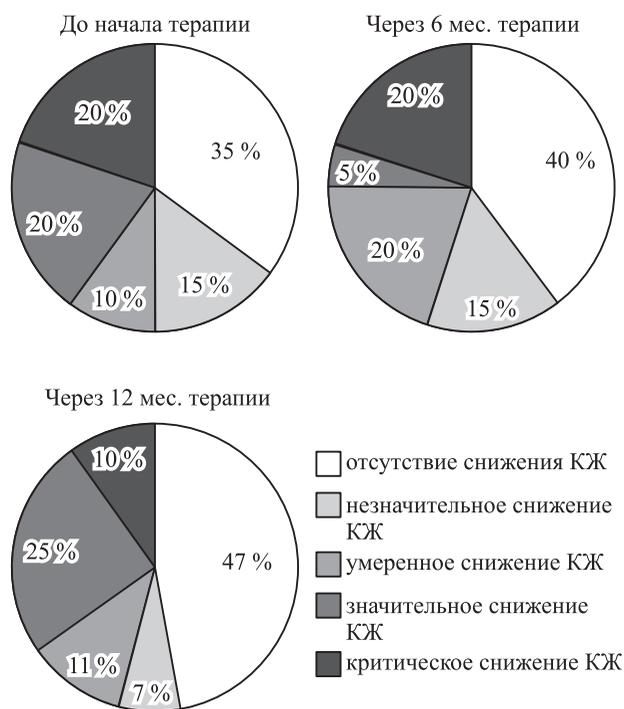


Рис. 6. Распределение больных хроническим миелолейкозом в зависимости от степени снижения ИП качества жизни в разные сроки терапии дазатинибом

Полученные предварительные данные свидетельствуют об эффективности второй линии терапии у больных ХМЛ при резистентности к иматинибу как с точки зрения объективных показателей, так и с точки зрения оценок, данных пациентом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большинство экспертов признают, что при хронических заболеваниях основной целью лечения является улучшение **качества жизни** больного. Не отрицая важность исследования традиционных клинических параметров, следует обратить внимание на оценку ответа на лечение с точки зрения параметров качества жизни больного. В этой связи при оценке результатов лечения больных со злокачественными заболеваниями крови, наряду с клиническими критериями, целесообразно использовать интегральный показатель качества жизни, который позволяет измерить степень нарушения ключевых функций больного и отражает его физическую, психическую и социальную адаптацию. В клинической онкогематологии оценка качества жизни пациента приобретает особое значение, оно положено в основу новой парадигмы по-

нимания болезни и больного и определения эффективности методов лечения.

Системный мониторинг состояния больного со злокачественным заболеванием крови предполагает применение дихотомической модели, включающей оценку клинического ответа и ответа, связанного с качеством жизни. Клинический ответ основан на объективных показателях – физикальных, лабораторных и инструментальных данных; ответ, связанный с качеством жизни, базируется на субъективных данных, включающих оценку функционирования больного, сделанную им самим.

Исследование качества жизни – простой, надежный и эффективный инструмент оценки состояния больного со злокачественным заболеванием крови до лечения, в ходе противоопухолевой терапии и в периоде ремиссии. Хорошо разработанная, основанная на международных стандартах методология обеспечивает 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 в онкогематологии показывает, что это исключительно перспективный метод, открывающий новые возможности точного описания и измерения многоплановых функциональных нарушений у больных гемобластозами, связанных с заболеванием и его лечением, и позволяющий вернуться на новом витке эволюции к важнейшему принципу клинической практики «лечить не болезнь, а больного».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ASCO. Outcomes of cancer treatment for technology assessment and cancer treatment guidelines // J. Clin. Oncol. 1996. 14. (3). 671–679.
2. US Food and Drug Administration: Guidance for Industry. Patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims. Available from website U.S. FDA, Clinical/Medical; 2009.
3. Новик А.А., Ионова Т.И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине (3-е изд., перераб. и доп.) / Ред. Ю.Л. Шевченко. М.: РАЕН, 2012. 528 с.
4. Gorodokin G., Novik A. Quality of cancer care // Ann. Oncol. 2005. 16. (6). 991.
5. Moskowitz C.H. An update on the management of relapsed and refractory Hodgkin's Lymphoma // Semin. Oncol. 2004. 31. 54–59.
6. Moskowitz C.H. Outcome of patients with primary refractory HD treated with high dose com-

bined modality therapy and ASCT // Br. J. Haematol. 2004. 124. 645–652.

7. Tannock I.F. Treating the patient, not just the cancer // N. Engl. J. Med. 1987. 317. 1534–1535.

8. Ионова Т.И., Рыков И.В., Калядина С.А. Популяция больных гемобластозами гетерогенна по интегральному показателю качества жизни // Вестн. Межнац. центра исследования качества жизни. 2007. (9–10). 99–108.

9. Bertero C., Eriksson B.E., Ek A.C. Explaining different profiles in quality of life experiences in acute and chronic leukemia // Cancer Nurs. 1997. 20. (2). 100–104.

10. Coates A.S., Porzsolt F., Osoba D. Quality of life in oncology practice: prognostic value of EORTC QLQ–C30 scores in patients with advanced malignancy // Eur. J. Cancer. 1997. 33. 1025–1030.

11. Dancey J., Zee B., Osoba D. Quality of life scores: an independent prognostic variable in a general population of cancer patients receiving chemotherapy // Can. Med. Assoc. J. 1996. 10. 225–230.

12. Gulbrandsen N., Hjermstad M.J., Wisloff F. Interpretation of quality of life scores in multiple myeloma by comparison with a reference population and assessment of the clinical importance of score differences // Eur. J. Haematol. 2004. 72. (3). 172.

13. Wisloff F., Hellstrom-Lindberg E., Lindberg G. et al. A validated decision model for treating the anemia of myelodysplastic syndromes with erythropoietin and G-CSF – significant effects on quality of life // Br. J. Haematol. 2003. 120. 1037–1046.

14. Hwang S.S., Scott C.B., Chang V.T. et al. Prediction of survival for advanced cancer patients by recursive partitioning analysis: role of Karnofsky performance status, quality of life, and symptom distress // Cancer Invest. 2004. 22. 678–687.

15. 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.

16. Novik A.A., Ionova T.I., Povzun A.S. et al. Quality of life of in patients with different types of leukemia // Qual. Life Res. 2000. 9. (3). 294.

17. Novik A., Ionova T., Kishtovich A. Heterogeneity of new lymphoma patients in terms of quality of life parameters // Blood. 2003. 22. 302.

18. Sedman A.D., Porteney R., Yao T.J. et al. Quality of life in Phase II Trials: a study of methodology and predictive value in patients with advanced breast cancer treated with Paclitaxel plus granulocyte colony stimulating factor // J. Nat. Cancer Inst. 1995. 87. 1316–1322.

19. Guidelines. Patient-reported outcomes in hematology. Eds. A. Novik, S. Salek, T. Ionova. Genoa: Forum service editore, 2012.

20. Ионова Т.И. Концептуальные и методологические аспекты исследования качества жизни в онкогематологии: автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб., 2009.

MODERN ISSUES OF LIFE QUALITY RESEARCH IN HAEMATOLOGY

Tatiana Ivanovna IONOVA

National Medical and Surgical Center named after N.I. Pirogov
198103, St. Petersburg, Fontanka river embankment, 154

Quality of life assessment before, during and after treatments is a valid, reliable and simple way to evaluate functioning of patients with malignant blood diseases from patient's perspective. Systemic monitoring of treatment outcomes in hematological patients presumes the use of dichotomous model which includes evaluation of clinical response and quality of life treatment response. Clinical response is based on objective data, namely biological and clinical parameters, quality of life treatment response – on subjective data, coming directly from the patient. Within the national multicenter prospective study «Quality of life parameters and symptom profile in chronic myeloid leukemia patients with imatinib resistance or intolerance during second line treatment» clinical response and quality of life treatment response were evaluated. 55 chronic myeloid leukemia patients with imatinib resistance or intolerance have been included in the program. Hematological and cytogenetic response to dasatinib treatment was obtained in the majority of patients. Quality of life improvement during treatment was registered as well. The majority of patients exhibited quality of life treatment response in terms of improvement or stabilization. The preliminary data obtained demonstrate the efficacy of dasatinib second line therapy in chronic myeloid leukemia patients both from physician's and patient's perspective.

Key words: quality of life, oncohaematology, patients, imatinib, lymphoma.

Ionova T.I. – professor of the chair for haematology and cell therapy, head of the department for quality of life monitoring, e-mail: tation16@gmail.com

ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ г. НОВОСИБИРСКА

Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА², Любовь Анатольевна ШПАГИНА¹,
Ирина Николаевна НЕЧУНАЕВА¹, Игорь Борисович КОВЫНЕВ¹

¹ ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет
Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

² МБУЗ Городская клиническая больница № 2, Городской гематологический центр
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 21

Оказание специализированной гематологической помощи связано с социально-экономическими реформами в области здравоохранения. Развитие гематологии на базе многопрофильного стационара, формирование амбулаторно-поликлинического гематологического приема, подготовка высококвалифицированных кадров, развитие научных направлений и организация специализированных лабораторий позволяют выйти на передовые позиции в решении фундаментальных и клинических задач, что способствует достижению высокого качества диагностики и лечения, своевременной выявляемости опухолевых и неопухолевых заболеваний системы крови, снижению смертности больных от гемобластозов.

Ключевые слова: гематология, специализированная гематологическая помощь, этапная система лечения.

В течение последних десятилетий реформирование здравоохранения шло по пути углубления специализации медицинской помощи, что обусловило дальнейшее развитие ее узкоспециализированных видов, в том числе и гематологической [2, 4, 7].

Формирование специализированных служб Новосибирской области и города Новосибирска относится к периоду с 1964 по 1970 г., когда началось строительство и реорганизация крупных многопрофильных больниц, способных обеспечить специализированную медицинскую помощь; организация специализированных кабинетов, отделений и центров; оснащение их современной медицинской техникой; приоритетное развитие профилактики и амбулаторно-поликлинических служб [1]. Структура специализированных центров предполагала сбалансированные этапы медицинской помощи: амбулаторно-поликлинического, госпитального, реабилитационного звеньев, палат и отделений интенсивной терапии.

Гематологическая помощь жителям г. Новосибирска относится к специализированным видам помощи. Служба была организована в сентябре 1964 года. Инициаторами развития дан-

ного направления явились заведующий кафедрой госпитальной терапии член-корреспондент РАМН, профессор Аристарх Александрович Демин и главный врач Городской клинической больницы № 2 к.м.н. Яков Вениаминович Каллика, при участии которых в терапевтическом отделении многопрофильной больницы были выделены койки для госпитализации больных с заболеваниями крови [3, 6]. Первым куратором отделения была ассистент кафедры госпитальной терапии лечебного факультета Новосибирского медицинского института Марина Марковна Дегтярева.

А годом раньше, в сентябре 1963 г., в Областной клинической больнице было открыто гематологическое отделение на 30 коек, где первой заведующей отделением стала ассистент кафедры госпитальной терапии Мария Ильинична Лосева.

В последующем деятельность гематологической службы регламентируется приказами Министерства здравоохранения СССР от 20.06.1967 № 490 «О мерах по улучшению медицинской помощи больным с заболеваниями крови» и от 27.11.1967 № 356 «О мерах по дальнейшему улучшению гематологической помо-

Поспелова Т.И. – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии, e-mail: post_gem@mail.ru

Шпагина Л.А. – д.м.н., проф., главный врач

Нечунаева И.Н. – к.м.н., зав. отделением гематологии, e-mail: nechir@mail.ru

Ковынев И.Б. – д.м.н., проф. кафедры терапии гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ

щи населению РСФСР» [5]. Согласно данным приказам, с 1968 г. начала расти сеть гематологических кабинетов. Если в 60–70-е годы в г. Новосибирске обеспеченность гематологическими койками составляла 0,15 на 10000 взрослого населения при среднем по РСФСР 0,5 и амбулаторно-консультативная помощь была недостаточной – гематологический прием осуществлялся врачами отделения в вечернее время, то в последующем был выделен прием на 0,5–1 ставку врачами-гематологами амбулаторно-поликлинического звена в дневное время. Одновременно началась выписка бесплатных лекарственных препаратов гематологическим больным.

Следует отметить, что научные исследования в области клинической гематологии и подготовка кадров врачей-гематологов и цитологов начались еще до открытия отделения. Под руководством профессора А.А. Демина развивались научные направления по изучению эпидемиологии, патогенеза, диагностики и лечения гемобластозов, анемий и патологии гемостаза. Была выполнена целая серия научных исследований в гематологии: Ал.А. Демин – «Нуклеиновые кислоты в терапии гемобластозов», М.И. Лосева – «Опухолевая прогрессия при лимфогранулематозе», М.М. Дегтярева – «Мегакариопоз при миелопролиферативных заболеваниях», А.С. Логвиненко – «Эпидемиология гемобластозов в Новосибирской области», Н.В. Метелкиной исследованы хромосомные изменения в патологических клетках при острых лейкозах, хроническом миелолейкозе и лимфогранулематозе. В.А. Балашовым изучен белковый, аминокислотный обмен при лимфогранулематозе. Особый вклад в развитие Новосибирской гематологии внесла Л.Д. Сидорова, изучив особенности острого лейкоза у жителей Западной Сибири. Итогом явилась защита в 1968 году докторской диссертации на тему: «Острый лейкоз: клиника, диагностика, лечение».

Все эти работы позволили установить морфологические, цитогенетические, биохимические механизмы прогрессии опухолевого процесса при гемобластозах, разработать критерии прогноза, оценить значение различных методов диагностики опухолевых заболеваний крови.

Новый этап развития гематологической службы относится к 1990 году, когда с целью совершенствования медицинской помощи гематологическим больным г. Новосибирска, во исполнение Приказа МЗ СССР от 16.11.88 № 824 и решения коллегии управления здравоохранения облисполкома от 28.02.90 «О мерах по дальнейшему совершенствованию качества медицин-

ской помощи больным с заболеваниями системы крови», был создан Городской гематологический научно-практический центр. Количество коек в стационаре было увеличено до 30 за счет перепрофилирования терапевтических коек, а также был организован поликлинический прием гематологических больных в две смены на базе поликлинического отделения Городской клинической больницы № 2. Для обеспечения работы Гематологического центра были открыты иммунологическая, цитологическая лаборатории и лаборатория гемостаза.

Основными задачами Гематологического центра являлись: организация лечебно-профилактической помощи пациентам с заболеваниями крови; совершенствование лечебно-диагностического процесса на всех этапах диагностики и реабилитации больных; оказание и организация специализированной консультативной помощи населению города; повышение квалификации врачей-гематологов путем проведения семинаров, конференций, участия в декадах; ознакомление и внедрение новых достижений науки в практику; проведение в учреждениях практического здравоохранения организационно-методической работы, направленной на снижение заболеваемости и смертности, улучшение раннего выявления заболеваний крови; проведение научно-исследовательской работы в области гематологии, руководство НИР врачей лечебных учреждений, участие в программах профилактики заболеваний крови; подготовка и повышение квалификации работников профилактического здравоохранения.

Заведовали терапевтическим отделением МКБ № 2, в котором были развернуты гематологические койки: Е.В. Васильева (1953–1971 гг.), Т.Ф. Шубникова (1971–1975 гг.), В.А. Улыбина (1975–1986 гг.), к.м.н. Д.Ю. Фридлянд (1986–1990 гг.), А.Г. Цветков (1990–2002 гг.). С 2002 г. и по настоящее время отделением гематологии руководит к.м.н. Ирина Николаевна Нечунаева.

Первые врачи-гематологи г. Новосибирска: В.А. Кабардина, М.М. Дегтярева, Л.Ю. Зюбина, В.А. Улыбина, Т.Ф. Шубникова, А.П. Минеева, Т.И. Поспелова, Т.С. Гребнева, Л.М. Маслова.

Таким образом, обеспеченность гематологической койкой в г. Новосибирске с 0,15–0,3 на 10000 населения в 1964–1970 гг. повысилась до 0,8 в 1990 г., город получил развернутую амбулаторно-поликлиническую сеть, что позволило сделать специализированную помощь доступной населению.

С января 1993 г. приказом начальника Управления здравоохранения мэрии открыто гематологическое отделение на 60 коек. С 1990 по

2001 г. главным гематологом г. Новосибирска была проф. М.И. Лосева, под руководством которой проведено структурное оформление гематологической службы, сформирована Сибирская школа врачей-гематологов, а также продолжены научные исследования по многим направлениям в гематологии. Так, были выполнены работы по исследованию распространенности, патогенеза и лечения железодефицитных анемий (ЖДА) в Новосибирской области (Н.П. Карева) и городе Новосибирске (О.В. Сазонова). В клинико-экспериментальном исследовании, посвященном тяжелой постгеморрагической железодефицитной анемии, выполненном Т.И. Поспеловой и Т.А. Агеевой, показано, что глубокий дефицит железа сопровождается активацией перекисного окисления липидов, истощением антиоксидантной системы, повышением уровня лизосомальных ферментов, глубокими морфологическими изменениями печени. На основе этих исследований был разработан оригинальный способ лечения тяжелых анемий, подтвержденный авторским свидетельством и патентом.

Л.А. Шпагиной изучены механизмы формирования, клинические, диагностические и терапевтические особенности анемии при длительном контакте с органическими растворителями. Механизмы формирования и частота встречаемости висцеропатий при дефиците железа детально описаны в работе Л.Ю. Зюбиной. Патогенез анемии при гнойно-воспалительных заболеваниях у детей был рассмотрен М.К. Соболевым.

Анализ заболеваемости и смертности населения г. Новосибирска от гемобластозов в зависимости от загрязнения окружающей среды лег в основу кандидатской диссертации Е.В. Соленко. Показан рост заболеваемости почти в 2 раза за 10 лет и изменение структуры болезней крови. Все эти научные работы завершены решением крупных задач, разработкой методов диагностики и лечения, результаты внедрены в работу лечебно-профилактических учреждений города и области.

Развитие иммунологии в 70–80-е годы определило необходимость проведения исследований для выяснения роли иммунных нарушений в патогенезе опухолевых заболеваний крови. Начало развиваться новое направление в гематологии. Д.Ю. Фридляндом показано раннее формирование Т-клеточного дефицита и возможности коррекции этих нарушений при лимфогранулематозе. Клинико-экспериментальное исследование состояния пролиферации и дифференцировки стволовых кроветворных клеток при лейкозогенезе проведено И.А. Лисуковым.

Впервые И.Б. Ковынев исследовал субпопуляции Т- и В-лимфоцитов при неходжкинских лимфомах. Оценку функционального состояния киллерных клеток периферической крови и костного мозга у больных неходжкинскими лимфомами дал А.Д. Кулагин.

Важной для гематологии является проблема отдаленных последствий противоопухолевой терапии гемобластозов. Т.И. Поспеловой изучены клинико-функциональные и морфологические особенности поражения печени у больных гемобластомами на этапах полихимиотерапии и в период ремиссии. Полученные данные явились основой для разработки реабилитационной программы пациентам, завершившим ПХТ.

Г.С. Солдатовой проведено функционально-морфологическое исследование желудка и кишечника у больных гемобластомами. Л.А. Пуртова описала клинико-функциональные особенности сердечно-сосудистой системы у пациентов с системными заболеваниями крови. Е.В. Зенкова выявила изменения эндокринной системы у больных лимфомами на этапе индукции ремиссии и в отдаленный период. По результатам этих исследований были защищены докторские и кандидатские диссертации.

Таким образом, проведенные исследования позволили оценить отдаленные токсические и лучевые последствия у больных гемобластомами и разработать программы терапии сопровождения и реабилитации.

Одновременно шла подготовка и переподготовка врачей по диагностике болезней крови (приказ комитета по здравоохранению мэрии г. Новосибирска от 17.01.1995 № 26 «О дальнейшем развитии и укреплении гематологической службы г. Новосибирска»). Следует отметить, что гематология в г. Новосибирске развивалась при тесном творческом сотрудничестве с ведущими гематологическими центрами страны (Гематологическим научным центром РАМН, Российским Онкологическим научным центром РАМН им. Н.Н. Блохина, Российским НИИ гематологии и трансфузиологии). Врачи-гематологи получили подготовку по клинической гематологии и цитологической диагностике заболеваний крови в г. Москве и Санкт-Петербурге, что позволило выйти на современный уровень диагностики и лечения больных с заболеваниями системы крови в г. Новосибирске.

В то же время шло обучение и среднего медицинского персонала (ГНЦ РАМН г. Москва, РОНЦ им. Н.Н. Блохина, г. Санкт-Петербург) по использованию химиотерапевтических препаратов в современной онкогематологии и особенностям выхаживания пациентов как во

время проведения курсовой ПХТ, так и в послекурсовом периоде. В настоящее время более 60 % медицинских сестер имеют высшую квалификационную категорию и стаж работы в Центре 7–25 лет. Старшая медицинская сестра отделения гематологии Л.Г. Столярова имеет высшее сестринское образование по специальности «менеджер сестринского дела» и является победителем городского конкурса в номинации «Лучший средний медицинский работник года». В отделении гематологии была разработана и внедрена «сестринская история болезни» для динамического наблюдения и лечения пациентов боксированных палат. Многие годы помогают в лечебном процессе медицинские сестры М.Б. Уханова, Ю.В. Березина, С.В. Казакова, О.В. Шагабудинова.

Приказом Управления здравоохранения мэрии г. Новосибирска от 28.05.1997 № 186. «Об укреплении поликлинического звена городской гематологической службы и открытии районных гематологических кабинетов в г. Новосибирске» были организованы районные гематологические кабинеты из расчета 1 ставка врача-гематолога на 100 тыс. населения и с 01.06.97 были открыты кабинеты в 5 крупнейших поликлиниках города.

Городской консультативный гематологический кабинет был развернут в поликлиническом отделении МБУЗ ГКБ № 2 и рассчитан на три врачебных приема. Одновременно развивается сеть районных и межрайонных гематологических кабинетов, в которых начали прием врачи-гематологи О.В. Райнгард, Д.М. Ким, Н.В. Мороз, Г.Н. Добролюбова, Т.С. Гребнева, В.И. Анопоченко, С.М. Вавильченко. Руководит работой амбулаторно-поликлинического звена врач высшей категории Людмила Михайловна Маслова.

Амбулаторно-поликлиническое звено обеспечивает ежегодно более 8000 консультаций в межрайонных гематологических кабинетах поликлиник и более 13000 – в условиях городских консультативных кабинетов. В настоящее время оказывают консультативную и лечебно-диагностическую помощь врачи-гематологи: Е.В. Мельниченко, Н.Ю. Глушенкова, Ю.Н. Обголец. Выделение двух этапов позволило определить контингенты, которые нуждались в углубленном обследовании и специализированном лечении. Гематологическая служба имеет тесную связь со всеми лечебно-диагностическими учреждениями города, обеспечивая их консультативной помощью. Разработаны и внедрены в практику методические рекомендации по организации поэтапной системы оказания специализированной гематологической помощи пациентам с заболеваниями крови в г. Новосибирске.

Отделение гематологии является завершающим этапом в оказании специализированной помощи, где осуществляется противоопухолевая и иммуносупрессивная терапия; проводится подготовка к трансплантации костного мозга; идет внедрение новых технологий диагностики и лечения. Ежегодно в условиях стационара получают лечение около 1800 больных, из них гемобласты составляют более 80 %. Специализированную помощь оказывают врачи первой и высшей квалификационной категории: к.м.н. Г.В. Шамаева, А.В. Мишенин, М.В. Бурундукова, Т.В. Мельникова.

С 1998 г. под руководством главного врача МУЗ ГКБ № 2 А.И. Бельцовой и главного гематолога города проф. М.И. Лосевой начинает развиваться новое направление в диагностике гемобластозов – иммуно-(cito)морфологическое исследование опухолевых субстратов и костного мозга, идет подготовка специалистов. В 2002 г. приказом Управления здравоохранения мэрии на базе клинической больницы № 2 организован центр иммуноморфологической диагностики опухолей (врач-цитолог – И.Б. Ковынев, патоморфолог – Т.А. Агеева), что позволило значительно улучшить диагностику гемобластозов (неходжкинских злокачественных лимфом, острых лейкозов, множественной миеломы, лимфомы Ходжкина) в соответствии с требованиями классификации ВОЗ.

В 2002 г. в целях дальнейшего совершенствования специализированной медицинской помощи гематологическим больным в г. Новосибирске, координации деятельности специализированных гематологических кабинетов, упорядочения госпитализации профильных больных была утверждена новая структура Городского гематологического центра в составе гематологического отделения на 70 коек, трех городских консультативных гематологических кабинетов в поликлиническом отделении МУЗ КБ № 2, пяти межрайонных гематологических кабинетов (приказ Управления здравоохранения мэрии г. Новосибирска от 15.01.2002 № 28 «О реорганизации городского гематологического научно-практического центра»). Руководителем Центра назначена проф. Татьяна Ивановна Поспелова – ученица М.И. Лосевой, которая развивает как традиционные научные направления, изучавшиеся ранее, так и инициирует современные исследования, посвященные раскрытию молекулярно-биологических механизмов опухолевой прогрессии гемобластозов, связанных с достижениями молекулярной биологии, иммунологии и генетики.

Научными направлениями Городского гематологического центра являются: изучение механизмов развития минимальной резидуальной болезни у больных гемобластозами и путей ее преодоления; определение роли процессов апоптоза в возникновении рецидивов лейкозов и лимфом; оценка влияния типов метаболизма на переносимость полихимиотерапии и ее эффективность у больных гемобластозами; выявление особенностей вторичного миелодиспластического синдрома при гемобластозах; оценка качества жизни больных лимфомами и лейкозами; изучение особенностей анемического синдрома при лимфопрролиферативных заболеваниях и его коррекция эритропоэтинами.

Гематологическая служба в своем развитии всегда получала понимание и поддержку руководства города и, в частности, мэра г. Новосибирска В.Ф. Городецкого, первого заместителя мэра В.Н. Шумилова, руководителей Управления здравоохранения мэрии в разные годы (В.М. Чернышева, В.В. Степанова, А.А. Львова, Г.В. Рвачевой), главных врачей многопрофильного стационара, на базе которого располагается Городской гематологический центр (к.м.н. Я.В. Калика, заслуженный врач РФ А.И. Бельцова, проф. Л.А. Шпагина).

Большую роль в становлении и развитии гематологической службы города играла кафедра госпитальной терапии педиатрического факультета Новосибирского государственного медицинского университета, возглавляемая проф. М.И. Лосевой. Важной вехой в развитии гематологии явилось открытие в 2001 г. кафедры гематологии и трансфузиологии, которая объединила преподавание гематологии и трансфузиологии на одной кафедре, что создало условия для подготовки кадров, специалистов и для дальнейшего развития научных исследований в области гематологии и трансфузиологии.

За период 2001–2012 гг. были изучены иммунологический фенотип опухолей крови (И.Б. Ковынев), типы метаболизма у больных гемобластозами и их взаимосвязь с частотой развития осложнений (И.Н. Нечунаева), особенности цитокинового статуса при опухолях крови (Н.В. Скворцова), эритропоэтинчувствительные анемии (А.С. Лямкина), клинико-морфологическое состояние желудка у больных неходжкинскими лимфомами (Г.В. Шамаева), морфофункциональные особенности строения слизистой желудка у больных ЖДА (Г.Ю. Ушакова), механизмы опухолевой прогрессии гемобластозов, роль нарушений апоптоза (Е.Н. Воропаева), определен вклад генов фолатного цикла в предрасположенность к развитию неходжкинских

лимфом (О.В. Березина), изучены изменения нутритивного статуса и влияние на него полихимиотерапии (О.С. Иванчей), оценено качество жизни больных опухолевыми заболеваниями крови (Л.Н. Грицай), особенности гепатолитического кровотока у больных гемобластозами (В.Д. Коптев), цитологические маркеры вторичного миелодиспластического синдрома при опухолевых заболеваниях крови (Н.Ю. Дьячкова), клиническое течение и частота встречаемости вирусных гепатитов у пациентов с системными заболеваниями крови (Д.А. Осипов) и др. За этот период защищено более 20 кандидатских и докторских диссертаций.

Сотрудники кафедры – гематологи и трансфузиологи: д.м.н. И.Б. Ковынев, к.м.н. Н.В. Скворцова, к.м.н. А.С. Лямкина, к.м.н. Л.Н. Грицай, к.м.н. О.В. Березина, к.м.н. О.С. Иванчей, А.А. Гребенюк.

Сотрудники кафедры всегда придавали особое значение подготовке и воспитанию врачей-гематологов и цитологов. Первичную специализацию и циклы усовершенствования проходят не только врачи-гематологи и трансфузиологи г. Новосибирска, но и врачи Сибирского федерального округа. В настоящее время среди гематологов города работают 5 докторов медицинских наук, 9 кандидатов медицинских наук, в том числе – 3 практических врача. Высшую квалификационную категорию имеют 9 гематологов и первую – 5 врачей. Сотрудники Центра неоднократно являлись победителями городского конкурса на лучшего специалиста в номинации «гематология».

В мае 2009 г. лицензирован Региональный центр высоких медицинских технологий, принципом создания которого было объединение методов исследования различного уровня на одной территории и повышение качества диагностики болезней крови. В состав лаборатории входит гистологическая и цитологическая линейка фирмы «Leica», цитогенетические, FISH-исследования, ПЦР-диагностика, протеомика (электрофорез белков и иммунофиксация). Специалистами центра (патоморфолог – проф. Т.А. Агеева, цитологи – М.Б. Кудрявцева, врач-генетик Гилярова М.В.) проводится цитогенетическое, иммуноцитохимическое и гистохимическое исследование биопсированного материала и костного мозга. Такое объединение позволило качественно улучшить диагностику опухолевых заболеваний системы крови, поскольку основным является принцип коллегиального обсуждения результатов исследования одного больного специалистами различного профиля.

С 2000 г. в Городском гематологическом центре осуществляется химиотерапия с использованием моноклональных антител, аналогов нуклеозидов, ингибиторов тирозинкиназ и протеасом, факторов свертывания крови, что, безусловно, улучшило результаты лечения больных. Немаловажную роль в этом сыграла система дополнительного лекарственного обеспечения больных и программа «7 нозологий», осуществляемая на амбулаторном этапе с 2008 г. Данный принцип работы гематологического Центра позволяет эффективно проводить наблюдение за больными, планировать потребность в дорогостоящих лекарственных средствах, контролировать выписку рецептов и эффективность проводимой терапии, а также при необходимости вовремя изменять тактику ведения больного. Совместно с гематологами Областной клинической больницы (зав. отделением – проф. Н.П. Домникова) и руководителем областного центра для лечения больных гемофилией и болезнью Виллебранда к.м.н. И.А. Блажиевич ежегодно проходит защита заявки на дорогостоящие лекарственные препараты по программе «7 нозологий» в Министерстве здравоохранения РФ.

Компьютерная база архива историй болезней, созданная в 1990 г., позволяет анализировать в динамике состояние и клинико-лабораторные показатели больных, проводить статистическую обработку медицинской документации.

Большая работа проводится по проведению ежегодных городских и межрегиональных научно-практических конференций с привлечением ведущих специалистов из гематологического и онкологического центров г. Москвы, повышению квалификации специалистов на факультете усовершенствования врачей Новосибирского государственного медицинского университета, проведению дней гематолога, гематологических обществ, на которых разбираются актуальные проблемы гематологии, интересные клинические случаи, докладываются материалы конференций и съездов гематологов, предоставляется информация о новых лекарственных препаратах. Сотрудники Центра неоднократно являлись победителями грантов на приоритетные медицинские исследовательские проекты, в том числе и на право получения грантов Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых.

Сотрудниками Центра проводится большая общественная работа: отработан сценарий и проведен ряд акций «Гемоглобин – показатель здоровья». Участникам акции проводится определение гемоглобина, ведущими специалистами в области гематологии читаются лекции

для больных по проблеме малокровия, при наличии показаний проводится консультация врача-гематолога. Нуждающимся предоставляются бесплатные очереди для обследований с целью уточнения генеза анемического синдрома.

Ежегодно проводятся школы для больных хроническим миелолейкозом, множественной миеломой, гемофилией, на которых рассматриваются причины и факторы риска развития данных заболеваний, их клинические проявления и лечение, обсуждаются социальные проблемы, побочные эффекты проводимой терапии, даются ответы на все интересующие вопросы пациентов.

В настоящее время в Городском гематологическом центре ведется 5 регистров гематологических больных (хронический миелолейкоз, множественная миелома, острый лейкоз, гемофилия, орфанные заболевания), что позволяет осуществлять более динамичное наблюдение за больными и служит основой для планирования лекарственного обеспечения данной категории больных. Созданы общества больных гемофилией и онкогематологических пациентов, способствующие их социальной реабилитации.

Развитие научных исследований и внедрение современных лечебных и диагностических технологий на современном этапе развития фундаментальной и клинической медицины возможно только при условии постоянного обмена знаниями, совершенствования диагностических и лечебных технологий, подготовки специалистов. Поэтому развитие связей новосибирских гематологов с гематологическими и онкологическими центрами Москвы, Санкт-Петербурга, Кирова, с зарубежными центрами, учреждениями СО РАМН является одной из важнейших задач, которая решается путем проведения региональных научно-практических конференций с участием ведущих специалистов страны. Это позволяет ускорить внедрение новых достижений в практическую деятельность гематологических подразделений.

Большая дружба и научное сотрудничество связывают гематологов г. Новосибирска с Гематологическим научным центром: под руководством главного гематолога Минздрава РФ, академика РАМН, профессора В.Г. Савченко и д.м.н. Е.Н. Паровичниковой были разработаны и внедрены в практику дифференцированные программы лечения острых лейкозов, множественной миеломы (д.м.н. Л.П. Менделеева), проводятся многоцентровые исследования, объединившие гематологические центры страны, отработана сопроводительная терапия при микозах и фебрильных нейтропениях (д.м.н. Г.А. Клясо-

ва), а также подходы к лечению хронического миелолейкоза (проф. А.Г. Туркина, д.м.н. О.Ю. Виноградова) и первичного миелофиброза (проф. Н.Д. Хорошко), проведено 18 эндопротезирований крупных суставов у больных гемофилией под руководством и при непосредственном участии д.м.н. В.Ю. Зоренко

Многие годы гематологи работают в тесном сотрудничестве с ведущими специалистами РОНЦ г. Москвы: чл.-кор. РАМН, проф. И.В. Поддубной, координирующей в стране научные исследования в области злокачественных лимфом, являющейся организатором ежегодных конференций и лимфорумов, посвященных проблемам лимфопролиферативных заболеваний; д.м.н. Е.А. Деминой – известным в нашей стране специалистом по лечению лимфомы Ходжкина; д.м.н. Г.С. Тумян, разрабатывающей вопросы теории и терапии неходжкинских лимфом; к.м.н. О.М. Вотяковой, занимающейся изучением патогенеза и современного лечения множественной миеломы и других парапротеинемических гемобластозов.

Не менее плодотворным является сотрудничество с ведущими специалистами Российского НИИ гематологии и трансфузиологии г. Санкт-Петербурга – проф. К.М. Абдулкадыровым, являющимся руководителем гематологической клиники, проф. С.С. Бессмельцевым, возглавляющим научно-исследовательскую работу института, д.м.н. И.С. Мартынкевич, занимающейся цитогенетическими и молекулярными исследованиями в гематологии.

В тесном сотрудничестве с институтами СО РАМН и СО РАН (Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Институт терапии СО РАМН, Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, Институт биохимии СО РАМН, НИИ физиологии СО РАМН), кафедрами НГМУ была сформирована база для генетической, цитогенетической и молекулярно-биологической диагностики опухолей крови, запущены пилотные научно-исследовательские проекты, результаты которых получили положительную оценку научной общественности.

Сотрудничество с клиникой иммунопатологии НИИКИ СО РАМН (зав. отделением гематологии к.м.н. И.В. Крючкова), Кировским НИИ гематологии и переливания крови (руководитель гематологической клиники, к.м.н. Т.П. Загоскина), Институтом детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой г. Санкт-Петербург (директор – проф. Б.В. Афанасьев), Институтом гематологии ФЦСКЭ им. В.А. Ал-

мазова г. Санкт-Петербург (директор – проф. А.Ю. Зарицкий), позволяет проводить аутологичную и аллогенную трансплантацию костного мозга у больных гемобластомами.

Одним из ближайших партнеров городских гематологов является Новосибирский детский областной онкогематологический центр (заведующие отделением в разные годы – Н.И. Ревтова, В.Д. Злобина, в настоящее время – И.В. Пономарева), с которым связаны долгие годы сотрудничества и преемственности в лечении больных опухолевыми и неопухолевыми заболеваниями системы крови. Огромную помощь в гемотрансфузионном обеспечении гематологических больных оказывает Новосибирский Центр крови (главный врач – к.м.н. К.В. Хальзов).

В 2010 г. была создана Межрегиональная общественная организация «Ассоциация врачей-гематологов», объединяющая гематологов Новосибирского, Омского, Томского, Кемеровского, Алтайского регионов, являющаяся добровольным, самоуправляемым, некоммерческим формированием для достижения следующих целей: содействие развитию отечественной гематологии; содействие профессиональной консолидации, укреплению и развитию профессиональных связей и гуманитарных контактов между специалистами-гематологами; создание условий для наиболее эффективной реализации творческого потенциала членов Организации в интересах развития теории и практики медицины; представление законных интересов, содействие защите профессиональных, гражданских, социальных, авторских и смежных прав членов Организации; осуществление профессиональных и научных связей со специалистами и обществами других медицинских специальностей, развитие международных научных связей.

Под эгидой Ассоциации проведен ряд мероприятий с участием ведущих специалистов страны и приглашением гематологов региона.

В отделении гематологии с 2011 г. функционирует кабинет психологической разгрузки для пациентов, где проводится арттерапия, лепка, сеансы релаксации с визуализацией образа болезни и выделением типов психогенных реакций на болезнь, типов отношений к болезни, а также психологические сеансы с медицинским персоналом.

Таким образом, гематологическая служба г. Новосибирска прошла большой путь, накопила опыт, оформилась структурно в специализированную службу, обогатилась высококвалифицированными кадрами научных работников и врачей, в научных исследованиях вышла на

передовые позиции в решении фундаментальных и клинических задач, что позволило достичь высокого качества диагностики и лечения с использованием таргетных препаратов, своевременной выявляемости опухолевых и неопухолевых заболеваний системы крови, а также повышения эффективности профилактических мероприятий, направленных на скорейшее восстановление трудоспособности и социальной реабилитации гематологических больных.

Приоритетными направлениями развития гематологической службы г. Новосибирска на ближайшие годы будет являться дальнейшее изучение молекулярных механизмов возникновения и прогрессии заболеваний системы крови, совершенствование подходов к лечению гемобластозов под контролем молекулярно-биологического и иммунологического мониторинга их эффективности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чернышева В.М., Финченко А.Ф. История здравоохранения Новосибирска. Новосибирск, 2005. 591 с.
2. Кричагин В.И. Сколько стоит рост «медицинских вооружений» и какова эффективность затрат на высокие технологии в медицине // Главный врач. 1997. (5). 23–25.
3. Лосева М.И., Поспелова Т.И., Шпагина Л.А. и др. К 40-летию гематологической службы г. Новосибирска // Журнал клинической и экспериментальной медицины. 2004. (1-2). 6–9.
4. Муртазин З.Я. Организация центров специализированной медицинской помощи в субъекте Федерации. Уфа, 2002. 168 с.
5. Подгорных Л.К., Еременко Л.Л., Максимова Т.М. Пути развития специализированной гематологической помощи. Москва–Тверь, 2001. 179 с.
6. Сидорова Л.Д., Лосева М.И., Поспелова Т.И. Аристарх Александрович Демин и его ученики в становлении и развитии гематологического научного направления в Сибири // Журнал клинической и экспериментальной медицины. 2004. (1-2). 10–15.
7. Щетин О.П., Овчаров В.К. Здравоохранение России: стратегический анализ и перспективные направления развития // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2005. (2). 3–7.

THE HISTORY OF DEVELOPMENT OF HEMATOLOGICAL CARE SERVICE IN NOVOSIBIRSK

Tatyana Ivanovna POSPELOVA¹, Lyubov Anatol'evna SHPAGINA¹,
Irina Nikolaevna NECHUNAEVA², Igor Borisovich KOVINEV¹

¹ Novosibirsk State Medical University Minzdrava Russia
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52

² Municipal Clinical Hospital № 2, City Hematological Center
630051, Novosibirsk, Polzunov str., 21

Summary. Providing specialized hematology care is bound up with socio-economic reforms in the health protection. Development of hematology in multidisciplinary hospital, forming out-patient hematology hours, training skilled personnel, developing scientific fields and organizing specialized labs let reach the front lines of solving fundamental and clinical goals, that contribute to achieving a high quality of diagnosis and treatment, timely detection of tumor and non-neoplastic blood diseases, reducing mortality of patients with hematological malignancies.

Key words: hematology, specialized hematology care, stage therapeutic system.

Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor of the chair for therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

Shpagina L.A. – doctor of medical sciences, professor, chief physician

Nechunaeva I.N. – candidate of medical sciences, head of the department of hematology, e-mail: nechir@mail.ru

Kovinev I.B. – doctor of medical sciences, professor of the chair for therapy, hematology and blood transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

ИСТОКИ ДОНОРСКИХ АКЦИЙ «НАШ ДАР ВО ИМЯ ЖИЗНИ» СРЕДИ СТУДЕНТОВ ВУЗОВ г. НОВОСИБИРСКА

**Дмитрий Борисович ЧЕРНЯВСКИЙ¹, Анастасия Александровна ГРЕБЕНЮК²,
Ольга Сергеевна ИВАНЧЕЙ², Константин Васильевич ХАЛЬЗОВ³, Юлия Владимировна МООР³**

¹ ГБУЗ НСО Государственная Новосибирская областная клиническая больница
630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

² ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет
Минздрава России
630091, г. Новосибирск, ул. Красный пр., 52

³ ГБУЗ НСО «Новосибирский центр крови»
630054, г. Новосибирск, ул. Серафимовича, 2/1

В России, начиная с 1993 г., отметилась стойкая тенденция к сокращению общего количества доноров крови и плазмы. Проблема дефицита донорской крови изменила работу отдела комплектования донорских кадров Новосибирского центра крови, задачей которого являлось привлечение потенциальных доноров к даче крови и плазмы. Учитывая сложившиеся обстоятельства, привлечение к донорству молодежи рассматривалось как один из перспективных путей решения проблемы донорства в городе и области.

Ключевые слова: донор, студенты, привлечение доноров.

Каждый год в нашей стране открываются новые высокотехнологические медицинские учреждения, оказывающие специализированную медицинскую помощь населению. Общеизвестно, что использование многих новых хирургических, травматологических, терапевтических методов лечения невозможно без развития трансфузионной медицины, отвечающей современным требованиям и высоким стандартам качества [7]. Именно в трансфузионной терапии заложен принцип, заключающийся в том, что каждая трансфузия компонентов донорской крови должна быть абсолютно безопасной как для реципиента, так и для медицинского работника, проводящего гемокомпонентную терапию [5]. Безопасным компонентом донорской крови считается тот, который не содержит маркеры гемотрансмиссивных инфекционных заболеваний [4]. Получить кровь для производства гемокомпонентов можно только от доноров, при этом объемы оказания медицинской помощи в немалой степени зависят от количества доно-

ров. Оптимальным для обеспечения потребностей здравоохранения являются 40–60 доноров на 1000 населения. В странах Европы это количество, в среднем, составляет 40,2, в России этот показатель по стране не превышает 15,3, за исключением отдельных регионов, где сильны традиции донорского движения [2, 3], поэтому методы эффективного вовлечения населения в ряды доноров остаются актуальными.

Цель работы – оценить эффективность привлечения Новосибирским Центром крови студентов высших учебных заведений г. Новосибирска к донорской акции «Наш дар во имя жизни».

Исследование проведено среди студентов высших учебных заведений г. Новосибирска, участников донорской акции «Наш дар во имя жизни». В нем приняли участие студенты из 11 вузов г. Новосибирска: Государственный медицинский университет, Университет путей сообщения, Сибирская геодезическая академия, Новосибирский государственный университет,

Чернявский Д.Б. – врач отделения гравитационной хирургии и переливания крови,
e-mail: post_gem@mail.ru

Гребенюк А.А. – ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии, e-mail: post_gem@mail.ru

Иванчей О.С. – к.м.н., ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии,
e-mail: post_gem@mail.ru

Хальзов К.В. – к.м.н., главный врач Новосибирского центра крови

Моор Ю.В. – зам. главного врача по медицинской части Новосибирского центра крови

Академия государственной службы, Сибирский университет потребительской кооперации, Государственный архитектурно-строительный университет, Государственный педагогический университет, Государственный аграрный университет, Государственный технический университет, Государственный университет экономики и управления.

Исследование проводилось в несколько этапов. На первом этапе в 2001 г. сотрудники Новосибирского центра крови и работники кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии НГМУ провели анкетирование среди посетителей Центра крови. Результаты показали, что 50 % доноров были безработными, 30 % – рабочие, 10 % – служащие и 10 % – студенты. Мотивация в виде денежного поощрения интересовала 50 % доноров, 30 % давали свою кровь в качестве доноров-родственников, 10 % были заинтересованы в получении нагрудного знака «Почетный донор» и получении льгот, 8 % доноров давали свою кровь в связи с возможностью получения дополнительных оплачиваемых дней отдыха и только 2 % из альтруистических побуждений. На втором этапе была проведена работа по вовлечению студентов высших учебных заведений в донорство. Агитацией занимались работники отдела медицинского освидетельствования и комплектования донорских кадров Новосибирского Центра крови, которые участвовали в переговорах с профсоюзными студенческими комитетами о необходимости проведения на базе вуза «Дней донора». Положительный ответ служил сигналом к выезду руководителя выездной бригады в учебное заведение для встречи с ректором и представителями профсоюза студентов. На переговорах обсуждалась дата проведения «Дня донора», определялись помещения для развертывания временного пункта забора крови согласно всем требованиям, инструкциям, нормам и правилам. С представителями профсоюза студентов определялись мероприятия по пропаганде и агитации донорства среди учащихся.

На предложение работников Новосибирского Центра крови первыми откликнулись студенческие коллективы трех высших учебных заведений. Это были Новосибирский государственный технический университет (НГТУ), Сибирский государственный университет путей сообщения (СГУПС) и Новосибирская государственная медицинская академия (НГМА). Проведение донорской акции было намечено на весну 2003 г. Было запланировано по 2 «Дня донора» в каждом вузе. В помещениях этих учебных заведений был развернут временный пункт по забору донорской крови. Активную помощь

в этом мероприятии оказали сотрудники кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии НГМУ. Итогом мероприятия стало привлечение в ряды доноров 720 студентов, объем заготовленной крови превысил 300 л. Ход проводимых событий был широко освещен в средствах массовой информации. Весь объем заготовленной донорской плазмы был заложен на карантинизацию, что предопределило через 6 месяцев проведение повторных донорских акций «Наш дар во имя жизни» среди студентов высших учебных заведений [1, 6, 8].

Лидеры инициативных групп студентов, помогавшие организовывать выездные «Дни донора», изъявили желание учредить на базе Новосибирского центра крови местную общественную организацию «Линия жизни», целью которой была координация донорских акций «Наш дар во имя жизни» и вовлечение студентов в донорство. В структуры управления организации вошли делегаты от профсоюзных студенческих комитетов (инициативная группа вуза) и представители Центра крови. Был избран председатель общественной организации для эффективной координационной деятельности общественной организации по выбору стратегии развития донорства среди молодежи. Девиз организации «Линия жизни»: «Студент! Сделай шаг, – сдай кровь! И улыбнется кто-то вновь!»

Совершенствовалась агитационная работа, которая включала в себя комплекс мер, направленных на привлечение студентов к даче крови: 1. Накануне проведения студенческой донорской акции во все средства массовой информации рассылались пресс-релизы с целью освещения хода акции в СМИ. 2. Были разработаны и заготовлены плакаты, листовки и прочее наглядное пособие по проблеме донорства для привлечения студентов-доноров. 3. Со студентами-организаторами были проведены семинары по правилам комплектации донорских кадров, где освещались вопросы по показаниям и противопоказаниям к даче крови, что способствовало бы снижению количества отводов от донорства среди студентов. 4. Перед проведением «Дней донора» силами и средствами сотрудников Центра крови совместно со студентами-организаторами донорства были проведены лекции-семинары среди потенциальных доноров в вузах, где разъяснялась актуальность проведения донорских акций, освещались показания и противопоказания к даче крови или плазмы, давались ответы на все вопросы студентов о проблеме донорства.

Второй тур донорской студенческой акции «Наш дар во имя жизни» предварительно был

назначен на осень 2003 г. с учетом необходимости карантинизации донорской плазмы (180 дней). Для этого были реализованы следующие мероприятия: 1. Проведено общее собрание членов организации «Линия жизни», перед которыми была поставлена задача по сохранению объемов заготовки донорской крови для обеспечения лечебных учреждений на период осени 2003 г. и зимы 2004 г., а также о количестве доноров, которое необходимо привлечь. 2. С делегатами от учебных заведений (инициативные группы) были проведены занятия-тренинги, где были освещены вопросы пропаганды и агитации донорства, а также противопоказания к даче крови. В свою очередь студенты инициативных групп подбирали необходимые помещения для пункта забора крови, агитировали студентов стать донорами, привлекали спонсоров для поощрения донорства. 3. Работники Центра крови проводили переговоры с профсоюзными комитетами других учебных заведений, предлагая присоединиться к студенческой акции «Наш дар во имя жизни». 4. Привлечение спонсоров также внесло положительный вклад в укрепление донорства среди студентов. Спонсорами акции осенью 2003 г. стали ККК «Маяковский» и ОАО «Вимм-Билль-Данн», которые поощряли доноров-студентов подарками и призами. По итогам окончания «Дней донора» в вузах спонсоры организовали «заключительный вечер» в одном из ночных клубов для участников акции «Наш дар во имя жизни». 5. Актив общественной организации «Линия жизни» при поддержке администрации Новосибирской области получил грант на создание социальной рекламы в поддержку донорства среди молодежи. Видео ролик с призывом стать донором демонстрировался по телеэкранам метрополитена с момента начала второго тура акции (осень 2003) и до ее завершения. 6. Работники местных средств массовой информации активно освещали ход проведения «Дней донора» в учебных заведениях, а также проводили совместно с работниками Центра крови телеконференции и телепередачи в поддержку донорства среди студентов учебных заведений.

Осенью 2003 г. в формат акции были введены новые изменения. Второй тур акции начинался с октября и заканчивался в декабре 2003 г. Все студенты, которые не смогли по уважительным причинам принять участия в день дачи крови, то есть в «День донора» в своем вузе, имели возможность посетить Центр крови в рамках установленного срока проведения ак-

ции. В этом туре количество вузов расширилось до 4-х и общее число доноров составило 925 человек, что позволило заготовить около 400 л крови и плазмы. После проведения второго тура акции стало понятно, что необходимо продолжить студенческую акцию в дальнейшем. Впоследствии на отчетном заседании общественной организации «Линия жизни» была утверждена концепция о регулярном проведении донорских акций среди студентов весной и осенью с интервалом каждые 6 месяцев. Начиная с весны 2004 г., с каждым новым туром донорской акции расширялся состав участников, и к 6 туру (2005 г.) их количество увеличилось с 3-х до 11 вузов. В настоящее время уже проведено порядка 20 студенческих донорских акций, в которые вовлечены 14 высших учебных заведений. В рамках агитации и пропаганды донорства осуществляются обязательные тематические занятия в школах, гимназиях и в других среднеобразовательных учреждениях. Также активно привлекаются средства массовой информации для освещения проблемы донорства и создания социальной рекламы, а именно: проведение донорских акций среди студентов высших учебных заведений показало свою эффективность в обеспечении компонентами крови лечебных учреждений города. Проведенное нами исследование показало, что привлечение к донорству студентов является обоснованным и эффективным, так как судить можно по таким критериям, как: количество «участников» донорской акции «Наш дар во имя жизни» превысило 14 тысяч человек; частота отводов от дачи крови в силу медицинских противопоказаний, в том числе гемотрансмиссивных инфекций у доноров-студентов, было значительно меньше, чем у доноров Новосибирского Центра крови.

Таким образом, организация и проведение студенческих донорских акций положительно влияет на увеличение числа доноров и позволяет улучшить обеспечение лечебных учреждений качественными компонентами донорской крови. В плане координации и развития донорства среди студентов целесообразным является создание общественной благотворительной организации, которая выступала бы организатором и пропагандистом донорских акций. Для повышения эффективности агитации необходимым является привлечение средств массовой информации и создание социальной рекламы в поддержку донорства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барышев Б.А. Карантинизация свежезамороженной плазмы // Трансфузиология. 2002. 3. (1). 59–61.

2. Бахметов А.В., Свекло Л.С., Гуртовщикова Г.В., Ефимов А.С., Куно А.С. К вопросам реформирования в службе крови // Вестник службы крови России. 2009. (1). 5–7.

3. Вершинина О.А., Зайцева Г.А., Ворожцова С.И., Куликова М.М. Оценка демографических и некоторых функциональных показателей первичных доноров // Тезисы Всерос. конф. «Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины». Киров, 2010. 67–69.

4. Гильмутдинов Р.Г., Ефашикина Т.А., Иибулдина А.М. Система обеспечения качества на страже безопасности гемотрансфузионных средств // Вестник службы крови России. 2010. (2). 16–18.

5. Жибурт Е.Б., Вечеренко А.В., Быстров М.В., Лазаренко М.И., Рейзман П.В. Лицензирование как способ повышения эффективности производственной деятельности службы крови // Трансфузиология. 2003. 4. (2). 7–19.

6. Приказ МЗ РФ от 07.05.2003 № 193 «О введении в практику работы службы крови в Российской Федерации метода карантинизации свежезамороженной плазмы».

7. Рагимов А.А. Основные направления отечественной трансфузиологии // Трансфузиология. 2005. 6. (4). 87–104.

8. Филина Н.Г., Полеес А.Б., Паникаровская Е.П., Похабова И.В. Программа «карантинизации. Сам по себе донор» – новый подход к выполнению задач службы крови // Тезисы Всерос. конф. «Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины». Киров, 2010. 50–51.

ORIGINS OF SHARES DONOR «OUR GIFT FOR LIFE»
AMONG THE UNIVERSITY STUDENTS IN NOVOSIBIRSK

Dmitry Borisovich CHERNYAVCKY¹, Anastasiya Aleksandrovna GREBENYUK²,
Olga Sergeevna IVANCHEY², Konstantin Vasilievich HALZOV³, Yulia Vladimirovna MOOR³

¹ State Novosibirsk Regional Clinical Hospital
630087, Nemirovicha-Danchenko str., 130

² Novosibirsk State Medical University
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52

² Novosibirsk Blood Center

³ 630054, Novosibirsk, Serafimovicha str., 2/1

Summary: A strong tendency to decrease in the total number of donors has been noted since 1993 in Russia. The problem of donated blood deficiency changed the work of the Department for Donor Staff Recruitment of Novosibirsk Blood Center, whose mission is to attract potential donors to give blood and plasma. Taking into consideration the circumstances the requirement of young people to donorship was regarded as one of the promising solutions of the problem of donation in the city and region.

Key words: donor, students, attracting donors.

Chernyavsky D.B. – physician of the ggravitational surgery and blood transfusion department,
e-mail: post_gem@mail.ru

Grebenyuk A.A. – assistant of the chair for therapy, hematology and blood transfusiology,
e-mail: post_gem@mail.ru

Ivanchey O.S. – candidate of medical sciences, assistant of the chair for therapy, hematology and blood transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

Halzov K.V. – candidate of medical sciences, head, e-mail: post_gem@mail.ru

Moor Yu.V. – deputy head the medical unit