

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616-006.441-053.2-07-08

### ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ АНАПЛАСТИЧЕСКИХ КРУПНОКЛЕТОЧНЫХ ЛИМФОМ У ДЕТЕЙ

Т.Т. Валиев<sup>1</sup>, О.В. Морозова<sup>1</sup>, А.М. Ковригина<sup>2</sup>, Л.А. Махонова<sup>1</sup>, Е.Н. Шолохова<sup>3</sup>,  
И.Н. Серебрякова<sup>1</sup>, А.В. Попа<sup>1</sup>, Н.Н. Тупицын<sup>3</sup>, Г.Л. Менткевич<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ детской онкологии и гематологии Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН; <sup>2</sup>ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России; <sup>3</sup>НИИ клинической онкологии Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

**Резюме.** Приведены иммуноморфологическая характеристика анапластической крупноклеточной лимфомы у детей (АККЛ), клинические особенности АККЛ и результаты лечения по современным программам химиотерапии. На основании собственного опыта и данных литературы авторы модифицировали программу В-NHL-BFM95 для лечения прогностически неблагоприятных вариантов АККЛ, что позволило повысить показатели выживаемости больных.

**Ключевые слова:** дети, анапластическая крупноклеточная лимфома, диагностика, лечение

#### DIAGNOSIS AND TREATMENT OF ANAPLASTIC LARGE-CELL LYMPHOMAS IN CHILDREN

T.T. Valiev<sup>1</sup>, O.V. Morozova<sup>1</sup>, A.M. Kovrigina<sup>2</sup>, L.A. Makhonova<sup>1</sup>, E.N. Sholokhova<sup>3</sup>, I.N. Serebryakova<sup>1</sup>, A.V. Popa<sup>1</sup>,  
N.N. Tupitsyn<sup>3</sup>, G.L. Mentkevich<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Pediatric Oncology and Hematology, Russian Cancer Research Center; <sup>2</sup>Hematology Research Center;  
<sup>3</sup>Institute of Clinical Oncology, Russian Cancer Research Center, Moscow

**S u m m a r y.** Immunomorphological characteristics of anaplastic large-cell lymphomas (ALCL) in children, clinical features of ALCL, and results of its therapy by modern chemotherapy protocols are presented. Based on own experience and published data, the authors have modified the B-NHL-BFM95 protocol for the treatment of prognostically unfavorable ALCL variants, which led to improvement of patients' survival.

**Key words:** children, anaplastic large-cell lymphoma, diagnosis, therapy

С момента первого описания анапластической крупноклеточной лимфомы (АККЛ) прошло 26 лет [1]. За это время была детально изучена морфологическая картина АККЛ, ее иммунологические и цитогенетические особенности. В настоящее время установлена клеточная природа АККЛ, молекулярные основы патогенеза. Клиническая картина АККЛ весьма гетерогенная и характеризуется разнообразными нодальными и экстранодальными поражениями органов и систем [2], вариабельной морфологической картиной, которая представлена классическим, мелкоклеточным и лимфогистиоцитарным вариантами [3]. При иммуногистохимическом исследовании в ряде случаев определяются Т-клеточные маркеры, но даже при их отсутствии Т-клеточное происхождение АККЛ подтверждается клональной реаранжировкой генов Т-клеточного рецептора и выявлением цитотоксических Т-клеточных белков в опухолевых клетках [4, 5]. Отличительной чертой АККЛ является экспрессия CD30 при отсутствии на опухолевых клетках В-клеточных и гистиоцитарных маркеров. Описаны случаи экспрессии миелоидных маркеров CD13 и CD33 на клетках АККЛ [6].

В основе патогенеза АККЛ лежит транслокация t(2;5)(p23;q35), которая является результатом реаранжировки гена киназы анапластической лимфомы (ALK), расположенного на 2-й хромосоме, и гена нуклеофосмина (NPM), локализованного на 5-й хромосоме [7]. Цитогенетические перестройки с вовлечением 13p11 описаны чаще при АККЛ взрослых, тогда как у детей они встречаются крайне редко. Количественные хромосомные аномалии в виде трисомии чаще отмечаются при АККЛ у детей, тогда как моносомии — у взрослых больных [8]. При развитии рецидивов АККЛ в детском возрасте описаны случаи клональной эволюции опухоли и появления дополнительной хромосомной транслокации t(3;8)(q26.2;q24), реаранжировок с вовлечением протоонкогена *c-myc*. Иногда при рецидивах возникают цитогенетические нарушения, вовлекающие 1q21 и 10q24, а также гены *MCL1* и *HOX11/TCL3*, что значительно ухудшает прогноз [9].

У взрослых АККЛ составляет около 8% от всех неходжкинских лимфом (НХЛ), в то время как в детском возрасте этот показатель составляет около 15% [10]. Примерно с одинаковой частотой болеют мальчики и девочки препубертатного и пубертатного возраста. В последней классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ [3] выделены АККЛ ALK-положительная, АККЛ ALK-отрицательная и первичная АККЛ кожи.

АККЛ представляет собой гетерогенную группу крупноклеточных лимфом Т-клеточного про-

#### Для корреспонденции:

Валиев Тимур Теймуразович, канд. мед. наук, науч. сотр. отд-ния химиотерапии гемобластозов НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.  
Адрес: 115478, Россия, Москва, Каширское шоссе, д. 24.  
Телефон: +7(495)324-41-82.  
E-mail: timurvaliev@mail.ru

Таблица 1

Распределение больных АККЛ по полу и возрасту ( $n = 35$ )

Возрастная группа	Мальчики ( $n = 20$ )		Девочки ( $n = 15$ )		Всего...	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
До 3 лет	0	0	0	0	0	0
3 года 1 мес — 7 лет	3	15	3	20	6	17,1
7 лет 1 мес — 11 лет	8	40	4	27	12	34,3
11 лет 1 мес — 16 лет	9	45	8	53	17	48,6

исхождения, различных по клиническим, морфоиммунологическим, цитогенетическим и прогностическим параметрам. Число отечественных и зарубежных работ, в которых анализируются клиничко-морфоиммунологические особенности и результаты терапии АККЛ у детей, не так велико [11, 12], поэтому каждый новый опыт в этом направлении представляет несомненный интерес.

Целью нашей работы стал анализ клинических, морфологических и иммунологических особенностей АККЛ у детей, разработка дифференцированной программы терапии в зависимости от иммунологических особенностей АККЛ.

## Материалы и методы

В исследование было включено 35 детей с впервые установленным диагнозом АККЛ, которые проходили обследование и лечение в отделении химиотерапии гемобластозов НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина с 1998 по 2011 г. Среди клинических особенностей отмечена практически одинаковая заболеваемость мальчиков и девочек (16 мальчиков и 13 девочек), средний возраст составил 9,9 лет (от 3 до 15 лет) (табл. 1).

Диагноз АККЛ основывался на результатах клинического (сбор анамнеза, объективный осмотр больного), лабораторных (общий и биохимический анализ крови, морфологическое и цитохимическое исследование костного мозга, морфоиммунологическое исследование опухолевой ткани). При иммунологическом исследовании опухолевой ткани анализировали следующие маркеры: CD45, HLA-DR, EMA, ALK, CD3, CD4, CD8, CD5, CD2, CD7, CD1a, CD68, CD163, CD30; пролиферативную активность оценивали по маркеру Ki-67.

Для оценки распространенности опухолевого процесса использовали методы инструментальной визуализации (ультразвуковое исследование — УЗИ, рентгеновская компьютерная томография — РКТ, магнитно-резонансная томография — МРТ, радиосцинтиграфия с  $^{67}\text{Ga}$  и  $^{99}\text{Tc}$ ). По данным УЗИ/РКТ определяли размер опухоли в наибольшем измерении.

Стадию заболевания устанавливали по S. Murphy [13], группу риска — согласно системе стратификации, предложенной группой BFM [14]:

1-я — полностью резецированная опухоль: стадии I и II без факторов риска;

2-я — нерезецированная опухоль: стадии I, II, III без факторов риска;

Таблица 2

## Локализация поражений у больных АККЛ

Локализация поражения	Количество больных ( $n=35$ )	
	абс.	%
Мягкие ткани	16	45,7
Периферические лимфатические узлы	23	65,7
Лимфатические узлы забрюшинного пространства	12	34,3
Кожа	11	31,4
Кости	9	25,7
Лимфатические узлы брюшной полости	6	17,1
Средостение	4	11,4
Селезенка	3	8,6
Легкие	3	8,6
Поджелудочная железа, желудок, печень, тонкая кишка, яичко, ЦНС	Единичные случаи	

3-я — стадия IV, независимо от стадии — множественное поражение костей, и/или вторичная АККЛ, и/или поражение кожи, и/или поражение легких.

Статистическую обработку данных проводили с помощью метода  $\chi^2$ -теста Пирсона; кривые выживаемости построены методом Каплана—Майера и проанализированы с использованием непараметрического log-rank-критерия.

## Результаты и обсуждение

При госпитализации симптомы интоксикации (слабость, вялость, потливость, снижение массы тела более 10%, лихорадка) были выявлены у 31 (88,6%) больного. У всех больных были отмечены жалобы, обусловленные локализацией и объемом опухоли (увеличенные лимфатические узлы и/или инфильтраты в мягких тканях и др.). В клинической картине АККЛ преобладало поражение периферических лимфатических узлов и мягких тканей — 65,7% и 45,7%, соответственно. Реже в опухолевый процесс были вовлечены кожа (31,4%) и лимфатические узлы забрюшинного пространства (34,3%). Костная система была поражена у 9 (25,7%) больных, средостение — у 4 (11,4%) пациентов.

Ни у кого из детей, включенных в исследование, костный мозг не был поражен. Вовлечение в опухолевый процесс центральной нервной системы (ЦНС) было у 1 больного и характеризовалось поражением вещества головного мозга при первичной локализации АККЛ в костях основания черепа (табл. 2).

Для определения первичной локализации опухоли детально изучали данные анамнеза, размер очагов поражения. При АККЛ родители чаще обращали внимание на появление изменений на коже у 9 (26%) детей, они были представлены пятнами, бляшками, а у 1 больного с первичной АККЛ кожи опухолевые узлы до 3 см в диаметре локализовались на коже тела и конечностей. Дебют заболевания с кожных проявлений при отсутствии инициального поражения других органов и систем позволил установить диагноз первичной АККЛ кожной у 2 (5,7%) больных.

Таблица 3

Локализация экстранодалных поражений	Количество больных (n = 12)	
	абс.	%
Мягкие ткани	3	25
Кости скелета	3	25
Кости черепа	2	16,7
Легкие	1	8,3
Кожа	2	16,7
Подкожная жировая клетчатка	1	8,3

Реже первые признаки заболевания характеризовались появлением увеличенных периферических лимфатических узлов, они наблюдались у 7 (24%) больных.

Всем больным проводили УЗИ/РКТ органов грудной клетки и брюшной полости. При АККЛ размеры опухоли широко варьировали — от 2 до 13 см. У 60% больных размер опухолевого конгломерата в наибольшем измерении составлял более 5 см.

Первично экстранодалные поражения при АККЛ встречались достаточно часто и составляли 35%. У мальчиков и девочек они отмечены с одинаковой частотой (6 мальчиков и 6 девочек) (табл. 3).

Поражение костей скелета было представлено специфическими инфильтратами в костной ткани голени, плеча, бедра и ребер. В случае вовлечения в опухолевый процесс костей черепа у 2 детей течение опухолевого процесса было чрезвычайно агрессивным с поражением тканей головного мозга.

Нередко при экстранодалной АККЛ происходило одновременное опухолевое поражение нескольких областей: мягких тканей, костей, кожи и легких — у 2 больных; плевры, легких и мягких тканей — у 1 больного; ребер, плевры и мягких тканей — у 2 детей. Изолированное поражение кожи отмечено только в одном случае, при котором был установлен диагноз первичной кожной АККЛ.

Следовательно, при экстранодалной локализации АККЛ наиболее часто происходило поражение мягких тканей и костей скелета с быстрым распространением процесса на окружающие внутренние органы.

Клиническую стадию заболевания устанавливали на основании данных рентгенографии органов грудной клетки в двух проекциях, РКТ, УЗИ брюшной области и внеабдоминальных зон поражения, сканирования с  $^{67}\text{Ga}$  и  $^{99}\text{Tc}$ . Данные о распределении больных по стадиям приведены в табл. 4. У 31 (88,6%) больного, была генерализованная (III и IV) стадия АККЛ, у 4 (11,4%) — II стадия; I стадия не было ни у одного включенного в наше исследование ребенка.

С учетом стадии заболевания, наличия или отсутствия распространения опухоли на легочную ткань, кожу и кости установлено, что большинство (91,4%) детей имели 2-ю прогностическую группу риска (табл. 5). Прогностическая 1-я группа риска не отмечена ни у одного ребенка.

При цитологическом исследовании пунктатов опухоли или мазков-отпечатков определяли крупные клетки, содержащие ядра неправильной формы

Таблица 4

Распределение больных АККЛ по стадиям (S.Murphy, 1980 [13])

Стадия	Количество больных (n = 35)	
	абс.	%
I	0	0
II	4	11,4
III	11	31,5
IV	20	57,1

(отмечены подковообразные, многолопастные, расположенные эксцентрично) с несколькими нуклеолами. Цитоплазма — базофильная, хотя встречался и эозинофильный характер цитоплазмы с зоной перинуклеарного просветления. Некоторые лимфоидные элементы напоминали клетки Березовского—Штернберга и Ходжкина (рис. 1; см. на обложке).

По данным гистологического исследования, АККЛ в детском возрасте была представлена следующими вариантами:

— **мелкоклеточный** наблюдали у 6 (17,14%) больных детей, для него характерно преобладание одноядерных клеток небольшого размера с неправильными округлыми или полиморфными ядрами, конденсированным хроматином, реже встречались дискретно расположенные крупные клетки со светлым ядром и обильной цитоплазмой (рис. 2; см. на обложке);

— **лимфогистиоцитарный** отмечен у 4 (11,43%) больных, в препаратах определяли клетки с обильной эозинофильной цитоплазмой, округлым ядром, расположенным эксцентрично, наряду с опухолевыми имелись в большом количестве клетки реактивного микроокружения (рис. 3; см. на обложке);

— **классический** диагностирован у 24 (68,57%) больных, в лимфатическом узле отмечалось тотальное стирание рисунка строения за счет диффузного роста опухолевых клеток или в виде скоплений клеток внутрисинусно и в паракортикальной зоне. Опухолевые клетки были крупными, с разнообразными по форме ядрами: бобовидными, подковообразными, многолопастными, в части клеток ядро располагалось эксцентрично, имело тонкодисперсный хроматин и множественные ядрышки, цитоплазма светлая, выражена умеренно. Встречались опухолевые клетки с очень крупными нуклеолами в ядрах, напоминающими таковые в клетках Березовского—Штернберга или Ходжкина. Они, как правило, были весьма немногочисленными (рис. 4; см. на обложке).

У 1 (2,86%) больного был диагностирован мономорфно-клеточный вариант АККЛ, который

Таблица 5

Распределение больных АККЛ по прогностическим группам риска

Группа риска	Количество больных (n = 35)	
	абс.	%
1-я	0	0
2-я	32	91,43
3-я	3	8,57

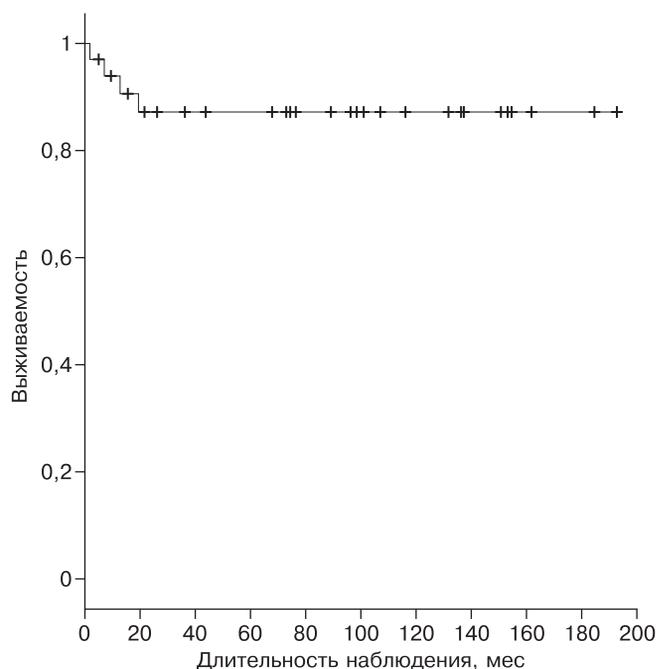


Рис. 8. Вероятность общей выживаемости больных АККЛ детей.

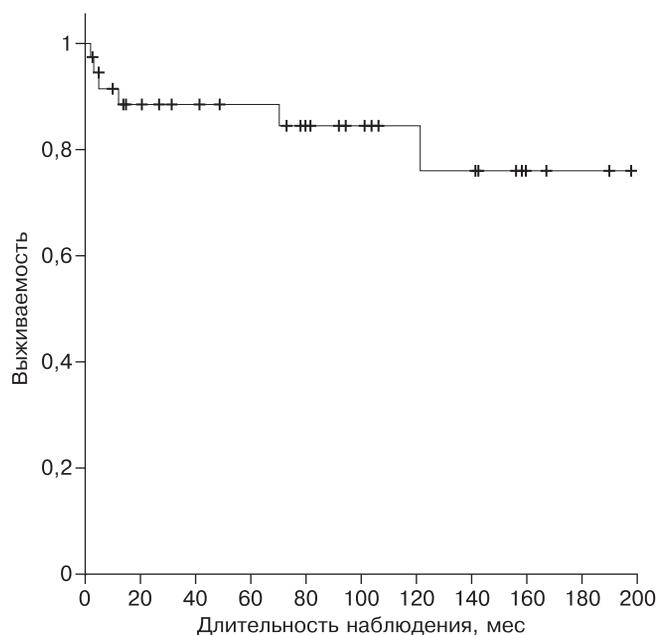


Рис. 9. Вероятность бессобытийной выживаемости больных АККЛ детей.

характеризовался преобладанием мономорфной популяции опухолевых клеток среднего размера, с округлыми ядрами и выраженными нуклеолами, что диктует необходимость проведения дифференциального диагноза с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (рис. 5; см. на обложке).

Для всех морфологических вариантов АККЛ характерно частичное или полное стирание рисунка пораженной ткани. Тип роста был диффузным или в виде скоплений опухолевых клеток, расположенных в паракортикальной зоне, в синусах лимфатического узла. Присутствовали очаги некроза, фигуры митозов.

При иммунологическом исследовании во всех случаях на клетках АККЛ экспрессировался антиген CD30 (рис. 6; см. на обложке).

Экспрессию антигена CD45 изучали у 25 (71,43%) больных, из них у 7 (28%) реакция оказалась положительной, у 9 (36%) антиген на клетках опухоли был экспрессирован слабо, у 3 (12%) детей лишь часть клеток опухоли несла CD45 и у 6 (24%) детей CD45 на клетках АККЛ не обнаружен.

У 17 (48,57%) детей исследовали экспрессию HLA-DR. У 8 (47,05%) больных была отмечена положительная реакция на опухолевых клетках, у 3 (17,64%) детей HLA-DR экспрессирован слабо. У 1 (5,88%) больного антиген присутствовал на части клеток опухоли, у 5 (29,41%) больных реакция была отрицательной.

Т-клеточные маркеры анализировали у 33 (94,28%) больных — изучали экспрессию CD3, CD4, CD8, CD5, CD2, CD7, CD1a. Только у 11 (33,33%) детей выявлена положительная реакция на Т-клеточные антигены, у 22 (66,67%) больных Т-клеточные антигены не обнаруживались.

Антиген эпителиальных мембран (ЕМА) был изучен у 26 (74,28%) детей, из них у 22 (84,6%) реак-

ция оказалась положительной и у 4 (15,4%) больных экспрессия антигена была слабой.

Наличие в клетках АККЛ киназы анапластической лимфомы (ALK) исследовали у 21 (60%) больного, из них у 3 (14,28%) реакция была отрицательной, у 18 (85,71%) — положительной (рис. 7; см. на обложке). В соответствии с классификацией опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ [3] эти особенности позволили диагностировать АККЛ ALK-положительную и АККЛ ALK-отрицательную, соответственно.

Транслокация  $t(2;5)(p23;q35)$  играет ключевую роль в патогенезе АККЛ. Обнаружить ее можно не только с помощью цитогенетических методик (флюоресцентная гибридизация *in situ*, стандартное цитогенетическое исследование и др.), но и по характеру экспрессии ALK. Если в опухолевых клетках ALK определяется и в ядре, и в цитоплазме клетки, то с большой вероятностью можно говорить о наличии транслокации  $t(2;5)(p23;q35)$  — данные были сопоставлены с результатами цитогенетических методов определения транслокации  $t(2;5)(p23;q35)$ . По данным иммуногистохимического исследования, у 7 из 10 детей в опухолевых клетках присутствовала транслокация  $t(2;5)(p23;q35)$ . У 2 отмечалась цитоплазматическая реакция на ALK и у 1 больного — ядерная, что позволило предположить варианты транслокации, затрагивающие ген *ALK*.

Пролиферативную активность АККЛ анализировали по маркеру Ki-67, и у 90% больных она составляла 60—70%, у 1 больного — более 80% и у 1 больного — менее 50%.

При лимфогистиоцитарном варианте АККЛ, который был отмечен у 4 детей, обращало на себя внимание обилие гистиоцитов, которые при имму-

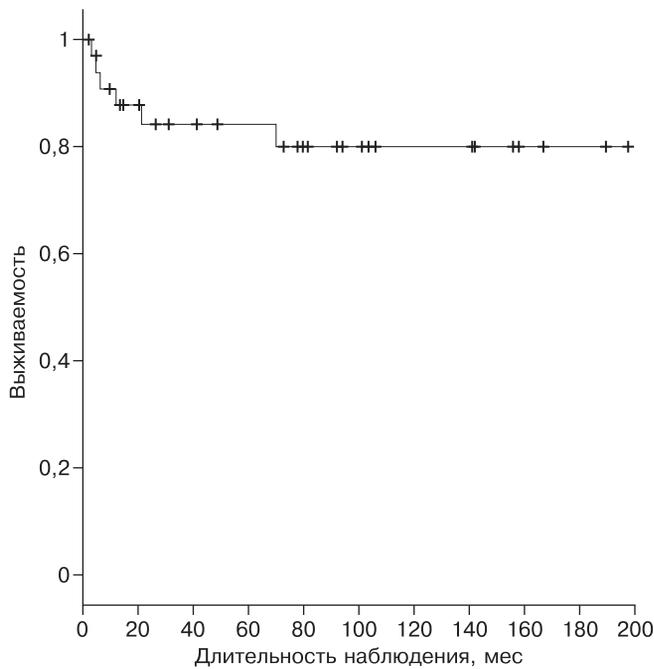


Рис. 10. Вероятность безрецидивной выживаемости больных АККЛ детей.

нологическом исследовании несли маркеры CD68, CD163.

Единого стандарта лечения АККЛ у детей в настоящее время не разработано, применяют различные программы терапии — от протоколов лечения В-клеточных НХЛ (В-NHL-BFM) до длительных программ, используемых при лимфобластных лимфомах. Все они учитывают стратификацию больных по группам риска.

Всем 35 больным АККЛ была проведена полихимиотерапия (ПХТ) по протоколам группы BFM (90/95) [15]. С целью оценки эффективности лечения больных АККЛ детей изучали вероятность общей, бессобытийной, безрецидивной выживаемости.

Вероятность общей выживаемости больных АККЛ детей, составила  $85,67 \pm 11,15\%$  ( $n = 35$ ) (медиана наблюдения  $147,67 \pm 10,64$  мес; (рис. 8)

Вероятность бессобытийной выживаемости детей с АККЛ составила  $64,17 \pm 15,91\%$  с медианой наблюдения  $135,56 \pm 12,39$  мес (рис. 9).

Вероятность безрецидивной выживаемости больных АККЛ составила  $76,48 \pm 13,49\%$  с медианой наблюдения  $135,64 \pm 12,35$  мес (рис. 10).

У 4 (11,4%) детей развился рецидив заболевания. У 1 больного был отмечен ранний рецидив, локализовавшийся на коже, через 1 мес после достижения полной ремиссии (рецидив АККЛ подтвержден данными иммуноморфологического исследования). Проводили ПХТ по программе BFM-2002 (блоки для группы высокого риска с включением L-аспарагиназы), но через 7 мес вновь отмечено появление специфических кожных поражений; после проведения гистологического и иммуногистохимического исследования констатировали 2-й рецидив АККЛ, терапия которого по программе ICE (ифос-

фамид, карбоплатин, этопозид) привела к 2-й полной ремиссии. С целью консолидации полученного эффекта девочке проводили трансплантацию аутологичных периферических стволовых клеток крови (ауто-ТПСК), но полученная полная ремиссия оказалась нестойкой и через 4 мес развился рецидив заболевания, в связи с чем проводили алло-ТПСК от матери. В раннем посттрансплантационном периоде присоединился некупируемый инфекционный синдром, сепсис, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), явления полиорганной недостаточности (почечная, печеночная, сердечно-сосудистая), кровоизлияние в головной мозг, что стало причиной смерти больной.

У другого больного развился локальный рецидив с поражением левых шейно-надключичных лимфатических узлов через 6 лет после получения 1-й полной ремиссии в результате лечения по программе BFM-90. ПХТ по модифицированному протоколу В-NHL-BFM95 с включением L-аспарагиназы (см. ниже) позволила получить полную ремиссию, которая сохраняется по настоящее время (01.10.2011; длительность ремиссии 34 мес).

В третьем наблюдении рецидив с поражением подмышечных лимфатических узлов развился через 14 мес после окончания терапии по программе BFM-90, но ребенок изначально по месту жительства получил 2 курса СНОР, что, как известно, в настоящее время не является программой первой линии в терапии АККЛ у детей и ухудшает отдаленные результаты терапии [10]. Проводимая противорецидивная терапия по программе ICE привела к частичной регрессии опухоли, но полная ремиссия не получена, АККЛ прогрессировала на фоне ПХТ, что через 8 мес от момента диагностики рецидива привело к смерти больного.

Четвертый случай рецидива развился через 7 мес после достижения полной ремиссии и характеризовался поражением паховых и надключичных лимфатических узлов. ПХТ по программе BFM-95 позволила получить полную ремиссию, но во время консолидирующих курсов ПХТ при аплазии кроветворения развился кандидозный сепсис и двусторонняя пневмония грибковой этиологии (*Candida non-albicans*). Несмотря на проводимую противогрибковую, симптоматическую терапию, прогрессировали явления дыхательной недостаточности, присоединился ДВС-синдром, явления полиорганной недостаточности, повлекшие за собой смерть больного.

Корреляция между бессобытийной выживаемостью и гистологическим вариантом у детей с АККЛ в нашей работе не продемонстрирована. При мелкоклеточном варианте АККЛ бессобытийная выживаемость составила  $53,33 \pm 14,38\%$  (медиана наблюдения  $126,95 \pm 21,26$  мес), при лимфогистиоцитарном —  $65,63 \pm 12,99\%$  (медиана наблюдения  $87,9 \pm 13,63$  мес), при классическом —  $75 \pm 15,42\%$  (медиана наблюдения  $88,85 \pm 21,8$  мес). Следовательно, несколько хуже бессобытийная выживаемость при мелкоклеточном варианте, по сравнению с классическим ( $53,33 \pm 14,38\%$  против  $75 \pm$

15,42%), но различия оказались статистически незначимыми ( $p = 0,38$ ).

Изучая бессобытийную выживаемость больных АККЛ детей в зависимости от экспрессии опухолевыми клетками Т-клеточных антигенов, установили, что при выявлении Т-клеточных маркеров на клетках опухоли показатель бессобытийной выживаемости составляет  $44,44 \pm 9,53\%$  (медиана наблюдения  $67,05 \pm 20,31$  мес), а при их отсутствии —  $89,47 \pm 8,16\%$  (медиана наблюдения  $153,62 \pm 11,38$  мес;  $p = 0,02$ ). Следовательно, более благоприятным при АККЛ у детей является иммунологический подвариант, при котором Т-клеточные антигены отсутствуют.

Полученные нами данные согласуются с результатами других авторов. На ежегодной конференции BFM (Berlin—Frankfurt—Munster), проходившей в 2010 г. в Анталии, были представлены данные, согласно которым при обнаружении на опухолевых клетках АККЛ CD3 (Т-клеточного маркера) БСВ составляет около 40% [16]. Осознавая данный факт, в отделении химиотерапии гемобластозов НИИ ДОГ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН с 2006 г. больным АККЛ, у которых определяются Т-клеточные маркеры, проводят лечение по модифицированному протоколу В-NHL-BFM95. Модификация заключается во включении в блоки терапии L-аспарагиназы в дозе 10 000 ЕД/м<sup>2</sup> внутривенно капельно в течение 1 часа в 6-й день каждого блока (у больных, относящихся к 3-й группе риска доза L-аспарагиназы составляла 25 000 ЕД/м<sup>2</sup>) и проведении поддерживающей терапии винбластином 6 мг/м<sup>2</sup> внутривенно 1 раз в 3 нед на протяжении полугода. По модифицированной программе лечились 19 больных, вероятность бессобытийной выживаемости которых составила  $75 \pm 10,3\%$  (медиана наблюдения  $60,12 \pm 9,43$  мес).

Стадия заболевания, а также наличие/отсутствие распространения опухоли на легочную ткань, кожу и кости лежали в основе выделения прогностических групп риска, согласно рекомендациям группы BFM. В нашем исследовании больных с 1-й группой риска не было. При сравнении бессобытийной выживаемости среди больных со 2-й и 3-й группой риска не выявили статистически значимые различия ( $p = 0,65$ ), так, у больных 2-й группы риска бессобытийная выживаемость составила  $68,34 \pm 10,04\%$  (медиана наблюдения  $144,10 \pm 11,74$  мес). У 2 детей 3-й группы риска развились рецидивы заболевания, при которых после ПХТ по модифицированной программе была получена вторая полная ремиссия (медиана наблюдения  $43,05 \pm 18,67$  мес).

Таким образом, термин АККЛ используется для определения гетерогенной группы анапластических крупноклеточных лимфом, различных по морфологическим, иммунологическим, цитогенетическим характеристикам, а также по ответу на терапию. Тем не менее, общим для данной группы лимфом являются агрессивное клиническое течение, атипизм и клеточный полиморфизм с признаками анаплазии,

экспрессия на клетках опухоли CD30 при отсутствии маркеров клеток-предшественников и В-клеточных маркеров, а также доказанное Т-клеточное происхождение опухоли. В детском возрасте АККЛ представлена тремя вариантами, среди которых наиболее часто встречается ALK-положительная, реже — ALK-отрицательная и первично АККЛ кожи. Цитологически опухолевый инфильтрат составляют крупные лимфоидные клетки с базофильной цитоплазмой и одним или несколькими ядрами. Клетки АККЛ характеризуются атипизмом и полиморфизмом. Гистологически у детей преобладает классический вариант, реже — мелкоклеточный и лимфогистиоцитарный варианты. АККЛ у детей гетерогенна не только морфологически, но и иммунологически. Был отмечен вариант, при котором на клетках опухоли определялись Т-клеточные антигены, и вариант, при котором иммунологически маркеры Т-клеток не выявлены, что имеет значение в выборе программы терапии.

АККЛ практически с одинаковой частотой встречаются у мальчиков и девочек препубертатного возраста, клинически характеризуются первичным поражением мягких тканей, периферических лимфатических узлов, реже костей и лимфатических узлов забрюшинного пространства. Достаточно часто (41%) при АККЛ отмечена первично экстранодальная локализация опухоли с поражением мягких тканей, костей скелета, черепа, легких, плевры, кожи. На момент диагностики у детей преобладают III и IV стадии заболевания.

ПХТ по программам BFM-90/95 позволяет получить общую выживаемость у  $85,67 \pm 11,15\%$  больных АККЛ детей и бессобытийную выживаемость — у  $64,17 \pm 15,91\%$  (медиана наблюдения 11 лет). Анализ влияния клинических и морфоиммунологических факторов на прогноз при АККЛ у детей показал, что только при определении Т-клеточных маркеров на опухолевых клетках или их отсутствии были получены статистически значимые данные. При наличии Т-клеточных антигенов бессобытийная выживаемость составляла  $44,44 \pm 9,53\%$ , тогда как при их отсутствии этот показатель составил  $89,47 \pm 8,16\%$  ( $p = 0,02$ ). Проведение дифференцированной терапии в группе больных, у которых на клетках АККЛ обнаруживались Т-клеточные антигены, позволило повысить бессобытийную выживаемость до  $75 \pm 10,3\%$ .

Представленные данные позволяют надеяться, что использование дифференцированного подхода к лечению больных АККЛ детей, с учетом не только клинических, но и иммунологических особенностей клеток опухоли. Вместе с тем развитие рецидивов в сроки от 1 мес до 6 лет отражает необходимость совершенствования терапии. Возможно, включение в программы ПХТ таргетного агента — анти-CD30 моноклонального антитела брентуксимаба, которое в настоящее время проходит последние стадии клинических исследований [17], позволит улучшить результаты лечения больных АККЛ детей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Stein H., Mason D.Y., Gerdes J. et al. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue: evidence that Reed-Sternberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. *Blood* 1985; 66(4): 848—858.
2. Валуев Т.Т. Клинико-морфоиммунологические особенности неходжкинских лимфом у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук М.; 2009.
3. The International Agency for Research on Cancer. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (IARC WHO Classification of Tumours). Swerdlow S. H., Campo E., Harris N. L. et al., eds. Lyon: WHO; 2008.
4. Asano N., Suzuki R., Ohshima K. et al. Linkage of expression of chemokine receptors (CXCR3 and CCR4) and cytotoxic molecules in peripheral T cell lymphoma, not otherwise specified and ALK-negative anaplastic large cell lymphoma. *Int. J. Hematol.* 2010; 91(3): 426—435.
5. Asano N., Suzuki R., Matsuo K. et al. Cytotoxic molecule expression is predictive of prognosis in Hodgkin's-like anaplastic large cell lymphoma. *Histopathology* 2007; 50(6): 705—715.
6. Bovio I.M., Allan R.W. The expression of myeloid antigens CD13 and/or CD33 is a marker of ALK<sup>+</sup> anaplastic large cell lymphomas. *Am. J. Clin. Pathol.* 2008; 130(4): 628—634.
7. Amin H.M., Lai R. Pathobiology of ALK<sup>+</sup> anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2007; 110(7): 2259—2267.
8. Mussolin L., Pillon M., Bonato P. et al. Cytogenetic analysis of pediatric anaplastic large cell lymphoma. *Pediatr. Blood Cancer* 2010; 55(3): 446—451.
9. Monaco S., Tsao L., Murty V.V. et al. Pediatric ALK<sup>+</sup> anaplastic large cell lymphoma with t(3;8)(q26.2;q24) translocation and c-myc rearrangement terminating in a leukemic phase. *Am. J. Hematol.* 2007; 82(1): 59—64.
10. Burkhardt B., Oschlies I., Klapper W. et al. Non-Hodgkin's lymphoma in adolescents: experiences in 378 adolescent NHL patients treated according to pediatric NHL-BFM protocols. *Leukemia* 2011; 25(1): 153—160.
11. Moreno L., Garzón L., Bautista F.J. et al. Diagnosis of paediatric anaplastic large-cell lymphoma: a historical perspective from a single institution. *Clin. Transl. Oncol.* 2009; 11(5): 318—321.
12. Le Deley M.C., Reiter A., Williams D. et al. Prognostic factors in childhood anaplastic large cell lymphoma: results of a large European intergroup study. *Blood* 2008; 111(3): 1560—1566.
13. Murphy S.B., Hustu H.O. A randomized trial of combined modality therapy of childhood non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1980; 45(4): 630—637.
14. Woessmann W., Seidemann K., Mann G. et al. The impact of the methotrexate administration schedule and dose in the treatment of children and adolescents with B-cell neoplasms: a report of the BFM Group Study NHL-BFM95. *Blood* 2005; 105(3): 948—958.
15. Reiter A., Schrappe M., Tiemann M. et al. Improved treatment results in childhood B-cell neoplasms with tailored intensification of therapy: A report of the Berlin-Frankfurt-Münster Group Trial NHL-BFM 90. *Blood* 1999; 94(10): 3294—3306.
16. 21<sup>st</sup> Annual Meeting of the International BFM Study Group, 22—25 april 2010. Turkey, Antalya; 2010.
17. Foyl K.V., Bartlett N.L. Brentuximab vedotin for the treatment of CD30<sup>+</sup> lymphomas. *Immunotherapy* 2011; 3(4): 475—485.

Поступила 24.10.11

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 615.387.012.8

## АЛГОРИТМ ВХОДНОГО КОНТРОЛЯ ВИРУСНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ СЫРЬЯ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ЛЕЧЕБНЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДОНОРОВ

Н.В. Зубкова<sup>1</sup>, А.В. Казьянин<sup>2</sup>, А.М. Николаева<sup>3</sup>, Л.К. Лаптева<sup>4</sup>, Е.В. Силин<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Филиал ФГУП НПО "Микроген" Минздравсоцразвития России, Нижегородское предприятие по производству бактериальных препаратов "ИмБио"; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Пермская государственная фармацевтическая академия; <sup>3</sup>Филиал ФГУП НПО "Микроген" Минздравсоцразвития России, Пермское НПО "Биомед"; <sup>4</sup>ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздравсоцразвития России, Москва; <sup>5</sup>ООО "Биометрика", Нижний Новгород

**Резюме.** На основании данных о распределении серологических и молекулярно-генетических маркеров вирусов гепатитов В, С и ВИЧ у инфицированных доноров и вероятности поступления на предприятие инфицированных образцов оценен риск вирусной контаминации сырья для изготовления лечебных препаратов из плазмы крови. Определено влияние алгоритма входного контроля на вероятность и уровень вирусной нагрузки в производственных пулах плазмы. Показано, что входной контроль в формате параллельного тестирования минипулов плазмы из 24 ± 4 донаций методами иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции с использованием стандартных коммерческих наборов позволяет эффективно выявлять инфицированные образцы, соответствует критериям ВОЗ и может быть рекомендован для плазмы крови, предназначенной для технологической переработки. При контроле плазмы крови, предназначенной для трансфузий, рекомендуется использовать более жесткие критерии, включая повышение требований к чувствительности тестов, особенно для выявления ДНК вируса гепатита В, и уменьшение размера минипула вплоть до проведения исследований в формате индивидуальных донаций.

**Ключевые слова:** плазма крови доноров, минипулы плазмы, входной контроль, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, риск контаминации

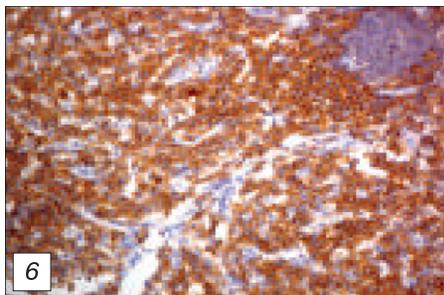
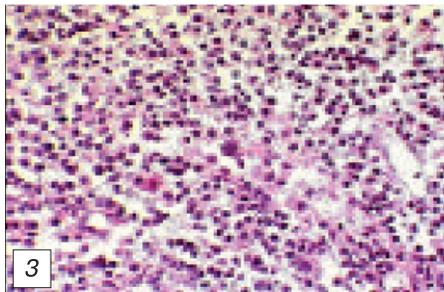
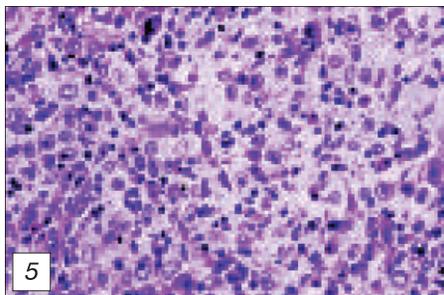
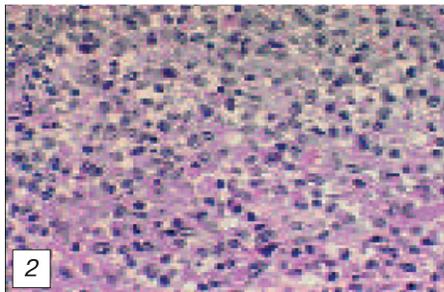
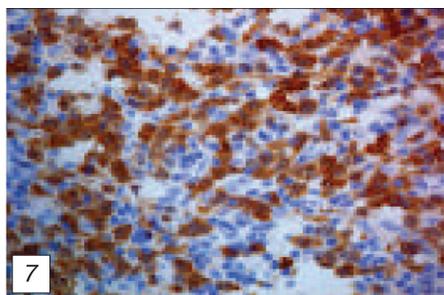
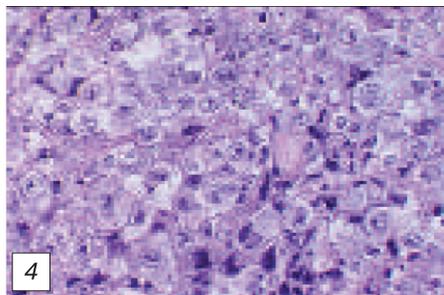
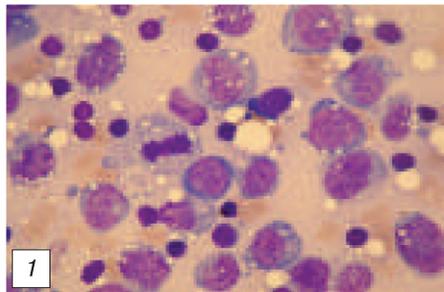


Рис. 1. Цитологическая картина при АККЛ. Окраска по Романовскому—Гимзе. Ув. 1000.  
 Рис. 2. Гистологическая картина мелкоклеточного варианта АККЛ. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 40.  
 Рис. 3. Гистологическая картина лимфогистиоцитарного варианта АККЛ. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 40.  
 Рис. 4. Гистологическая картина классического варианта АККЛ. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 60.  
 Рис. 5. Гистологическая картина мноморфноклеточного варианта АККЛ. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 40.  
 Рис. 6. Экспрессия CD30 на клетках АККЛ. Иммунноферментный метод. Ув. 40.  
 Рис. 7. Экспрессия опухолевыми клетками ALK. Иммунноферментный метод. Ув. 40.

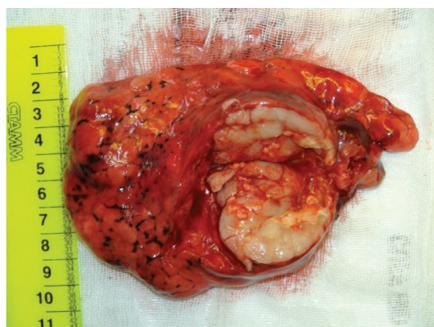


Рис. 2. Удаленная опухоль верхней доли левого легкого. Макропрепарат, общий вид. Опухоль на разрезе.

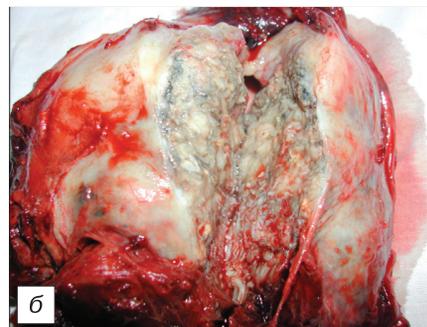


Рис. 3. Удаленная опухоль верхней и средней доли правого легкого.  
 а — макропрепарат, общий вид; б — макропрепарат, опухоль легкого на разрезе.



Рис. 5. Удаленная опухоль средней доли правого легкого. Макропрепарат, общий вид, опухоль на разрезе.

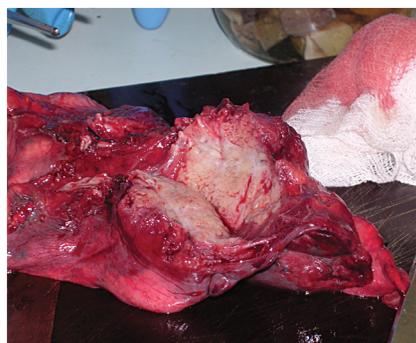


Рис. 7. Удаленная верхняя доля правого легкого. Макропрепарат, общий вид. Опухоль легкого на разрезе.

