

## Материалы 56-го конгресса Американского гематологического общества (декабрь 2014 г., Сан-Франциско)

С 6 по 9 декабря 2014 г. состоялся 56-й конгресс Американского гематологического общества (American Society of Hematology, ASH) в г. Сан-Франциско (США). Ниже приводится краткое изложение некоторых сообщений, доложенных на конгрессе.



### КЛАССИЧЕСКИЕ Rh-НЕГАТИВНЫЕ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ НЕОПЛАЗИИ

Подготовили д-р мед. наук А.Л. Меликян и канд. мед. наук И.Н. Суборцева

#### ВВЕДЕНИЕ

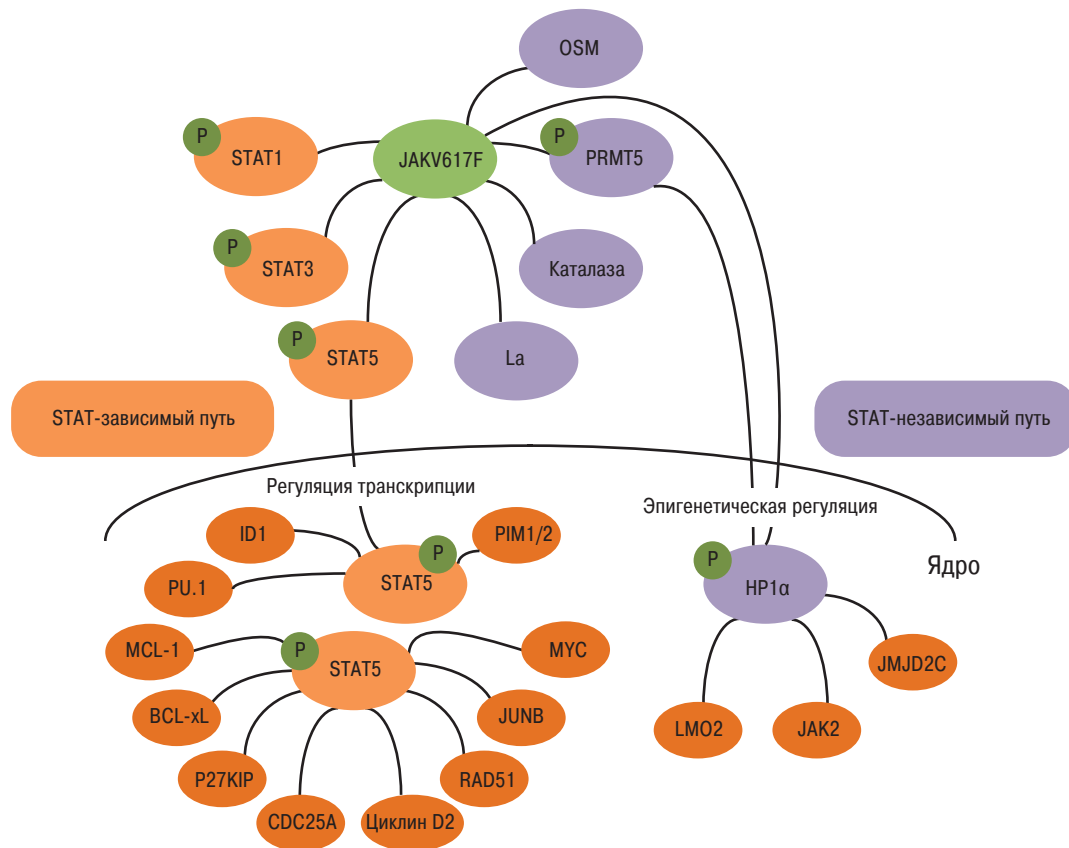
За 10 лет со времени открытия мутации *JAK2V617F* у больных с классическими Rh-негативными миелопролиферативными неоплазиями (МПН) произошли значительные изменения в диагностике и лечении истинной полицитемии (ИП), эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ), первичного миелофиброза (ПМФ). Связано это с пониманием патогенеза данной группы заболеваний. Разработан, прошел клинические исследования, был одобрен Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) и зарегистрирован для лечения больных миелофиброзом *JAK1/JAK2*-ингибитор руксолитиниб. Несмотря на достижения последнего десятилетия, остается много нерешенных вопросов.

На 56-м конгрессе Американского общества гематологов (ASH) были представлены достижения, касающиеся молекулярного патогенеза, оценки факторов риска и прогнозирования течения заболевания, ответа на терапию, алгоритмов ведения больных ИП, ЭТ, ПМФ, клинических исследований и перспектив лечения больных с классическими Rh-негативными МПН.

#### МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПАТОГЕНЕЗ

В последнее десятилетие достигнуты определенные успехи в понимании молекулярного патогенеза Rh-негативных МПН. Были открыты специфические молекулярные аномалии, характерные для ИП, ЭТ и ПМФ. Прежде всего, это мутации гена *JAK2*, а также мутации гена рецептора тромбопоэтина (*MPL*) и гена калретикулина (*CALR*). На современном этапе диагностики у 90 % больных МПН возможно выявление молекулярного маркера, что позволяет говорить о клональной природе заболеваний.

В патогенезе МПН центральное место занимает активация сигнального пути *JAK-STAT*. В норме функция *JAK*-киназ заключается в том, что они служат промежуточным звеном между рецепторами на мембране клетки и сигнальными внутриклеточными молекулами. При взаимодействии с определенными рецепторами их лигандов (эритропоэтином, колонienstимулирующими факторами, интерлейкинами и др.) возникает такое изменение конформации рецепторов, что происходит аутофосфорилирование *JAK*-киназ. Далее активированная киназа фосфорилирует целый ряд белков, которые передают сигналы к ядру, направленные на активацию



**Рис. 1.** Механизмы передачи сигнала от JAK-киназы в ядро клетки [E. Chen, A. Mullally. How does JAK2V617F contribute to the pathogenesis of MPN? Hematology. 2014. Educational program. pp. 268–76]

La — аутоантиген; OSM — онкостатин M; PRMT — N-метилтрансфераза аргининов белка; P — фосфорилированный белок.

**Fig. 1.** Mechanisms of transduction of signal from JAK-kinase into the cell nucleus [E. Chen, A. Mullally. How does JAK2V617F contribute to the pathogenesis of MPN? Hematology. 2014. Educational program. pp. 268–76]

La — autoantigen; OSM — oncostatin M; PRMT — protein arginine N-methyltransferase; P — phosphorylated protein.

пролиферации и дифференцировки, угнетение апоптоза клеток-предшественниц.

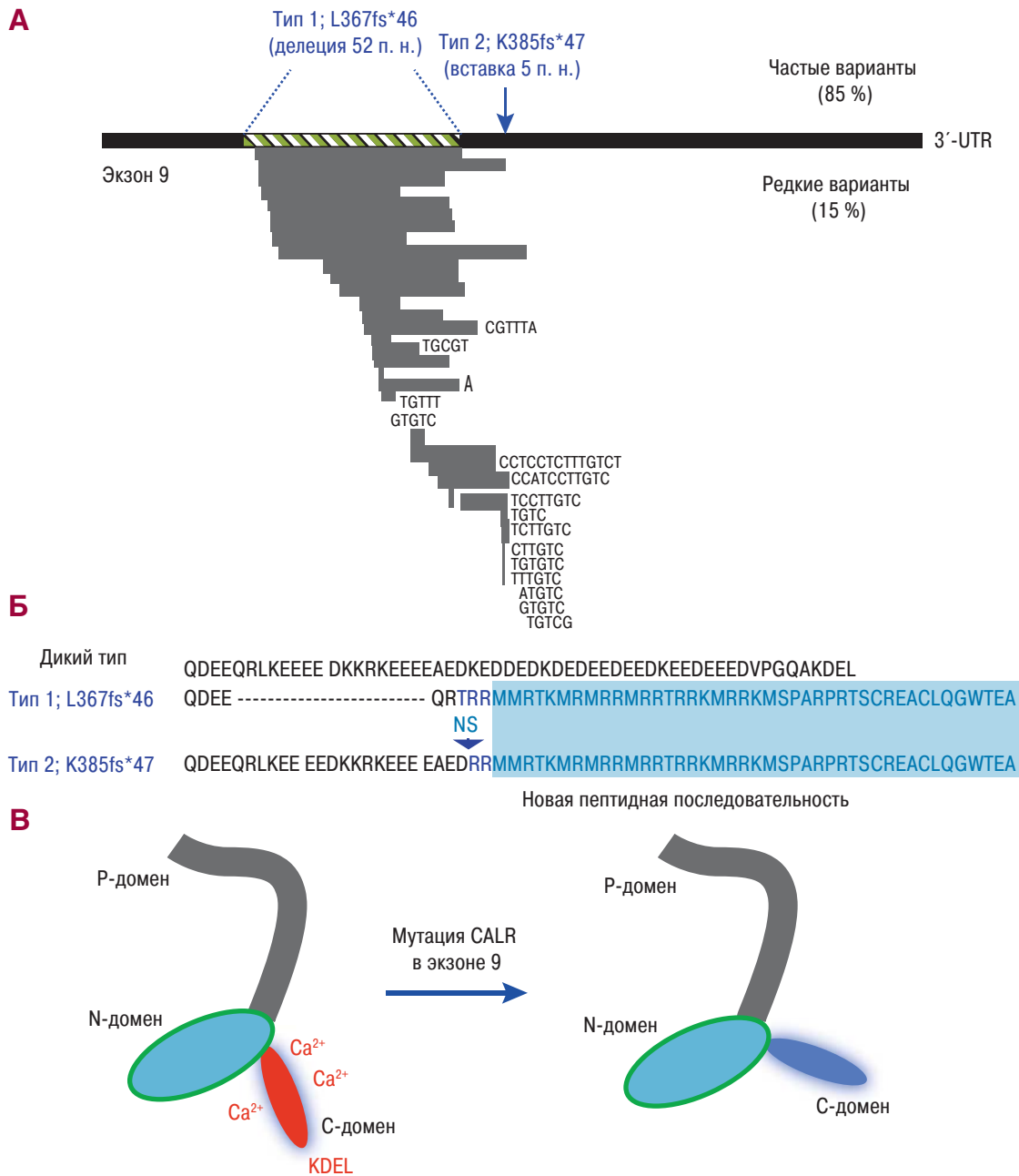
При появлении соматической мутации, которая заключается в замене гуанина на тимин в положении 1849 экзона 14 на коротком плече хромосомы 9p24, что ведет к замене валина на фенилаланин в кодоне 617 полипептидной цепи JAK2, наблюдается постоянная активация JAK2 вне зависимости от связывания цитокинового рецептора со своим лигандом. Передача сигнала внутри клетки представляет собой цепь последовательных биохимических реакций, осуществляемых вторичными посредниками: PIM-киназы (PIM1/2) стимулируют пролиферацию, угнетают апоптоз; MYC и JUNB обеспечивают активацию пролиферативного ответа; циклин D2, p27KIP, CDC25A принимают участие в регуляции клеточного цикла, активируют переход от G<sub>1</sub>-фазы к S-фазе; PU.1 и ID1 активируют дифференцировку; BCL-xL и MCL-1 ингибируют апоптоз, обеспечивают независимый от цитокина и эритропоэтина рост колоний; RAD51 приводит к геномной нестабильности.

Регуляция дифференцировки и пролиферации, угнетение апоптоза, контроль репарации осуществляются и за счет эпигенетических механизмов, которые не затрагивают первичную структуру ДНК, а изменяют активность определенных генов (рис. 1).

В 2013 г. двумя группами ученых независимо [T. Nagalia et al. N. Engl. J. Med. 2013; 369(25): 2391–405; T. Lamphet et al. N. Engl. J. Med. 2013; 369(25): 2379–90] выявлена мутация в экзоне 9 гена *CALR*. Белок, кодируемый

данном геном, локализован в эндоплазматической сети. С-концевой фрагмент несет на себе отрицательный заряд и способен связывать кальций, тем самым являясь его буфером. Известно, что кальций играет жизненно важную роль в функционировании и выживании клеток. Например, он служит ключевым элементом при передаче внутриклеточных и внеклеточных сигналов. Инициация клеточных ответов на факторы роста, нейромедиаторы, гормоны и множество других сигнальных молекул происходит посредством кальций-зависимых процессов. Практически все типы клеток зависят от генерирования цитоплазматических кальций-зависимых сигналов для регуляции функционирования клеток или для запуска определенных ответов. Таким образом, белок, кодируемый геном *CALR*, способен оказывать влияние на активность сигнальных путей STAT. В настоящее время известно о существовании 36 мутаций данного гена (рис. 2). Открытие мутаций гена *CALR* имеет важное диагностическое и прогностическое значение. Так, пациенты с мутацией *CALR* имеют благоприятный прогноз в сравнении с больными с *JAK2*- или *MPL*-мутациями.

Изучение механизмов регуляции экспрессии генов также остается одним из главных направлений исследований при МПН. Изменения экспрессии генов клетки, не затрагивающие последовательность ДНК, происходят за счет ряда механизмов: метилирование ДНК, модификации гистонов, ремоделирование хроматина, микроРНК (mRNA). Сплайсинг mRNA представляет собой процесс вырезания определенных нуклеотидных последователь-



**Рис. 2.** (А) Мутации гена *CALR* в экзоне 9, выявляемые с наибольшей частотой: тип 1 (делеция 52 п. н.), тип 2 (вставка 5 п. н.). (Б) Аминокислотная последовательность: дикий тип — норма, типы 1 и 2 — наиболее часто встречающиеся мутации. (В) Изменение функции белка в результате мутации гена *CALR* [J. Nangalia, T.R. Green. The involving genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Hematology*. 2014. Educational program. pp. 287–96] п. н. — пара нуклеотидов; UTR — нетранслируемая область.

**Fig. 2.** (A) Most frequently detected *CALR* exon 9 gene mutations: type 1 (52 bp deletion), type 2 (5 bp insertion). (B) Amino acid sequence: wild type — normal, type 1, type 2 — most frequently found mutations. (C) Changes in protein functions due to *CALR* gene mutations [J. Nangalia, T.R. Green. The involving genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Hematology*. 2014. Educational program. pp. 287–96] п. н. — base pairs; UTR — untranslated region.

ностей из ее молекулы и соединения последовательностей, сохраняющихся в «зрелой» молекуле, в ходе процессинга mRNA. Мутации генов — эпигенетических модификаторов, таких как *ASXL1*, *DNMT3a*, *TET2*, *EZH2*, *IDH1* и *IDH2*, а также генов, участвующих в сплайсинге mRNA, таких как *SF3B1* и *U2AF2*, тоже были описаны у больных МПН (табл. 1).

### КЛИНИКА И ДИАГНОСТИКА

Клиническая картина при МПН характеризуется многообразием проявлений. Начальный период заболевания у

большинства больных ЭТ, ИП, ПМФ может протекать бессимптомно на протяжении ряда лет. Нередко признаки заболевания обнаруживают неожиданно при выполнении клинического анализа крови во время профилактического осмотра или по поводу сопутствующей патологии. Однако зачастую качество жизни больных страдает из-за наличия симптомов опухолевой интоксикации. Исследование качества жизни является относительно новым направлением в медицине и остается практически неизученным у больных МПН. Качество жизни изучают с помощью специально разработанных опросников для выявления интересующих симптомов, установления параметров

Таблица 1. Соматические мутации генов у больных с миелопролиферативными неоплазиями

Ген	Патогенетический механизм	ИП, %	ЭТ, %	ПМФ, %	Пост-МПН ОЛ	Прогностическое значение
<i>JAK2</i> (V617F)	Сигнальный путь JAK/STAT	95–97	50–60	50–60	50	НД
<i>JAK2</i> (экзон 12)	Сигнальный путь JAK/STAT	1–2	0	0	НД	НД
<i>CALR</i>	Сигнальный путь JAK/STAT? Дисфункция эндоплазматического ретикулума?	0	25	30	НД	Общая выживаемость лучше у больных ПМФ. Низкий риск тромбозов у больных ЭТ
<i>MPL</i>	Сигнальный путь JAK/STAT	0	3–5	5–10	НД	НД
<i>CBL</i>	Сигнальный путь JAK/STAT	НД	0–2	5–10	НД	НД
<i>SH2B3/LNK</i>	Сигнальный путь JAK/STAT	2–20	2–6	3–6	10	НД
<i>ASXL1</i>	Эпигенетическая регуляция	2	5–10	10–35	20	Низкая общая выживаемость и выживаемость без лейкоза у больных ПМФ
<i>EZH2</i>	Эпигенетическая регуляция	1–2	1–2	7–10	НД	Низкая общая выживаемость и выживаемость без лейкоза у больных ПМФ
<i>IDH1/2</i>	Эпигенетическая регуляция	2	1	5	10–20	Низкая общая выживаемость и выживаемость без лейкоза у больных ПМФ
<i>DNMT3a</i>	Эпигенетическая регуляция	5–10	2–5	8–12	10–15	НД
<i>TET2</i>	Эпигенетическая регуляция	10–20	4–5	10–20	20	НД
<i>SF3B1</i>	Сплайсинг mRNA	2	2	4	4	НД
<i>SRSF2</i>	Сплайсинг mRNA	НД	НД	4–7	19–33	Низкая общая выживаемость и выживаемость без лейкоза у больных ПМФ
<i>U2AF1</i>	Сплайсинг mRNA	< 1	< 1	1–8	НД	НД
<i>ZRSR2</i>	Сплайсинг mRNA	< 1	< 1	< 1	НД	НД
<i>TP53</i>	Репарация ДНК	1–2	1–2	1–2	25	Низкая общая выживаемость у больных пост-МПН ОЛ

mRNA — микроРНК; ИП — истинная полицитемия; МПН — миелопролиферативные неоплазии; НД — нет данных; ОЛ — острый лейкоз; ПМФ — первичный миелофиброз; ЭТ — эссенциальная тромбоцитемия.

функционирования больного и выяснения его общего состояния. Для оценки симптомов опухолевой интоксикации (конституциональных симптомов) разработаны опросники, такие как MPN-SAF и MPN 10. Наиболее частыми жалобами являются утомляемость (87 %), нарушение концентрации внимания (62 %), чувство раннего насыщения после приема пищи (61 %), безразличие (61 %), ночная потливость (53 %), зуд (53 %), дискомфорт в левом подреберье (52 %), боль в костях (48 %), потеря массы тела (34 %), лихорадка (19 %). Каждый вариант МПН имеет свои особенности клинических проявлений, что определяется характером заболевания (табл. 2).

Фенотипические признаки заболевания определяются кариотипом и молекулярными характеристиками. Е.А. Wassie и соавт. рассмотрели спектр и распространенность цитогенетических аномалий, а также их связь с фенотипом у 835 больных ПМФ. Цитогенетическое исследование проведено у 826 (99 %) из 835 больных. Патология кариотипа выявлена у 352 (42,6 %) пациентов, в т. ч. 240 (68,2 %) больных имели одну цитогенетическую аномалию, 64 (18,2 %) — две и 48 (13,6 %) — сложные нарушения кариотипа. При сравнительной характеристике этих групп был выявлен ряд особенностей: более низкий уровень тромбоцитов ( $p < 0,01$ ), высокий балл по шкале DIPSS+ ( $p = 0,03$ ), молодой возраст больных ( $p = 0,04$ ) в группе со сложным кариотипом. Наиболее частыми были 20q– (23,3 %), 13q– (18,2 %), +8 (11,1 %), +9 (9,9 %), удвоение участка хромосомы 1q (9,7 %) и –7/7q– (7,1 %). Моносомия определялась у 20 (5,7 %) пациентов. Другие аномалии: i(17q) (1,4 %), 12p– (1,1 %), inv(3) (0,6 %) — встречались гораздо реже. Трисомия хромосомы 8 наиболее часто обнаруживалась при комплексных нарушениях кариотипа (25 %). Из 500 пациентов, наблюдаемых в течение года после установления первоначального диагноза, у 179 (35,8 %) отмечено появление дополнительных аномалий, причем у 121 (67,6 %) человека выявлена одна аномалия, у 31

Таблица 2. Симптомы миелопролиферативных неоплазий в различных подгруппах

Симптом	Частота, %			
	ЭТ (n = 874)	ИП (n = 729)	ПМФ (n = 486)	Всего (n = 2089)
Утомляемость	84	85	94	87
Чувство раннего насыщения	56	60	74	61
Дискомфорт в левом подреберье	48	48	65	52
Безразличие	54	60	76	61
Снижение концентрации внимания	58	62	68	62
Ночная потливость	47	52	63	53
Зуд	46	62	52	53
Боль в костях	45	48	53	48
Лихорадка	17	19	24	19
Снижение массы тела	28	33	47	34

(17,3 %) — две и у 27 (15,1 %) — сложный кариотип. Наиболее распространенными дополнительными нарушениями были 20q– (24,6 %), 13q– (15,1 %), +8 (14 %) и +9 (10 %), тогда как 11q– (1,7 %), i(17q) (1,1 %), inv(3) (0,6 %) и 12p– (0,6 %) встречались редко.

Молекулярно-генетическое исследование проведено у 476 пациентов. Мутации *JAK2* выявлены в 43 % случаев, *CALR* — в 42 %, *MPL* — в 3 %; 12 % наблюдений составили пациенты с тройной негативной МПН ( $p = 0,3$ ). С мутацией гена *CALR* была связана делеция 13q ( $p = 0,03$ ), а трисомия хромосомы 9 — с мутацией гена *JAK2* ( $p = 0,02$ ).

Отмечено, что при сложных нарушениях кариотипа заболевание протекало с анемией ( $p = 0,02$ ), лейкопенией ( $p < 0,01$ ) и тромбоцитопенией ( $p < 0,01$ ), пациенты были молодого возраста ( $p = 0,04$ ). С лейкопенией и тромбоцитопенией были связаны аномалии 20q–, +8 и –7/7q–. Ни у одного больного с 20q– не было выявлено лейкоцитоза ( $p = 0,02$ ). В случаях 13q– заболевание протекало с тромбоцитозом ( $p < 0,01$ ). Трисомия 8 кор-

релировала со спленомегалией ( $p < 0,01$ ), но симптомы опухолевой интоксикации отсутствовали ( $p < 0,01$ ). Одновременное наличие 13q- и мутации гена *CALR* у больных ПМФ определяют благоприятный прогноз [E.A. Wassie et al. Abstract 403].

Накопление данных о клинических и молекулярно-генетических особенностях МПН послужило поводом для пересмотра диагностических критериев, принятых в 2008 г.

На 56-м конгрессе ASH предложены диагностические критерии, которые будут приняты в 2015 г.

### Эссенциальная тромбоцитемия

#### Большие критерии:

1. Постоянно повышенное число тромбоцитов ( $> 450 \times 10^9/\text{л}$ ).

2. Наличие в костном мозге пролиферации мегакариоцитов с преобладанием крупных и гигантских мегакариоцитов со зрелой морфологией. Отсутствует значительное увеличение или «левый сдвиг» элементов гранулоцитопоза либо эритроцитопоза.

3. Отсутствие других миелопролиферативных заболеваний.

4. Мутация *JAK2V617F*, *MPL*, *CALR*.

#### Малый критерий:

1. Отсутствие причин реактивного тромбоцитоза.

Для установления диагноза ЭТ необходимо наличие всех 4 больших или 1–3 больших и 1 малого критерия.

### Первичный миелофиброз

#### Большие критерии:

1. Пролиферация и атипия мегакариоцитов, сочетающиеся с ретикулиновым и/или коллагеновым фиброзом костного мозга; при отсутствии выраженного ретикулинового фиброза — повышенная клеточность костного мозга с пролиферацией клеток гранулоцитарного ряда и угнетением эритропоза (префиброзная клеточная фаза ПМФ).

2. Отсутствие критериев ИП, *BCR/ABL1* + хронического миелолейкоза, миелодиспластического синдрома или других миелопролиферативных заболеваний.

3. Наличие мутаций *JAK2V617F*, *MPL*, *CALR*.

#### Малые критерии:

1. Исключение реактивного фиброза (инфекции, аутоиммунные заболевания, хроническое воспаление, волосатоклеточный лейкоз, другие злокачественные лимфо-пролиферативные заболевания, метастазы солидных опухолей, токсические миелопатии).

2. Анемия или пальпируемая селезенка.

3. Лейкоэритробластоз или повышение активности лактатдегидрогеназы.

Для установления диагноза ПМФ необходимо наличие всех 3 больших или 1–2 больших и всех малых критериев.

### Истинная полицитемия

#### Большие критерии:

1. Гемоглобин более 165 г/л у мужчин, более 160 г/л у женщин или гематокрит более 49 % у мужчин, более 48 % у женщин.

2. При биопсии костного мозга — трехростковая гиперплазия (панмиелоз): увеличение пролиферации элементов эритроидного, гранулоцитарного, мегакариоцитарного ростков миелопоэза.

3. Мутация гена *JAK2V617F* или мутация гена *JAK2* в экзоне 12.

#### Малый критерий:

1. Уровень эритропозина сыворотки ниже референсных значений.

Для постановки диагноза ИП необходимо наличие всех 3 больших или 1–2 больших и 1 малого критерия.

## ПРОГНОЗ

Для определения тактики терапии необходима оценка индивидуального прогноза у больного. Несмотря на то, что ряд молекулярных маркеров оказывает неблагоприятное влияние на исход, данные параметры не включены в практическую систему оценки прогноза. Как известно, большинство больных ЭТ без мутаций гена *JAK2* или *MPL* имеют соматическую мутацию в гене *CALR*, ряд мутаций в других генах, участвующих в эпигенетической регуляции, сплайсинге mRNA, лейкозной трансформации. В то же время лечение препаратами интерферона  $\alpha$ -2b может привести к редукции клона клеток, несущих мутацию *JAK2V617F*, а клетки, несущие мутацию гена *TET2*, устойчивы к интерферонотерапии. Однако недостаточно данных о чувствительности к интерферонам в случае МПН с другими мутациями. С целью изучить мутационный профиль *JAK2*-негативных больных ЭТ и определить прогностическую роль выявленных мутаций E. Verger и соавт. провели исследование с использованием секвенирования следующего поколения (Next Generation Sequencing, NGS). В исследование было включено 24 пациента с ЭТ без мутаций *JAK2* или *MPL*, которые получали препараты интерферона- $\alpha$ . Средний возраст больных составил 52 года (диапазон 31–68 лет). Соотношение мужчины/женщины равно 1:2 (33 vs 67 %). Длительность наблюдения составила от 1,5 до 9 лет. Продолжительность лечения препаратами интерферона  $\alpha$ -2b равнялась 12–102 мес. (медиана 30 мес.). Полный или частичный гематологический ответ на фоне интерферонотерапии достигнут в 96 % наблюдений (23 из 24 больных). Мутации гена *CALR* 1-го типа выявлены у 10 (42 %) больных, 2-го типа — у 8 (33 %), других типов — у 6 (25 %). Дополнительные мутации обнаружены у 8 пациентов: *ASXL1* ( $n = 2$ ), *TET2* ( $n = 2$ ), *IDH2* ( $n = 2$ ), *CSF3R* ( $n = 1$ ) и *SH2B3* ( $n = 1$ ). Динамическое наблюдение за больными с исследованием образцов крови в динамике позволило выявить, что аллельная нагрузка *CALR* снизилась с 43 (диапазон 8–57 %) до 26 % (диапазон 0–49 %) ( $p = 0,018$ ). Молекулярный ответ был определен как отсутствие выявления мутации гена *CALR*; частичный — как снижение аллельной нагрузки *CALR*  $> 50$  %; минимальный — как снижение *CALR* на 49–50 %; отсутствие ответа — как снижение аллельной нагрузки *CALR*  $< 25$  %. Представляет интерес полученная информация о том, что молекулярный ответ на проводимую интерферонотерапию и прогноз были хуже у пациентов с дополнительными мутациями по сравнению с теми, у кого выявлена только мутация гена *CALR*: лечение было без ответа у 50 % пациентов (vs 40 %), процент клеток с мутацией *CALR* увеличился за период последующего наблюдения у 25 % больных (vs 7 %), а снижение аллельной нагрузки *CALR* было в среднем 32 % (vs 45 %). В отличие от *CALR* аллельная нагрузка других мутантных генов не изменялась. В данном исследовании за время наблюдения

(медиана 12 лет) новые мутации не были выявлены ни у одного пациента.

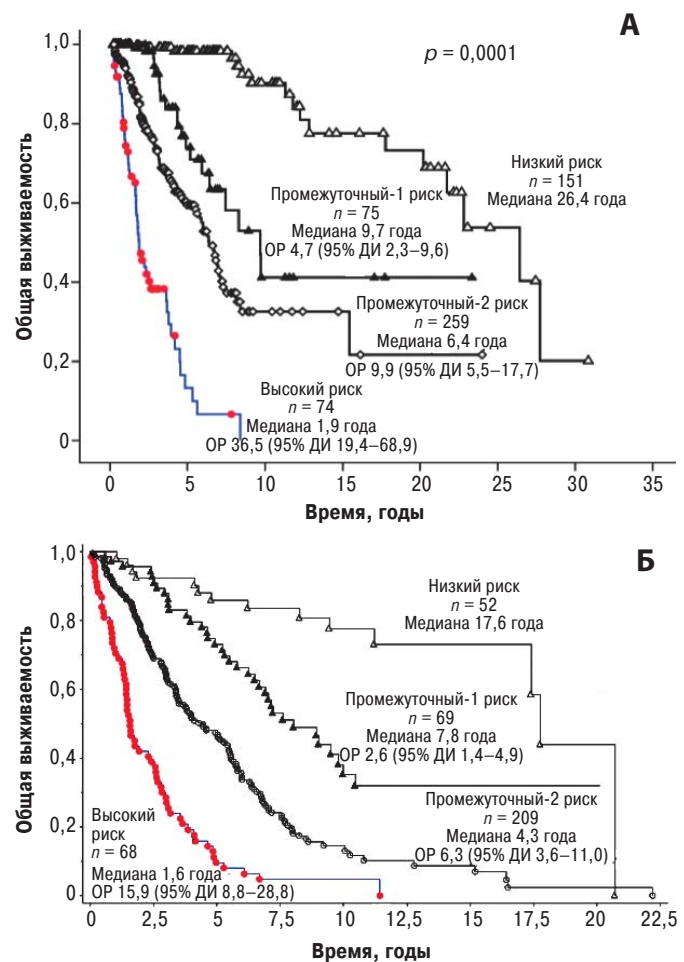
Можно сделать заключение, что при ЭТ с отсутствием мутации *JAK2V617F* у 96 % больных при проведении терапии препаратами интерферона  $\alpha$ -2b можно получить гематологический ответ. Тем не менее мутационный фон оказывает влияние на молекулярный ответ при интерферонотерапии. Клоны с мутацией гена *CALR* высокочувствительны к интерферонотерапии, в то время как клоны, несущие мутации в других генах, менее восприимчивы к терапии препаратами интерферона  $\alpha$ -2b [E. Verger et al. Abstract 407].

У больных ПМФ прогноз на момент постановки диагноза определяется с использованием прогностической шкалы IPSS. При динамическом наблюдении рестадирование осуществляется по динамической системе IPSS (DIPSS) или DIPSS+. Мутационный статус не включен в прогностические шкалы, однако мутации *ASXL1*, *SRSF2*, *EZH2*, *IDH1/2* или случаи *JAK2*-/*CALR*-/*MPL*- оказывают неблагоприятное влияние на прогноз заболевания. А.М. Vannucchi и соавт. модифицировали IPSS, путем ее дополнения клинически значимыми мутациями. В исследование было включено 986 пациентов с ПМФ, которые находились под наблюдением в двух гематологических центрах: итальянская группа ( $n = 588$ ) и пациенты, наблюдавшиеся в клинике Мейо ( $n = 398$ ).

Медиана наблюдения в итальянской группе составила 3,6 года (95%-й доверительный интервал [95% ДИ] 0,03–30,8). За этот период умерло 196 (33,3 %) больных, у 67 — констатировано прогрессирование заболевания с исходом в острый лейкоз. Распределение больных по группам риска IPSS было следующим: низкий риск — у 26 %, промежуточный-1 — у 30 %, промежуточный-2 — у 24 %, высокий риск — у 20 %. Мутации выявлены у большинства больных (*JAK2* — 63 %, *CALR* — 20 %, *MPL* — 6 %, *EZH2* — 7 %, *ASXL1* — 22 %, *IDH1/2* — 2,5 % и *SRSF2* — 9 %). Конституциональные симптомы присутствовали у 28,6 % пациентов. Заболевание протекало со спленомегалией у 75 % больных (у 18 % пациентов селезенка более 10 см ниже края реберной дуги). Степень фиброза III степени при гистохимическом окрашивании трепанобиоптата костного мозга выявлена в 21 % наблюдений. Цитогенетическое исследование проведено у 252 пациентов, нарушения кариотипа были обнаружены у 35 %, из них 9,5 % случаев классифицированы как неблагоприятные. Однофакторный анализ позволил выявить следующие признаки неблагоприятного прогноза: возраст старше 60 лет, конституциональные симптомы, анемия (гемоглобин менее 100 г/л), лейкоциты более  $25 \times 10^9$ /л, тромбоциты менее  $200 \times 10^9$ /л, бластные клетки в крови более 1 %, спленомегалия более 10 см ниже края реберной дуги, фиброз костного мозга III степени, неблагоприятный кариотип, отсутствие мутаций генов *JAK2*, *MPL* и *CALR* (тройные негативные МПН), мутации *ASXL1*, *SRSF2*, *EZH2* или *IDH1/2*. При многофакторном анализе возраст старше 60 лет, конституциональные симптомы, гемоглобин менее 100 г/л, тромбоциты менее  $200 \times 10^9$ /л, мутации *ASXL1* и *SRSF2* оставались значимыми факторами неблагоприятного прогноза. Этим переменным была присвоена следующая значимость в баллах: 1,5, 0,5, 0,5, 1,0, 1,5, 0,5 и 0,5 соответственно. Впоследствии выделены четыре группы риска: низкий (0–0,5 балла), промежуточный-1 (1–1,5 балла), про-

межуточный-2 (2–3,5 балла) и высокий ( $\geq 4$  баллов) (рис. 3, А). Разделенные по суммарному числу баллов, эти группы статистически значимо различаются по показателям общей выживаемости.

В группе больных из клиники Мейо медиана наблюдения составила 7,5 года. За время наблюдения умер 271 (68 %) пациент, у 51 (13 %) больного выявлено прогрессирование заболевания с исходом в острый лейкоз. Распределение пациентов по группам риска с использованием шкалы DIPSS+ следующее: низкий риск — у 13 % больных, промежуточный-1 — у 18 %, промежуточный-2 — у 37 % и высокий — у 32 %. Мутационный статус: *JAK2* выявлен в 51 % случаев, *CALR* — в 30 %, *MPL* — в 7,5 %, *EZH2* — в 5 %, *ASXL1* — в 36 %, *IDH1/2* — в 5,6 % и *SRSF2* — в 13 %. В данной когорте больных также подтверждено прогностическое значение нового индекса MIPSS (Molecular International Prognostic Score System) (рис. 3, Б). MIPSS имеет независимую прогностическую ценность и является шкалой, альтернативой DIPSS [А.М. Vannucchi et al. Mutation-Enhanced International Prognostic Scoring System (MIPSS) for



**Рис. 3.** Общая выживаемость больных в группах риска согласно прогностическому индексу MIPSS [А.М. Vannucchi et al. Abstract 405]:

А — итальянская группа больных; Б — больные, наблюдающиеся в клинике Мейо  
95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОР — отношение рисков.

**Fig. 3.** Overall survival rate of high-risk group patients according to MIPSS prognostic index [A.M. Vannucchi et al. Abstract 405]:

A — patients in Italy; B — patients in the Mayo Clinic  
95% ДИ — 95% confidence interval; OR — hazard ratio.

Primary Myelofibrosis: An AGIMM & IWG-MRT Project. Abstract 405].

Для определения прогноза у больных ПМФ используют международные прогностические системы, которые основаны на оценке клинических параметров, цитогенетических характеристиках [Blood 2011; 118: 4595]. В ряде исследований показано прогностическое значение молекулярных аномалий [NEJM 2013; 369: 2379; Leukemia 2013; 27: 1861].

Для оценки прогностической значимости генетических aberrаций проведено клиническое исследование с включением 964 больных. Пациенты наблюдались в клинике Мейо. Средний возраст больных 65 лет; соотношение мужчины/женщины 1,3:1 (62 vs 48 %). Цитогенетическое исследование проведено у 903 (94 %) пациентов. Исследование мутационного статуса *JAK2/CALR/MPL* выполнено у 532 (55 %) участников, *ASXL1* — у 425 (44 %), *SRSF2* — у 434 (45 %), *IDH1/2* — у 376 (39 %) и *EZH2* — у 268 (28 %). Распределение больных по группам риска согласно шкале DIPSS+ было следующим: высокий риск — 37 %, промежуточный-1 — 15 %, промежуточный-2 — 37 %, низкий — 11 %.

Пациенты были стратифицированы на 4 категории цитогенетического риска: очень высокий риск — моносомный кариотип, *inv(3)*, *i(17q)*,  $-7/7q-$ , aberrации 11q или 12p ( $n = 67$ ); высокий риск — комплексный немносомный кариотип, две цитогенетические аномалии, не включенные в категорию очень высокого риска,  $5q-$ , трисомия хромосомы 8, другие трисомии, кроме +9, и остальные цитогенетические нарушения, не включенные в другие категории риска ( $n = 164$ ); промежуточный риск — изолированная  $20q-$ ,  $1q+$  или любые другие изолированные транслокации и  $-Y$  либо другие хромосомные аномалии, связанные с половыми хромосомами ( $n = 133$ ); низкий риск — нормальный кариотип либо изолированные  $13q-$  или +9 ( $n = 539$ ).

Мутационный статус: 58 % — *JAK2*, 25 % — *CALR*, 7 % — *MPL*, 36 % — *ASXL1*, 11 % — *SRSF2*, 5 % — *IDH1/2* и 6 % — *EZH2*. В 131 наблюдении выявлены мутации гена *CALR*: тип 1 ( $n = 110$ ) и тип 2 ( $n = 21$ ).

Медиана наблюдения за больными составила 4,2 года. За время наблюдения 664 (69 %) больных умерли, у 70 (7 %) было прогрессирование заболевания с исходом в острый лейкоз. При проведении многофакторного анализа сформированы следующие группы: очень высокого цитогенетического риска (отношение рисков [OP] 4,2; 3 балла), высокого цитогенетического риска (OP 1,9; 1 балл), с тройным негативным МПН (OP 2,8; 2 балла), *JAK2* (OP 3,1; 2 балла), *MPL* (OP 3,1; 2 балла), с мутацией гена *CALR* типа 2 (OP 3,6; 2 балла), *ASXL1* (OP 1,9; 1 балла) и *SRSF2* (OP 1,9; 1 балл). Такие показатели, как *EZH2* ( $p = 0,24$ ) и *IDH1/2* ( $p = 0,68$ ), а также промежуточный цитогенетический риск ( $p = 0,87$ ) не были статистически значимыми.

На основании проведенного исследования с включением 369 больных разработан прогностический индекс GPSS (Genetics-Based Prognostic Scoring System): благоприятный прогноз (0 баллов), промежуточный-1 (1–2 балла), промежуточный-2 (3–4 балла) и неблагоприятный прогноз ( $\geq 5$  баллов). В соответствии с этими группами медиана выживаемости была более 17,9 (OP 4,7; 95% ДИ 1,7–13,0), 5 (OP 10,7; 95% ДИ 3,9–29,3) и 2,2 года (OP 29,2; 95% ДИ 10,6–80,0) (рис. 4). Па-

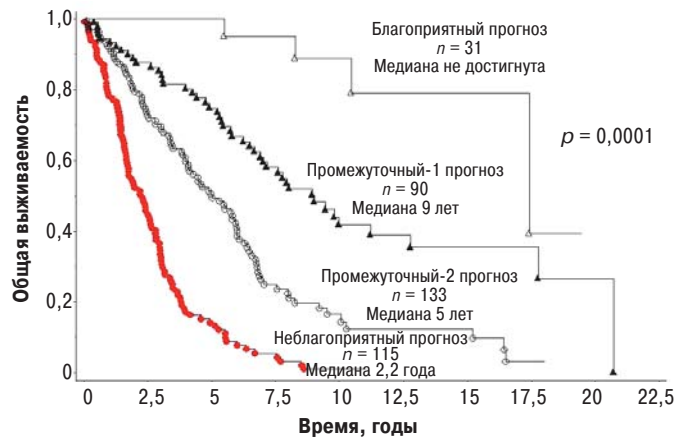


Рис. 4. Общая выживаемость пациентов с первичным миелофиброзом из клиники Мейо в соответствии с прогностическим индексом GPSS ( $n = 369$ ) [A. Tefferi et al. Abstract 406]

Fig. 4. Overall survival rate of patients with primary myelofibrosis in the Mayo Clinic in accordance with the GPSS prognostic index ( $n = 369$ ) [A. Tefferi et al. Abstract 406]

циенты из группы неблагоприятного прогноза по GPSS характеризовались высоким риском прогрессирования заболевания с исходом в острый лейкоз (OP 7,4; 95% ДИ 2,1–26,3).

Прогностическое различие общей выживаемости и выживаемости без лейкоза между группами больных с высоким/промежуточным-2 и низким/промежуточным-1 прогнозом по GPSS было подтверждено в независимом исследовании Университета Флоренции на когорте из 183 пациентов (рис. 5) [A. Tefferi et al. Integration of Mutations and Karyotype Towards a Genetics-Based Prognostic Scoring System (GPSS) for Primary Myelofibrosis. Abstract 406].

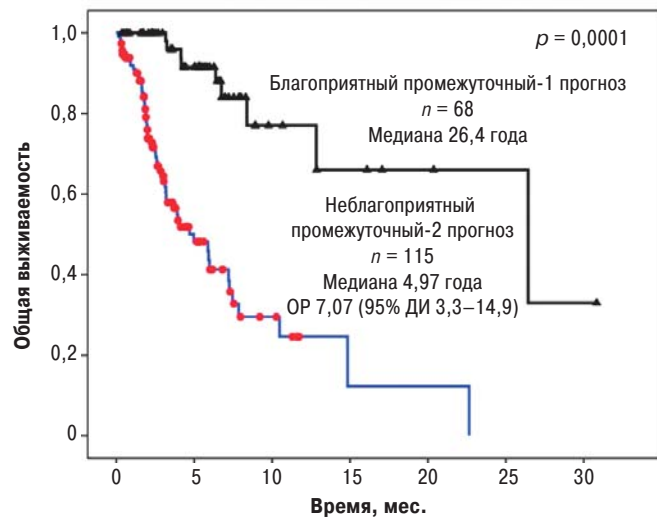


Рис. 5. Общая выживаемость пациентов с первичным миелофиброзом из Университета Флоренции в соответствии с прогностическим индексом GPSS ( $n = 183$ ) [A. Tefferi et al. Abstract 406]

95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; OP — отношение рисков.

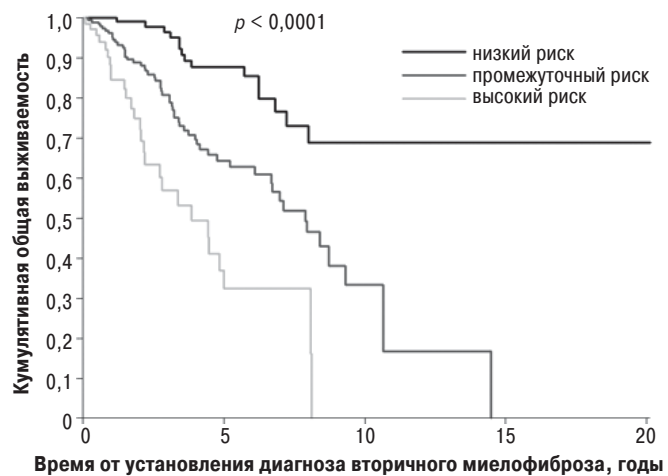
Fig. 5. Overall survival rate of patients with primary myelofibrosis in Florence University in accordance with the GPSS prognostic index ( $n = 183$ ) [A. Tefferi et al. Abstract 406]

95% ДИ — 95% confidence interval; OP — hazard ratio.

ИП и ЭТ могут прогрессировать с развитием вторичного миелофиброза — постполицитемического (пост-ИП МФ) и посттромбоцитемического миелофиброза (пост-ЭТ МФ). В то время как прогноз при ПМФ определяется на основе ряда прогностических шкал (IPSS, DIPSS, DIPSS+, MIPSS, GPSS), прогностических систем для вторичного миелофиброза не существует.

С целью разработать прогностическую модель для оценки выживаемости больных вторичным миелофиброзом проведено исследование с включением 718 пациентов из 16 международных центров. Из 718 пациентов 364 (51 %) были с пост-ЭТ МФ и 354 (49 %) с пост-ИП МФ. Средний период наблюдения составил 2,4 года (диапазон 0,6–20,1 года). Средний возраст был 64 года (диапазон 25–96 лет), 370 (52 %) участников — мужчины. Среднее время от установления диагноза ИП или ЭТ до развития вторичного миелофиброза составило 10,6 года (диапазон 2,5–41 года). Со спленомегалией заболевание протекало у 606 (87 %) больных. Конституциональные симптомы присутствовали у 329 (47 %) пациентов. Цитогенетическое исследование выполнено 338 больным. Нормальный кариотип выявлен у 222 (66 %) больных, цитогенетический риск определен как высокий у 40 (12 %) пациентов, как низкий — у 76 (22 %). Мутация V617F гена *JAK2* обнаружена у 679 (73 %) пациентов. Анемия, лейкоцитоз, тромбоцитопения, пожилой возраст, бластные клетки в периферической крови, *JAK2V617F*, конституциональные симптомы, время от постановки диагноза ЭТ или ИП до развития миелофиброза, тромбозы в анамнезе оказывают неблагоприятное влияние на общую выживаемость, что было показано при проведении однофакторного анализа ( $p = 0,043$ ). В то же время диагноз (пост-ЭТ МФ или пост-ИП МФ), спленомегалия, цитогенетический риск и сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания не показали неблагоприятного воздействия на общую выживаемость. В многофакторном анализе выявлено, что возраст старше 65 лет (ОР 2,6; 95% ДИ 1,5–4,4;  $p < 0,0001$ ), время от постановки диагноза ИП или ЭТ до развития вторичного миелофиброза более 15 лет (ОР 1,7; 95% ДИ 1,3–2,2;  $p < 0,0001$ ), тромбоз в анамнезе (ОР 2,1; 95% ДИ 1,2–3,6;  $p = 0,01$ ), наличие конституциональных симптомов (ОР 1,8; 95% ДИ 1,3–2,6;  $p = 0,001$ ), уровень гемоглобина менее 100 г/л (ОР 1,5; 95% ДИ 1,1–2,0;  $p = 0,004$ ) и бластные клетки в периферической крови более 1 % (ОР 2,1; 95% ДИ 1,5–2,8;  $p < 0,0001$ ) оказывают неблагоприятное влияние на общую выживаемость.

Для разработки прогностической модели каждому фактору было присвоено значение в баллах: возраст старше 65 лет — 3 балла, время до развития вторичного миелофиброза более 15 лет — 2 балла, тромбоз в анамнезе — 2 балла, конституциональные симптомы — 2 балла, гемоглобин менее 100 г/л — 1 балл и бластные клетки в периферической крови 1 % и более — 2 балла. Шкала MYSEC-PM включает три категории: низкий риск (0–2 балла), средний риск (3–6 баллов), высокий риск (> 6 баллов). Общая выживаемость различалась у пациентов из разных групп риска ( $p < 0,0001$ ). Медиана выживаемости в группе низкого риска не достигнута, в группе промежуточного риска составила 7,9 года (95% ДИ 6,7–9,3), а в группе высокого — 3,8 года (95% ДИ 2,2–5,0) (рис. 6).



**Рис. 6.** Кумулятивная общая выживаемость больных вторичным постполицитемическим и посттромбоцитемическим миелофиброзом в соответствии с прогностической моделью MYSEC-PM ( $n = 718$ ) [F. Passamonti et al. Abstract 1826]

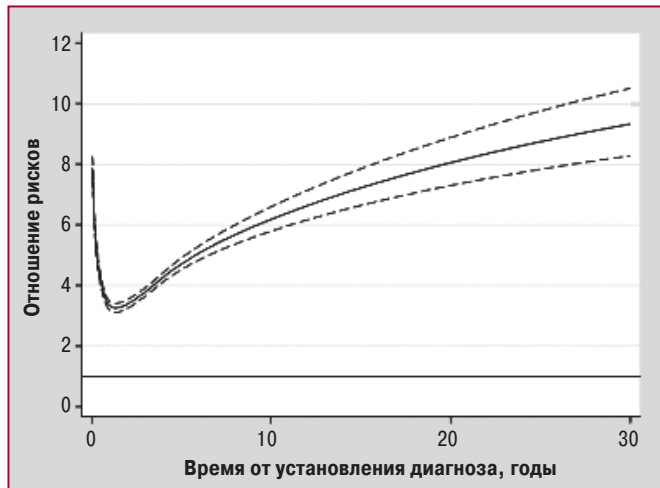
**Fig. 6.** Cumulative overall survival rate of patients with secondary post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis in accordance with MYSEC-PM prognostic model ( $n = 718$ ) [F. Passamonti et al. Abstract 1826]

Авторы делают заключение, что прогностическая модель MYSEC-PM может быть использована при выборе лечебной тактики с учетом ожидаемой продолжительности жизни больных [F. Passamonti et al. A New International Multicenter-Based Model to Predict Survival in Myelofibrosis Secondary to Polycythemia and Thrombocythemia The Mysec Prognostic Model (MYSEC-PM). Abstract 1826].

Пациенты с МПН имеют высокий риск тромботических осложнений по сравнению с общей популяцией. M. Hultcrantz и соавт. провели популяционное исследование оценки риска артериальных и венозных тромбозов у больных МПН в сравнении с контрольной группой [M. Hultcrantz. Risk of Arterial and Venous Thrombosis in 11,155 Patients with Myeloproliferative Neoplasms and 44,620 Matched Controls; A Population-Based Study. Abstract 632]. В исследование включено 11 155 пациентов с МПН из национального регистра рака, контрольная группа составила 44 620 человек из реестра общей численности населения. Средний возраст при постановке диагноза МПН был 69 лет. Соотношение мужчины/женщины составило 1:1,2. Артериальный тромбоз был определен как инфаркт миокарда, ишемический инсульт или тромбоэмболия легочной артерии. Венозный тромбоз был определен как легочная эмболия, тромбоз глубоких вен, тромбоз воротной, селезеночной, мезентериальных вен, тромбоз церебральных венозных синусов. Частота артериальных и венозных тромбозов в момент постановки диагноза МПН ( $\pm 30$  дней) составила 55 (95% ДИ 51,1–59,2 %;  $p < 0,001$ ) и 64,3 % (95% ДИ 42,2–98,1 %;  $p < 0,001$ ) в сравниваемых группах.

У больных МПН по сравнению с контрольной группой риск артериального тромбоза был в 4,9 раза выше (95% ДИ 4,8–5,0;  $p < 0,001$ ), риск инфаркта миокарда — в 3,9 раза выше (95% ДИ 3,7–4,1;  $p < 0,001$ ), а инсульта — в 4,9 раза выше (95% ДИ 4,8–5,0;  $p < 0,001$ ). Риск артериального тромбоза у пациентов с МПН снижался сразу после установления диагноза, однако возрастал при динамическом наблюдении (рис. 7). По сравнению с





**Рис. 7.** Риск артериальных тромбозов у больных миелопролиферативными неоплазиями [M. Hultcrantz. Abstract 632]

**Fig. 7.** Risk of arterial thrombosis in patients with myeloproliferative neoplasms [M. Hultcrantz. Abstract 632]

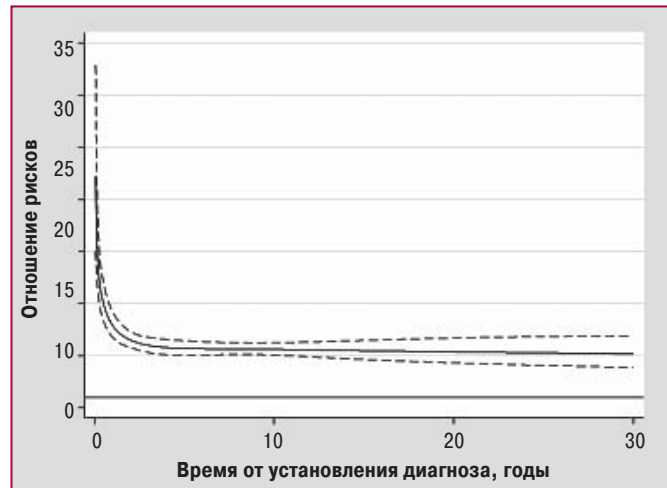
контрольной группой ОР артериального тромбоза у пациентов с ИП составило 5,0 (95% ДИ 4,8–5,2), с ЭТ — 4,7 (95% ДИ 4,6–5,0), с ПМФ — 5,0 (95% ДИ 4,7–5,3) и с МПН неклассифицируемым — 5,1 (95% ДИ 4,8–5,5).

ОР венозного тромбоза у пациентов МПН составило 6,7 (95% ДИ 6,2–7,2;  $p < 0,001$ ), эмболии легочной артерии — 7,5 (95% ДИ 6,6–8,5;  $p < 0,001$ ) и тромбоза глубоких вен — 5,3 (95% ДИ 4,8–5,9;  $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой; ОР тромбоза воротной, селезеночной, мезентериальных вен у больных МПН — 41,4 (95% ДИ 26,4–64,9;  $p < 0,001$ ). Риск венозного тромбоза у пациентов с МПН снижался сразу после установления диагноза, а затем оставался стабильным во время периода наблюдения (рис. 8). Пациенты с ИП имели больший риск венозного тромбоза по сравнению с контрольной группой (больные ЭТ и ПМФ) (ОР 9,0; 95% ДИ 8,0–10,1), в то время как риск венозного тромбоза у пациентов с ЭТ (ОР 5,4; 95% ДИ 4,7–6,2), ПМФ (ОР 6,0; 95% ДИ 4,9–7,5) и МПН неклассифицируемыми (ОР 4,6; 95% ДИ 3,7–5,7) был значительно выше.

Таким образом, у пациентов с МПН риск тромботических осложнений в 5–7 раз выше по сравнению с общей популяцией. Полученные результаты показывают, что гематологи после установления диагноза МПН должны учитывать риск тромбозов, а пациентам должна проводиться профилактика тромботических осложнений [M. Hultcrantz et al. Abstract 632].

Тромбозы воротной, селезеночной, мезентериальных вен являются причиной таких осложнений, как портальная гипертензия, варикозное расширение вен пищевода и желудка, асцит, печеночная недостаточность. По данным метаанализа, МПН являются основной причиной тромбоза воротной вены (31,5 %) и синдрома Бадда—Киари (40,9 %) [H.J. Smalberg et al., 2012].

С целью охарактеризовать клинические особенности, течение заболевания и прогностические факторы двумя группами ученых (Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative [AGIMM] и International Working Group — Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment [IWG-MRT]) проведено исследование с участием 16 гематологических центров.



**Рис. 8.** Риск венозных тромбозов у больных миелопролиферативными неоплазиями [M. Hultcrantz. Abstract 632]

**Fig. 8.** Risk of venous thrombosis in patients with myeloproliferative neoplasms [M. Hultcrantz. Abstract 632]

В исследование включено 519 пациентов с МПН и тромбозом воротной, селезеночной, мезентериальных вен (75,1 %) или синдромом Бадда—Киари (24,9 %). В качестве группы сравнения выступила когорта из 1686 пациентов с МПН без тромбоза: ЭТ — 741 (43,9 %) случай, ИП — 684 (39,7 %), ПМФ — 261 (16,4 %). Медиана наблюдения составила 89,9 мес. (диапазон 0,5–430 мес.).

Средний возраст на момент постановки диагноза МПН составил 43,5 (диапазон 12–90 лет) vs 60,6 года (диапазон 12–93 года) в контрольной группе ( $p < 0,0001$ ). Возраст в группе больных МПН с абдоминальными тромбозами был 44 года (диапазон 15–85 лет). В 121 (23,6 %) наблюдении абдоминальный тромбоз диагностирован до развития МПН в среднем за 26 мес. (диапазон 4–307 мес.) и в 153 (29,8 %) наблюдениях после диагностики МПН в среднем через 68 мес. (диапазон 4–362 мес.). Мутация *JAK2V617F* была выявлена у больных ИП с тромбозами и в контрольной группе в равном числе наблюдений — 94 %, у больных ЭТ — в 84 и 61 % ( $p < 0,0001$ ), у больных ПМФ — в 88,1 и 68 % соответственно ( $p = 0,006$ ). В группе больных ИП с тромбозом уровень гемоглобина был статистически значимо ниже по сравнению с контрольной: медиана 174 vs 185 г/л ( $p < 0,0001$ ). Полиморфизмы генов тромбофилии выявлены у 38,5 % больных МПН с тромбозами vs 11,8 % в контрольной группе ( $p < 0,0001$ ). Риск повторного венозного тромбоза был выше в группе больных МПН с тромбозом в сравнении с контрольной группой ( $p = 0,02$ ), различий в риске артериального тромбоза не выявлено. Геморрагические осложнения были более частыми в группе МПН с тромбозами (32 %) в сравнении с контрольной группой (7,2 %) ( $p < 0,0001$ ), в основном связанные с варикозным расширением вен пищевода.

Различий в прогрессировании ИП и ЭТ с развитием вторичного миелофиброза или исходом в острый лейкоз не выявлено. В то же время риск острого лейкоза был ниже в группе больных ПМФ с тромбозом ( $p < 0,00001$ ). Общая выживаемость была хуже у больных ЭТ с тромбозом в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,0001$ ). В группе больных ПМФ с тромбозами распределение по

группам риска было следующим: низкий риск — 65 %, промежуточный-1 — 20 %, промежуточный-2 — 10 % и высокий — 5 % по сравнению с 15, 34, 25 и 26 % в контрольной группе соответственно. При ПМФ выживаемость была лучше в группе больных с тромбозами ( $p < 0,00001$ ), что было связано с большой долей пациентов из группы низкого риска по IPSS. Причинами смерти пациентов были прогрессирование заболевания с исходом в острый лейкоз (15,4 %), другие онкологические заболевания (13,8 %), прогрессирование заболевания без трансформации в острый лейкоз (10,8 %), повторные тромбозы воротной, селезеночной, мезентериальных вен (10,8 %), печеночная недостаточность и тромбоз других вен (по 7,7 %), сердечная недостаточность и другие артериальные тромбозы (по 6,2 %), кровотечение (5,5 %), почечная недостаточность и инфекции (по 4,6 %). Терапия после состоявшегося тромбоза включала антикоагулянты в 77 % случаев, антиагреганты — в 21,2 %, их сочетание — в 1,8 %; 70 % больных получали цитотоксические препараты, 12,4 % — проведено хирургическое лечение (трансъюгулярный внутрипеченочный портосистемный шунт).  $\beta$ -блокаторы назначены 48,5 % больных. Терапия  $\beta$ -блокаторами коррелировала с улучшением выживаемости ( $p = 0,041$ ).

Таким образом, больные МПН с тромбозами — преимущественно женщины, молодого возраста. Тромбоз служит первым проявлением МПН у  $1/4$  больных. В случае ИП и ЭТ в большинстве наблюдений выявляют мутацию *JAK2V617F* или полиморфизмы генов тромбофилии. Группа пациентов с ПМФ и тромбозом требует дальнейшего наблюдения [L. Pieri et al. Abstract 3163].

Поскольку у большинства больных МПН характеризуется медленным, индолентным течением, все больше внимания уделяется сопутствующим заболеваниям. Коморбидность — сосуществование двух и/или более синдромов либо заболеваний у одного пациента, патогенетически взаимосвязанных между собой или совпадающих по времени. В случаях МПН степень влияния сопутствующей патологии на состояние пациента может быть разной. Сосуществующие заболевания могут сопровождаться клиническими проявлениями, которые существенно влияют на общее состояние и качество жизни пациента, а также способны лимитировать возможности проведения терапии, в том числе, таргетной. В случае классических Ph-негативных МПН остается неясным, какой индекс коморбидности следует использовать для оценки сопутствующих заболеваний. Самый популярный индекс Чарлсона (Charlson Index) используется для прогноза летальности. Кумулятивная шкала рейтинга заболеваний (Cumulative Illness Rating Scale [CIRS]) оценивает все системы организма без учета определенного диагноза.

В группе из 125 пациентов с МПН, наблюдавшихся в клинике Аахен (Германия), проведена оценка значимости индексов коморбидности CIRS и Charlson. Мужчины составили 57 %, возраст больных 26–88 лет (средний возраст 62 года). Средний балл CIRS был 4 (диапазон 0–22 балла), средний балл Charlson — 0 (диапазон 0–8 баллов). Больные ПМФ характеризовались высокими средними баллами CIRS и Charlson (средний CIRS — 9, Charlson — 2). Больные МПН с тромбогеморрагическими осложнениями имели средний CIRS 7,5 балла и средний Charlson 1 балл. Больные без осложнений имели средние показатели CIRS и Charlson

3 и 0 баллов соответственно. Средний возраст больных с осложнениями был несколько выше — 68,5 года в сравнении с группой без осложнений (58 лет). По шкале CIRS в группе с осложнениями медиана составила 58 % (5 из 14 баллов). Неблагоприятное влияние на результаты лечения МПН оказывают гипертензия и другие болезни сердечно-сосудистой системы и почек, а также метаболические заболевания (табл. 3).

Шкала коморбидности CIRS разработана для пациентов пожилого возраста с целью определить профили риска при сердечно-сосудистых и метаболических заболеваниях. Оценка Charlson была создана для больных среднего и молодого возраста, однако ряд сопутствующих заболеваний (гипертензия и болезни обмена веществ) не включен в данную шкалу. В совокупности это свидетельствует о необходимости разработки шкалы коморбидности для больных МПН [S. Isfort et al. Comorbidity Scales in Patients with Myeloproliferative Neoplasms: Which One Fits Best. Abstract 1828].

## ЛЕЧЕНИЕ

Лечение больных МПН развивалось одновременно с пониманием молекулярного патогенеза этих заболеваний. В 2005 г. открыта мутация *JAK2V617F*, которая присутствует у 95 % больных ИП, 50–60 % больных ПМФ и ЭТ. Другие мутации, такие как *JAK2* в экзоне 12, *MPL*, *CALR*, *TP53*, *TET2*, *ASXL1*, *IDH1/2*, *EZH2*, играют важную роль в патогенезе МПН и определяют особенности клинического течения, прогноз заболевания, эффективность проводимой терапии. После открытия мутации гена *JAK2* разработаны таргетные препараты — ингибиторы *JAK2*. В настоящее время зарегистрирован только руксолитиниб, другие препараты находятся на стадии клинических исследований. Тактику ведения больных МПН можно разделить на наблюдение и симптоматическую терапию, проведение медикаментозного лечения и аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК). Медикаментозная терапия включает в себя циторедуктивное лечение, монотерапию ингибиторами *JAK2*, комбинированную терапию. Успешное лечение больных МПН возможно только при активном наблюдении и последовательном выборе подходов к терапии.

**Таблица 3.** Результаты оценки по шкалам коморбидности [S. Isfort. Abstract 1828]

	Все больные				Пост-ЭТ, пост-ИП		
	ИП	ЭТ	ПМФ	МФ	ХМЛ	СМ	
Число больных	125	20	36	27	17	11	14
Медиана возраста, лет	62	62,5	54	68	74	61	49,5
CIRS (без лейкоза)	4	5,5	3	5	9	3	4
CIRS (включая лейкоз)	6	7	5	6	11	5	5,5
Charlson (без лейкоза)	0	1	0	0	2	0	0
Charlson (включая лейкоз)	2	3	2	2	4	2	2
Больные МПН с осложнениями ( $n = 42$ )							
CIRS (без лейкоза)				7,5			
CIRS (включая лейкоз)				9,0			
Charlson (без лейкоза)				1,0			
Charlson (включая лейкоз)				3,0			

СМ — системный мастоцитоз; ХМЛ — хронический миелолейкоз.

АллоТГСК в настоящее время является единственным методом, позволяющим излечить больных. В первую очередь кандидатами на аллоТГСК являются больные ПМФ с ожидаемой продолжительностью жизни менее 5 лет (промежуточный-2 и высокий риск по шкале DIPSS). Однако отсутствуют проспективные рандомизированные исследования, которые позволяют оценить критерии для отбора пациентов на выполнение аллоТГСК. Проведение аллоТГСК является сложным вопросом, с учетом риска осложнений, связанных с самой процедурой (развитие недостаточности трансплантата, реакция «трансплантат против хозяина», токсичность режимов кондиционирования), состояния пациентов (возраст, трансфузионно-зависимая анемия), наличие HLA-идентичного донора.

Симптоматическая терапия (антиагреганты, кровопускания/эритроцитаферез) должна проводиться всем больным МПН. Низкие дозы ацетилсалициловой кислоты назначают для профилактики сердечно-сосудистых осложнений при ИП и ЭТ. В исследовании ECLAP показано статистически значимое снижение риска сердечно-сосудистых осложнений без существенного увеличения риска кровотечений у больных ИП, которые получали профилактическую терапию антиагрегантами. Всем больным ИП независимо от риска развития тромбгеморрагических осложнений и больным ЭТ при наличии микрососудистых симптомов показана терапия низкими дозами ацетилсалициловой кислоты при отсутствии абсолютных противопоказаний. Роль ацетилсалициловой кислоты в лечении больных ЭТ, отнесенных в группу низкого риска тромбгеморрагических осложнений, остается неизученной.

В соответствии с рекомендациями ELN (European LeukemiaNet) показанием к назначению циторедуктивной

терапии служит ИП или ЭТ с высоким риском тромбгеморрагических осложнений. Препаратом первой линии является гидроксимочевина, применение которой снижает риск тромбозов. Анагрелид — препарат второй линии терапии при ЭТ. Однако в исследовании ANAHYDRET (Anagrelide vs. Hydroxyurea — Efficacy and Tolerability Study in Patients With Essential Thrombocythaemia), включавшем 259 больных ЭТ с высоким риском тромбгеморрагических осложнений, не выявлено различий в частоте артериальных и венозных тромбозов, кровотечений и отмены терапии при сравнении анагрелида и гидроксимочевины.

У больных ИП и ЭТ терапия препаратами пегилированного интерферона  $\alpha$ -2a служит альтернативой гидроксимочевине. При лечении препаратами пегилированного интерферона  $\alpha$ -2a возможно достижение полного гематологического ответа в 76 % наблюдений при ИП и в 77 % — при ЭТ. Данная терапия приводит к снижению аллельной нагрузки *JAK2*. В настоящее время проводится рандомизированное многоцентровое исследование по сравнению эффективности и безопасности гидроксимочевины и пегилированного интерферона  $\alpha$ -2b у больных ИП высокого риска (Pegylated Interferon Alpha-2b Versus Hydroxyurea in Polycythemia Vera, PROUD-PV).

Больным с ЭТ при резистентности/непереносимости гидроксимочевины и анагрелида могут быть назначены препараты интерферона.

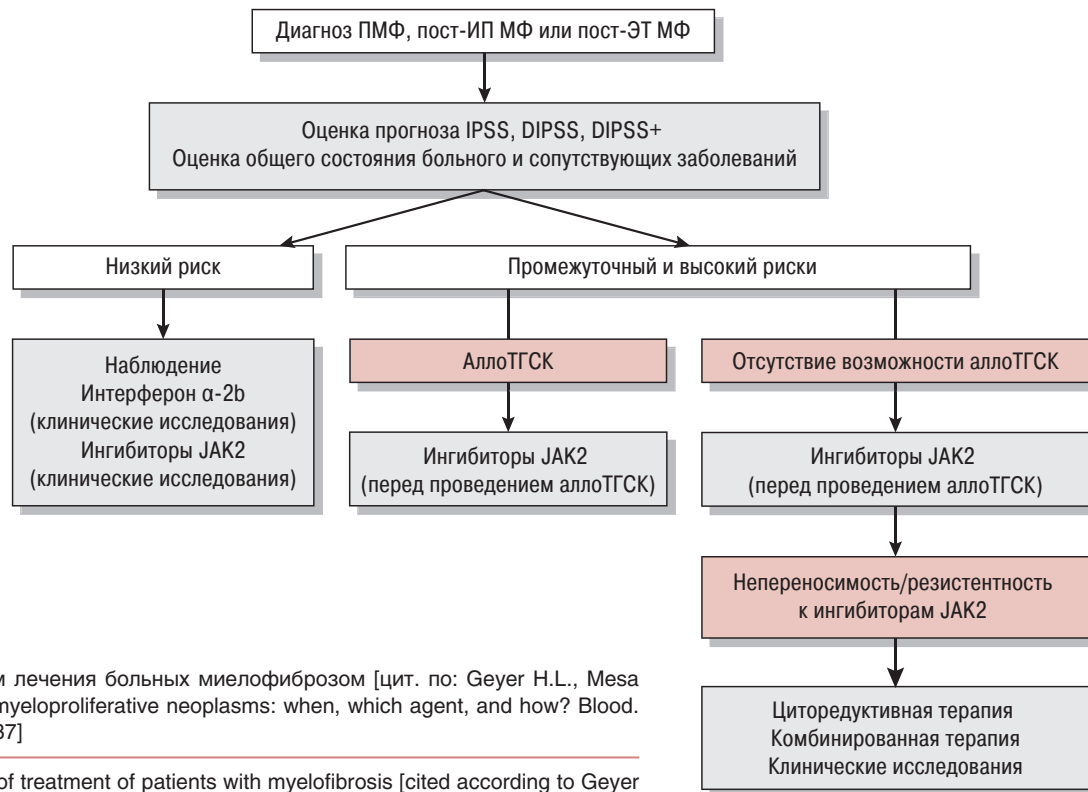
Алгоритм лечения больных ЭТ и ИП представлен на рис. 9.

Руксолитиниб является первым таргетным препаратом (ингибитором *JAK2*) при ПМФ. Руксолитиниб приводит к сокращению размеров селезенки, купированию сим-



**Рис. 9.** Алгоритм лечения больных эссенциальной тромбоцитемией и истинной полицитемией [цит. по: Geyer H.L., Mesa R.A. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? Blood. 2014; 124: 3529–37]

**Fig. 9.** Algorithm of treatment of essential thrombocythemia and polycythemia vera [cited according to Geyer H.L., Mesa R.A. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? Blood. 2014; 124: 3529–37]



**Рис. 10.** Алгоритм лечения больных миелофиброзом [цит. по: Geyer H.L., Mesa R.A. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? Blood. 2014; 124: 3529–37]

**Fig. 10.** Algorithm of treatment of patients with myelofibrosis [cited according to Geyer H.L., Mesa R.A. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? Blood. 2014; 124: 3529–37]

птомов опухолевой интоксикации. Отдаленные результаты демонстрируют лучшую общую выживаемость больных, получающих руксолитиниб. В исследовании COMFORT-II показано снижение риска смерти на 42 % в группе руксолитиниба по сравнению с наилучшей доступной терапией (ОР 0,58; 95% ДИ 0,36–0,93), ожидаемая общая выживаемость составила 71 и 54 % соответственно при длительности наблюдения 3,5 года. Лечение руксолитинибом эффективно при ПМФ с кахексией: увеличение массы тела наблюдалось у 96 % пациентов, повышение уровня общего холестерина — у 97 %.

Алгоритм лечения больных ПМФ представлен на рис. 10.

#### КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ. ПЕРСПЕКТИВЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РН-НЕГАТИВНЫМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ НЕОПЛАЗИЯМИ

В настоящее время проводятся клинические исследования II фазы по применению руксолитиниба при ИП и ЭТ. В исследование включено 34 больных ИП с непереносимостью/резистентностью к гидроксимочевине. Длительность терапии руксолитинибом в среднем составила 152 нед., что позволило снизить и поддерживать уровень гематокрита менее 45 % без кровопусканий/эритроцитифереза. Сокращение размеров селезенки к 24-й неделе терапии достигнуто у 97 % больных ИП и у 44 % с ЭТ. У всех пациентов отмечается купирование симптомов опухолевой интоксикации. RESPONSE — многоцентровое рандомизированное исследование III фазы по оценке эффективности и безопасности руксолитиниба в сравнении с наилучшей доступной терапией у больных ИП с непереносимостью/резистентностью к гидроксимочевине. К 32-й неделе терапии уменьшение селезенки и полная

гематологическая ремиссия достигнуты соответственно у 71,8 и 23,6 % больных, получавших лечение руксолитинибом, по сравнению с 33 и 8,9 % в группе, получавшей наилучшую доступную терапию.

Поскольку в основе патогенеза МПН лежит активация сигнальных путей JAK-STAT с каскадной активацией сигнальных путей STAT3/5, PDK, MAPK, обосновано проведение комбинированной терапии с воздействием на различные этапы патогенеза. Это легло в основу клинических исследований по проведению комбинированной терапии с включением ингибиторов JAK2 и низкомолекулярных препаратов, которые обладают синергизмом и позволяют нивелировать/компенсировать ряд побочных эффектов, например анемию.

PI3K/AKT/mTOR — внутриклеточный сигнальный путь, центральными компонентами которого являются фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K), киназа AKT и мишень рапамицина млекопитающих (mTOR). Это один из универсальных сигнальных путей, характерных для большинства клеток человека. Он отвечает за «уход» от апоптоза, рост, пролиферацию клеток, метаболизм. Ингибиторы PI3K в сочетании с руксолитинибом продемонстрировали значительный антипролиферативный эффект за счет потенцирования чувствительности клеток к данному классу препаратов при комбинированной терапии с ингибиторами JAK2. mTOR функционирует аналогично регуляторной серин-треонинкиназе, важной для клеточного метаболизма, апоптоза и пролиферации. Комбинированная терапия с включением ингибиторов mTOR не приводит к снижению аллельной нагрузки JAK2, что может свидетельствовать о наличии альтернативных путей регуляции.

Гистондеацетилазы (HDAC) — ферменты, которые модифицируют гистоны и изменяют конформацию хрома-

Таблица 4. Новые лекарственные препараты и комбинированная терапия при миелопролиферативных неоплазиях

Вид противоопухолевой терапии	Ингибитор JAK (мишень)	Второй препарат	Фармакологическая группа второго препарата	Вариант МПН
Монотерапия	Пакритиниб (JAK2, FLT3)	—	—	ПМФ
	Момелотиниб (JAK1, JAK2)	—	—	ПМФ, ИП, ЭТ
	NS-018 (JAK2)	—	—	ПМФ
	INCB-039110	—	—	ПМФ
Комбинированная терапия	Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	Даназол	Андроген	ПМФ
	Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	Помалидомид	Иммуномодулятор	ПМФ
	Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	Талидомид	Иммуномодулятор	ПМФ
	Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	Азацидин	Гипометилирующий агент	ПМФ
	Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	Панобиностат	Ингибитор HDAC	ПМФ
	Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	GS-6624	Антифибротический агент	ПМФ
	Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	PRM-151	Антифибротический агент	ПМФ
	Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	BKM-120	Ингибитор PI3-киназы	ПМФ
	Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	LDE-225	Ингибитор сигнального пути Hedgehog	ПМФ
	Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	АллоТГСК	—	ПМФ
Руксолитиниб (JAK1, JAK2)	АллоТГСК	—	ПМФ	

тина, играют важную роль в регуляции экспрессии генов. Ингибиторы гистондеацетилазы (гивиностат) также являются рациональной терапией МПН. В исследованиях *in vitro* продемонстрировано, что JAK2V617F-позитивные клетки в 2–3 раза более чувствительны к ингибиторам HDAC по сравнению с JAK2-негативными клетками.

Секреторные белки семейства Hedgehog играют важную роль в регуляции клеточной дифференцировки в процессе эмбриогенеза. В литературе рассматривается и другая модель участия Hedgehog-зависимого сигнального каскада в канцерогенезе. В ее основе лежит предположение о гиперэкспрессии Hedgehog-белков как первопричине малигнизации клеток. Эта модель предполагает, что стимулятором повышенной пролиферации и выживаемости опухолевых клеток являются аутокринные сигналы, которые воспринимаются Hedgehog-белками, синтезируемыми самой же опухолью. Данная модель подтверждается результатами экспериментов *in vitro*, согласно которым Hedgehog-белки стимулировали пролиферацию опухолевых клеток, а моноклональные антитела, нейтрализующие Hedgehog-белки, ингибировали этот процесс. Таким образом, сигнальный путь Hedgehog может быть потенциальной мишенью в терапии МПН.

Антифибротические препараты функционируют как эндогенные белки, которые активируются при повреждении местных тканей и стимулируют дифференцировку макрофагов и моноцитов с последующим обратным развитием фиброза. В клинических исследованиях II фазы антифибротический препарат пентраксин (PTX-2) продемонстрировал регрессию фиброза костного мозга,

нормализацию показателей гемограммы, купирование симптомов интоксикации и сокращение размеров селезенки.

Иметелстат — мощный ингибитор теломеразы, который оказывает селективное воздействие на фиброз в костном мозге, показал высокую эффективность в достижении молекулярных, гематологических ремиссий и в обратном развитии фиброза костного мозга у больных ПМФ.

Иммуномодулирующие препараты высокоэффективны для лечения анемии и тромбоцитопении.

Ряд препаратов проходит клинические исследования в комбинации с ингибиторами JAK2 (табл. 4).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние 10 лет, прошедших со времени открытия мутации JAK2V617F, достигнут беспрецедентный прогресс в понимании биологии МПН, что привело к развитию новых терапевтических возможностей. Лечение МПН требует индивидуализированного подхода, который включает в себя оценку сопутствующих заболеваний, прогноза, своевременное принятие решения о проведении аллоТГСК. Ингибиторы JAK2 зарекомендовали себя как эффективные препараты для лечения больных ПМФ и ИП (в рамках клинических исследований). В настоящее время проводятся клинические исследования комбинированной терапии, что позволит повысить эффективность и снизить токсичность лечения.

## МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ

Подготовил канд. мед. наук А.Д. Ширин

На конгрессе ASH-2014 миелодиспластические синдромы (МДС) рассматривались в рубрике «Постерные и устные доклады», а также «Образовательная программа».

Постерные и устные доклады были посвящены следующим основным направлениям:

- биология, патогенез, диагностика;
  - прогноз;
  - лечение.
- Образовательная программа включала в себя лекции:
- «Одобрённые к применению и новые препараты для лечения миелодиспластических синдромов»;
  - «Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при МДС и апластической анемии».

### БИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА

Среди постерных сообщений по биологии МДС наибольший интерес, с нашей точки зрения, представляли доклады, посвященные исследованию профиля генов, которые могут быть вовлечены в патогенез заболевания, а также результатам иммунофенотипирования в диагностике МДС.

Известно, что у большинства пациентов с МДС костный мозг характеризуется гипер- или нормоклеточностью и только у незначительной части обнаруживается гипоклеточный вариант заболевания, который может представлять диагностические (морфологические и цитогенетические) трудности. Выявление молекулярных аномалий может служить дифференциально-диагностическим критерием МДС и других гипопластических состояний костного мозга.

В связи с этим группой исследователей из США проведено исследование «Отличия геномных изменений при гипоклеточном и гипер-/нормоклеточном вариантах МДС» (Distinct Pattern of Genomic Changes Associated with Hypoplastic Compared to Hyper/Normoblastic Myelodysplastic Syndromes (MDS)) [A. Nazha et al. Abstract 4603]. Авторами осуществлен геномный анализ с помощью направленного секвенирования следующего поколения (NGS) 62 генов, выбранных на основании более высокой частоты их обнаружения в группе пациентов с МДС, которые были ранее проанализированы с помощью полного экзомного секвенирования (WES). Обнаруженные мутации могут гипотетически участвовать в патогенезе МДС.

В исследование было включено 237 больных МДС, 32 (14 %) из которых характеризовались гипоплазией костного мозга. В отличие от гипер- и нормоклеточного вариантов МДС при гипопластическом отмечались статистически значимые более низкие показатели числа лейкоцитов (медиана  $2,4$  vs  $3,7 \times 10^9/\text{л}$ ;  $p = 0,002$ ), нейтрофилов (медиана  $1,07$  vs  $1,67 \times 10^9/\text{л}$ ;  $p = 0,009$ ) в крови и высокое число бластных клеток ( $6$  vs  $2$  %;  $p = 0,006$ ) в костном мозге. Статистически значимые различия между другими признаками, включая цитогенетические аномалии при стандартном исследовании и показатели общей 3-летней выживаемости, не получены.

Тем не менее сравнение групп больных с гипер- и гипоклеточным МДС выявило существенные различия в частоте соматических мутаций генов. Так, мутации *SF3B1* ( $3$  vs  $17$  %;  $p = 0,02$ ) и *IDH1/2* ( $0$  vs  $9$  %;  $p = 0,06$ ) чаще наблюдались при гиперклеточном костном мозге, в то время как мутации *DDX41/DDX54* ( $2$  vs  $9$  %;  $p = 0,08$ ) обнаруживались реже. Кроме того, патологический клон по числу мутаций генов был больше при гиперклеточном МДС ( $61,9$  vs  $46,8$  %;  $p = 0,02$ ). Набор мутаций *SF3B1*, *SUZ12*, *ZRSR2*, *U2AF1*, *TET2*, *STAG2*, *ASXL1*, *BCOR* и *BCORL1* чаще выявлялся в качестве доминирующих клональных нарушений у пациентов с гипо- и гиперклеточными вариантами МДС. Таким образом, обнаруженные нарушения профиля экспрессии генов могут служить дополнительным диагностическим критерием МДС с гипо- и гиперплазией костного мозга.

Не меньшие диагностические трудности могут возникать при цитопении без очевидных доказательств МДС. Диагностика МДС базируется прежде всего на выявлении цитопении в сочетании с соответствующими диспластическими признаками и клональным характером гемопоэза. Последний выражается в наличии типичных аномалий кариотипа. Следует отметить, что частота клональных соматических мутаций у пациентов с цитопенией без морфологических доказательств МДС неизвестна. Выявление нарушений кариотипа только при наличии цитопении может свидетельствовать о повышенном риске развития МДС.

В работе J. Hall и соавт. «Исследование соматических мутаций, указывающих на клональный характер гемопоэза, у значительной когорты пациентов с цитопенией и отсутствием диагностических критериев МДС» (Somatic Mutations Indicative of Clonal Hematopoiesis Are Present in a Large Fraction of Cytopenic Patients Who Lack Diagnostic Evidence of MDS) [J. Hall et al. Abstract 3272] было сформировано три группы больных с цитопенией (верифицированный МДС [ $n = 8$ ], с подозрением на МДС [ $n = 12$ ] и с отсутствием МДС [ $n = 66$ ]). Диагноз устанавливался на основании общепринятых методов: морфологического, цитогенетического, а также иммунофенотипического. У всех 86 больных (медиана возраста 71 год) осуществлен анализ мутаций 21 гена, связанного с МДС: *SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *ZRSR2*, *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, *DNMT3A*, *EZH2*, *ASXL1*, *SETBP1*, *TP53*, *PHF6*, *RUNX1*, *ETV6*, *CBL*, *NRAS*, *KIT*, *JAK2*, *MPL*, *NPM1*. В группе с отсутствием МДС обнаружены мутации генов *TET2*, *TP53*, *RUNX1*, *DNMT3A*, *SETBP1*, *ASXL1*, *ZRSR2*. Различий в возрасте, показателях гемограммы у пациентов с мутациями и без них в этих группах сравнения не было.

Перечисленные мутации у лиц без верифицированного МДС могут представлять собой ранние этапы формирования данного заболевания при отсутствии каких-либо его клинических проявлений. В то же время эти мутации могут свидетельствовать об иных заболеваниях, влияющих на нормальное кроветворение, и быть охарактеризованы как «случайные», которые наблюдаются у людей пожилого возраста. Представляет интерес, что в этом проспективном исследовании число больных без убедительных клинико-лабораторных симптомов МДС оказалось значительно меньше, чем тех, у кого присутствуют очевидные признаки болезни. Выявление

этой группы пациентов (с обнаруженными мутациями генов) свидетельствует о том, что цитопения клонального характера может встречаться существенно чаще, чем при «классическом» МДС.

Наблюдение за лицами с этим генетическим профилем может позволить определить вероятность развития МДС. Секвенирование и проведение дополнительных анализов у остальных 59 пациентов продолжаются.

Мутации в генах, которые в большинстве наблюдений являются МДС-ассоциированными, могут обнаруживаться у большинства пациентов с минимальными морфологическими признаками заболевания или без таковых.

Мнение о том, что обнаружение мутаций генов у больных с цитопенией представляет собой метод, подтверждающий диагноз МДС, разделяют F. Albitar и соавт. С их точки зрения, у пациентов с цитопенией необходимо исключать диагноз МДС. Для подтверждения МДС требуется морфологическая оценка аспирата и материала биопсии костного мозга, а также проведение цитогенетического исследования. В ряде случаев морфологическое исследование может представлять существенные сложности, а отсутствие цитогенетических aberrаций дополнительно затрудняет диагностику. Современные возможности позволяют определить молекулярные изменения, характерные для ранней диагностики МДС.

В постере «**Глубокое секвенирование ДНК в плазме крови как надежный метод, подтверждающий диагноз МДС**» (Deep Sequencing of Peripheral Blood Plasma DNA As a Reliable Test for Confirming the Diagnosis of Myelodysplastic Syndrome) [F. Albitar et al. Abstract 1909] представлены соответствующие данные. С целью диагностики ранних вариантов МДС (число бластных клеток в костном мозге менее 5 %) авторы публикации определяли диагностические возможности исследования внеклеточной ДНК в плазме методом NGS.

В работе изучались следующие гены: *ASXL1*, *ETV6*, *EZH2*, *IDH1*, *IDH2*, *NRAS*, *CBL*, *RUNX1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *TET2*, *TP53*, *U2AF1* и *ZRSR2*.

Глубокое секвенирование внеклеточной ДНК в плазме 16 пациентов с ранними вариантами МДС выявило наличие одной или нескольких мутаций генов, что подтверждало диагноз МДС. У 3 (19 %) пациентов была идентифицирована мутация 1 гена, у остальных 13 (81 %) — 2 генов и более. В группе здоровых доноров ( $n = 4$ ) исследование внеклеточной ДНК в плазме не выявило мутаций генов. NGS позволило оценить относительную опухолевую нагрузку в плазме. Она была значимо выше, чем при секвенировании внутриклеточной ДНК ( $p = 0,008$ ), что может указывать на большую чувствительность первого метода, в т. ч. для определения минимальной остаточной болезни.

NGS внеклеточной ДНК у пациентов с цитопенией представляет собой метод, подтверждающий диагноз МДС. Кроме того, анализ мутаций внеклеточной ДНК позволяет выявить отдельные субклоны и возникновение новых клонов опухолевых клеток.

Обращает на себя внимание различие в трактовке результатов, полученных в этом и указанном выше исследованиях, в которых авторы не столь категоричны во мнении об МДС-ассоциированных генах.

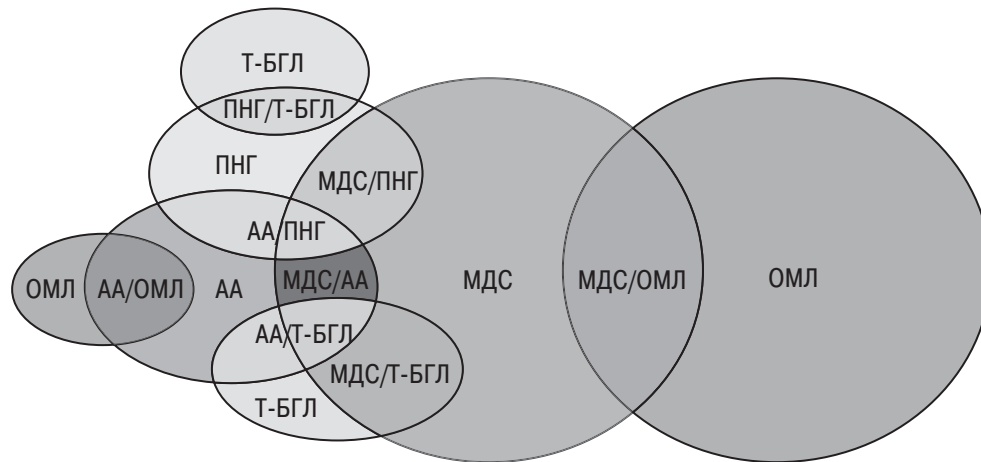
Для определения значения мутаций генов в патогенезе МДС проведено крупное исследование «**Диагно-**

**стические возможности секвенирования следующего поколения в выявлении больных с профилем мутаций генов, соответствующим МДС низкого риска, при идиопатической цитопении неопределенного значения**» (Next-Generation Sequencing (NGS)-Based Profiling of Idiopathic Cytopenia of Undetermined Significance (ICUS) Identifies a Subset of Patients with Genomic Similarities to Lower-Risk Myelodysplastic Syndrome (MDS)) [B. Kwok et al. Abstract 166]. Термин «идиопатическая цитопения неопределенного значения» (ICUS) применяется для описания нарушений кроветворения, сопровождающихся длительной необъяснимой цитопенией без минимальных признаков МДС. В связи с незначительным числом исследований ICUS концепция развития ранней предфазы МДС у некоторых больных не вызывает сомнения, поскольку в дальнейшем может наблюдаться развернутая картина МДС или острый миелоидный лейкоз (ОМЛ). У большинства пациентов с МДС выявляется не менее 1 соматической мутации «водительских» (регуляторных) генов с РНК-сплайсингом и нарушением эпигенетических сигнальных путей.

Авторами проведено секвенирование ДНК с целью изучить мутации генов *SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *ZRSR2*, *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, *DNMT3A*, *EZH2*, *ASXL1*, *SETBP1*, *TP53*, *PHF6*, *RUNX1*, *ETV6*, *CBL1*, *NRAS*, *KIT*, *JAK2*, *MPL* и *NPM1*. В исследование включено 250 пациентов с ICUS и 90 больных с МДС низкого риска. У 82 (33 %) из 250 пациентов с ICUS идентифицировано не менее 1 соматической мутации генов. В этой группе больных (ICUS-MUT) среднее число мутаций составило 1,8 на 1 больного. Мутация *TET2*, ранняя генетическая аномалия, определялась в 38 % наблюдений. Мутация *DNMT3A* выявлена у 20 % пациентов, *ASXL1* — у 18 %, *SRSF2* — у 15 % и *ZRSR2* — у 11 %. Остальные мутации встречались менее чем в 10 % случаев. Наиболее часто в процессе патогенеза участвовали эпигенетические регуляторы и белки, ответственные за сплайсинг РНК. Статистически значимых различий по таким показателям, как медианы уровня гемоглобина, абсолютного числа нейтрофилов и числа тромбоцитов, между группами ICUS-MUT и ICUS дикого типа (ICUS-WT) не было. Единственные различия были в том, что в группе ICUS-MUT преобладали более пожилые пациенты (78 vs 69 лет;  $p < 0,0001$ ) и мужчины (соотношение мужчины/женщины 1,3:1 vs 0,8:1;  $p = 0,0139$ ).

При МДС низкого риска 1 мутация и более определялась у 75 (83 %) из 90 пациентов, среднее число мутаций (как и в группе ICUS-MUT) составило 1,8 на 1 больного. Мутация *SF3B1* была характерна (47 %) для МДС с кольцевыми сидеробластами. Частота мутаций генов *ASXL1*, *TET2* и *DNMT3A* составила 16, 14 и 10 % соответственно. Остальные мутации встречались менее чем в 10 % наблюдений. Частота эпигенетических нарушений и РНК-сплайсинга составила 65 и 18 %. Различия между медианами абсолютного числа нейтрофилов и числа тромбоцитов, возрастом и полом в группах ICUS-MUT и МДС низкого риска отсутствовали. Единственное значимое различие — более низкий уровень гемоглобина в группе МДС низкого риска (97 vs 105 г/л;  $p = 0,0058$ ).

Вероятно, в связи с несопоставимостью по числу больных МДС и ICUS, а также одинаковым средним числом мутаций на 1 пациента различия в частоте мутаций (83 vs 33 %) не включались в статистический



**Рис. 1.** Перекрестные синдромы [L. Pleyer, D. Neureiter, R. Greil. Clonal Bone Marrow Failure Overlap Syndromes. In: Chronic Myeloid Neoplasias and Clonal Overlap Syndromes. Epidemiology, Pathophysiology and Treatment Options. Ed. by R. Greil, L. Pleyer et al. Wien, New York: Springer, 2010. pp. 281–8. ISBN: 978-3-211-79891-1 (Print); 978-3-211-79892-8 (Online)]

AA — апластическая анемия; ОМЛ — острый миелоидный лейкоз; ПНГ — пароксизмальная ночная гемоглобинурия; Т-БГЛ — Т-клеточная лимфома из больших гранулярных лимфоцитов.

**Fig. 1.** Overlap syndromes [L. Pleyer, D. Neureiter, R. Greil. Clonal Bone Marrow Failure Overlap Syndromes. In: Chronic Myeloid Neoplasias and Clonal Overlap Syndromes. Epidemiology, Pathophysiology and Treatment Options. Ed. by R. Greil, L. Pleyer et al. Wien, New York: Springer, 2010. pp. 281–8. ISBN: 978-3-211-79891-1 (Print); 978-3-211-79892-8 (Online)]

AA — aplastic anemia; ОМЛ — acute myeloid leukemia; ПНГ — paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; Т-БГЛ — T-cell large granular lymphocyte lymphoma.

анализ. Таким образом, метод NGS позволил обнаружить соматические мутации генов у 33 % больных ICUS, что указывает на потенциальную возможность развития у них предфазы МДС.

Отдельный интерес представляют публикации, посвященные вопросу биологии перекрестных миелоидных опухолей, часть из которых раньше обозначалась термином «перекрестные синдромы» (overlap syndromes). Кроме того, под перекрестными синдромами подразумевались наблюдения апластической анемии с признаками дисплазии и МДС с гипоплазией костного мозга, пароксизмальная ночная гемоглобинурия, МДС и др. (рис. 1).

М. Meggendorfer и соавт. в сообщении «Различия, обнаруживаемые при молекулярном анализе между перекрестными МДС/МПО по классификации ВОЗ» (Molecular Analyses of MDS/MPN Overlap Entities According to WHO Classification Reveal a Distinct Molecular Pattern for MDS/MPN, Unclassifiable) [M. Meggendorfer et al. Abstract 4618] предприняли попытку провести более четкую границу между перекрестными миелоидными опухолями.

В классификации ВОЗ миелодиспластические/миелопролиферативные опухоли (неоплазии), т. е. МДС/МПО, выделены в отдельную группу заболеваний на основании клинических, морфологических и ряда лабораторных признаков, указывающих как на МДС, так и МПО. Эти злокачественные опухоли системы крови включают атипичный хронический миелолейкоз (аХМЛ), хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ), МДС/МПО неклассифицируемую (МДС/МПО-Н), рефрактерную анемию с кольцевыми сидеробластами, сопровождающуюся выраженным тромбоцитозом (РАКС-Т). В последние годы в понимание биологии РАКС-Т, ХММЛ и аХМЛ внесена большая ясность в результате проведения ряда молекулярных исследований.

В исследование было включено 179 больных с диагнозами МДС/МПО: аХМЛ ( $n = 35$ ), ХММЛ ( $n = 58$ ),

МДС/МПО-Н ( $n = 39$ ) и РАКС-Т ( $n = 47$ ). Всем больным проведен мутационный анализ генов *ASXL1*, *TET2*, *DNMT3A*, *SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*, *JAK2*, *CALR*, *MPL*, *NRAS*, *KRAS*, *CBL*, *BRAF*, *CSF3R*, *RUNX1*, *SETBP1* и *NPM1*. Стандартный цитогенетический анализ выполнен в 172 из 179 наблюдений. Группу с нормальным кариотипом составили 128 (74 %) пациентов, с аномальным — 44 (26 %).

В общей группе больных наиболее часто выявлялись мутации генов *ASXL1* (41 %) и *TET2* (40 %), а также генов сплайсосомы (большой комплекс, состоящий из РНК и белков) *SF3B1* (31 %) и *SRSF2* (30 %). Часто обнаруживались мутации *JAK2* (21 %), *NRAS* (15 %), *RUNX1* (12 %) и *CBL* (12 %). Мутации других генов отмечены менее чем в 10 % наблюдений.

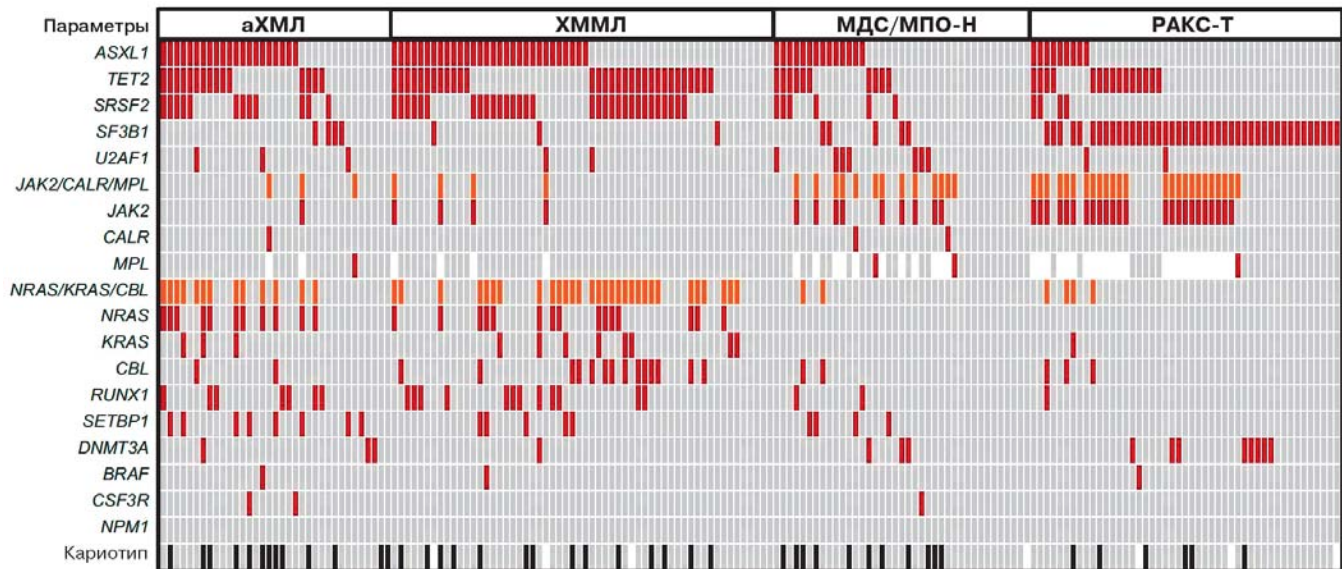
Мутация *ASXL1* при РАКС-Т обнаружена с частотой 19 %, а при аХМЛ — 60 % ( $p < 0,001$ ), в то время как при ХММЛ она выявлялась у 52 % пациентов ( $p = 0,001$ ). Мутация гена *TET2* чаще наблюдалась при ХММЛ (53 %), чем при МДС/МПО-Н (26 %;  $p = 0,007$ ) и РАКС-Т (32 %;  $p = 0,031$ ). Частота мутации *SRSF2* была выше у больных ХММЛ (53 %), чем у пациентов с РАКС-Т (9 %;  $p < 0,001$ ) и МДС/МПО-Н (15 %;  $p < 0,001$ ). Мутация *SF3B1* чаще идентифицировалась при РАКС-Т (92 %), чем при других МДС/МПО ( $p < 0,001$ ): аХМЛ (11 %), ХММЛ (5 %), МДС/МПО-Н (13 %). Важное отличие обнаружено между группами аХМЛ и ХММЛ vs МДС/МПО-Н и РАКС-Т. Оно заключается в нарушениях двух различных сигнальных путей:

1) путь *JAK/STAT* (*JAK2/CALR/MPL*) был со статистически более высокой частотой изменен при МДС/МПО-Н (33 %) и РАКС-Т (53 %) по сравнению с группой аХМЛ и ХММЛ (9 и 7 % соответственно;  $p < 0,001$ );

2) путь *RAS* (*NRAS/KRAS/CBL*) был чаще нарушен при аХМЛ (37 %) и ХММЛ (52 %) по сравнению с МДС/МПО-Н и РАКС-Т (5 и 9 % соответственно;  $p < 0,001$ ).

Авторы работы делают заключение:





**Рис. 2.** Молекулярные аномалии и результаты цитогенетического исследования при миелодиспластических синдромах/миелопролиферативных опухолях. Красный цвет — мутация гена; оранжевый — комбинации мутаций гена; серый — отсутствие мутации/нормальный кариотип; черный — аномальный кариотип; белый — анализ не проводился

**Fig. 2.** Molecular abnormalities and results of cytogenetic tests in myelodysplastic syndromes/myeloproliferative tumors. Red — gene mutations; orange — combinations of gene mutations; grey — absence of mutations/normal karyotype; black — abnormal karyotype; white — no analysis was performed

1) мутации генов *ASXL1* и *TET2* являются наиболее частыми в общей группе больных с перекрестными МДС/МПО;

2) мутация *SF3B1* специфична для РАКС-Т;

3) мутация *SRSF2* чаще обнаруживается у больных ХММЛ и аХМЛ;

4) в патогенезе МДС/МПО-Н важную роль играют мутации всех генов сплайсосомы;

5) нарушение сигнального пути JAK/STAT наиболее часто обнаруживается при МДС/МПО-Н и РАКС-Т;

6) нарушение сигнального пути RAS чаще встречается при аХМЛ и ХММЛ;

7) при МДС/МПО-Н наблюдаются молекулярные нарушения, характерные для всех вариантов МДС/МПО.

Результаты проведенного исследования представлены на рис. 2.

Исследователи из Германии представили результаты сопоставления профиля мутаций генов у больных с del(5q), в т. ч. при перекрестных миелоидных опухолях, в работе «Делеции 5q при МДС и миелопролиферативных опухолях: мутация на молекулярном уровне и формирование фенотипа у больных со смешанными (перекрестными) МПО, МДС, МПО/МДС (неоплазиями)» (5q Deletions in MDS and MPN: The Accompanying Molecular Mutations Determine the Phenotype but TP53 Is Frequently Mutated in All Entities: MPN, MDS and MPN/MDS Overlap) [C. Haferlach et al. Abstract 1926].

Делеция 5q относится к характерным (повторяющимся) цитогенетическим аномалиям. Она может диагностироваться как единственная аномалия кариотипа либо в сочетании с дополнительными хромосомными aberrациями при:

1) миелодиспластических синдромах (МДС);

2) миелопролиферативных опухолях (МПО);

3) миелодиспластических/миелопролиферативных опухолях (неоплазиях) (МДС/МПО).

Цитогенетический анализ проведен у 97, 1869 и 37 пациентов соответственно. При обнаружении del(5q) материал был исследован на молекулярном уровне: МПО ( $n = 24$ ) и МДС/МПО ( $n = 19$ ). В качестве контрольной группы рассматривались данные 48 больных МДС с изолированной del(5q). Набор генов, типичных для миелопролиферативных неоплазий, включал *ASXL1*, *BCOR*, *BRAF*, *CBL*, *DNMT3A*, *ETV6*, *EZH2*, *FLT3*-TKD, *GATA1*, *GATA2*, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *MPL*, *NPM1*, *NRAS*, *PHF6*, *RUNX1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *TET2*, *TP53*, *U2AF1* и *WT1*. Исключение составил ген *RUNX1*, который исследовался отдельно.

Частота делеции 5q была выше при МДС (16,4 % всех наблюдений МДС), что составило 37,8 % случаев с этим заболеванием и аномальным кариотипом по сравнению с МДС/МПО (3,3 vs 11,6 %) и МПО (1,5 vs 7,1 %) соответственно. Частота del(5q) в составе сложного кариотипа была сопоставима между изучаемыми заболеваниями (МДС — 41,4 %, МДС/МПО — 45,9 %, МПО — 43,3 %).

Результаты секвенирования показали, что частота мутаций в целом имеет место у 78 из 91 пациента. Среднее число мутаций генов у одного пациента составило 1,6 в группе МДС/МПО, 1,5 — в группе МПО и 1,2 — в группе МДС. Во всех подгруппах с наибольшей частотой наблюдалась мутация *TP53* и составила для общей когорты 30,8 %. Кроме того, в общей группе больных частота мутации *SF3B1* была 13,2 %, а *TET2* и *ASXL1* — по 11 %. Различий в частоте мутаций рассматриваемых 3 генов не наблюдалось между МПО, МДС и МДС/МПО (*SF3B1* — 8,3, 18,8 и 5,3 %; *TET2* — 12,5, 16,7 и 5,3 %; *ASXL1* — 12,5, 8,3 и 15,8 %). Следует отметить, что мутации *ASXL1*, а также *TP53*, *SF3B1* и *DNMT3A* были взаимоисключающими. Мутация *JAK2*V617F присутствовала в общей когорте в 28,6 % наблюдений: при МПО (58,3 %) и МДС/МПО (47,4 %), а при МДС — только 6,3 % ( $p < 0,0001$ ).

Мутация *DNMT3A* была обнаружена у 18,7 % пациентов; представляется важным, что наиболее часто она имела место при МДС (27,1 %), при МДС/МПО — 10,5 % и МПО — 8,3 % ( $p = 0,034$ ). У пациентов с мутациями *ASXL1*, *JAK2*, *TET2* и *TP53* наблюдалась по крайней мере одна дополнительная мутация. Менее чем в 5 % случаев были обнаружены мутации генов *BCOR*, *CBL*, *EZH2*, *FLT3-TKD*, *GATA2*, *KRAS*, *MPL*, *NRAS*, *RUNX1*, *SRSF2* и *U2AF1*. Мутаций генов *ETV6*, *GATA1*, *IDH1*, *IDH2*, *KIT*, *NPM1*, *PHF6* и *WT1* не выявлено.

Исследователи делают заключение о том, что:

1) у пациентов с *del(5q)* и МПО, МДС или МДС/МПО имелось не менее одной молекулярной мутации в 85,7 % наблюдений;

2) мутация *TP53* часто отмечалась у пациентов с *del(5q)* независимо от заболевания;

3) мутация генов *JAK2*, *SF3B1*, *TET2* и *ASXL1* наблюдалась с частотой более 10 %;

4) мутация *JAK2V617F* наиболее часто встречается при МПО и МДС/МПО, а мутация *DNMT3A* наиболее характерна для МДС.

Влияние мутаций генов на выживаемость больных МДС с делецией 5q было изложено в работе М. Meggendorfer и соавт. «Широкий спектр клинически значимых мутаций при МДС с изолированной *del(5q)*: результаты исследования 26 генов у 119 пациентов» (Molecular Analysis of Myelodysplastic Syndrome with Isolated *Del(5q)* Reveals a Broad Spectrum of Clinically Relevant Mutations: A Study on 119 Patients and 26 Genes) [М. Meggendorfer et al. Abstract 4608].

Цель настоящей работы — определить частоту мутаций 26 генов и исследовать мутационный статус генов применительно к факторам прогноза.

В исследование было включено 119 больных (85 женщин и 34 мужчины) с вариантом МДС с изолированной делецией 5q. Всем пациентам был выполнен анализ мутаций генов *ASXL1*, *BCOR*, *BRAF*, *CBL*, *DNMT3A*, *ETV6*, *EZH2*, *FLT3-TKD*, *GATA1*, *GATA2*, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *KIT*, *NRAS*, *KRAS*, *MPL*, *NPM1*, *PHF6*, *RUNX1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *TET2*, *TP53*, *U2AF1* и *WT1*. У большинства констатирована 1 мутация (60 из 119, 50 %); 2, 3 и 4 мутации у одного пациента обнаруживались реже (соответственно 18 из 119, 15 %; 2 из 119, 2 %; 1 из 119, 1 %). В общей когорте больных наиболее часто наблюдались мутации генов *DNMT3A* и *TP53* (21 из 119, у 18 % в каждой группе), *SF3B1* (20 из 119, 17 %), *TET2* (14 из 119, 12 %), *ASXL1* (9 из 119, 8 %), а также *JAK2* (7 из 119, 6 %).

Несмотря на то что мутации этих 6 генов редко формировали своеобразный «перекрест», они не были полностью взаимоисключающими. Чаще наблюдалась мутация одного из этих генов. Частота мутаций других проанализированных генов составила менее 5 %. Распределение пациентов по группам согласно прогностической шкале IPSS-R относительно числа бластных клеток в костном мозге менее 2 и 2–5 % не позволило выявить корреляцию с числом мутаций генов у пациентов, включенных в данную выборку.

Различия между этими двумя группами в числе лейкоцитов и тромбоцитов отсутствовали. Мутации *TP53* и *SF3B1* коррелировали со старшим возрастом (78 vs 73 лет,  $p = 0,047$ ; 78 vs 73 лет,  $p = 0,050$  соответственно).

Корреляционный анализ числа кольцевых сидеробластов (> 15 %) и мутации *SF3B1* показал, что и при МДС с изолированной *del(5q)* эти два показателя значимо коррелируют со средним числом кольцевых сидеробластов 19 % (диапазон 0–80 %). Обращает на себя внимание тот факт, что у пациентов с мутацией *SF3B1* общая выживаемость была значимо хуже, чем у пациентов с обнаружением гена *SF3B1* дикого типа (медиана общей выживаемости 31 vs 91 мес.;  $p = 0,008$ ).

Кроме того, отмечалась более высокая частота мутации *TP53* при МДС с изолированной *del(5q)* по сравнению с другими вариантами МДС: 21 (18 %) из 119 наблюдений в сравнении с 49 (6 %) из 781 ( $p < 0,001$ ). Тем не менее авторы этого исследования не обнаружили прогностической значимости мутации гена *TP53*. Медиана общей выживаемости в этой группе составила 91 мес.

Следует отметить, что 60 (50 %) из 119 пациентов, включенных в исследование, находились под наблюдением и получали трансфузии эритроцитов или только эритропозтин. Увеличение количества мутаций генов было связано с отчетливой тенденцией к неблагоприятному прогнозу (медиана общей выживаемости 90 vs 36 мес.;  $p = 0,061$ ).

Таким образом:

1) мутация *TP53* наиболее часто обнаруживается при МДС с изолированной *del(5q)*;

2) число кольцевых сидеробластов более 15 % коррелирует с мутацией *SF3B1*;

3) мутация *SF3B1* связана с более низкими показателями общей выживаемости;

4) увеличение количества мутаций имеет отрицательное прогностическое значение.

Помимо молекулярных исследований на конгрессе были представлены сообщения, посвященные роли иммунофенотипирования в диагностике МДС. Дифференциальная диагностика цитопении при МДС и неклональных (неопухольевых) заболеваниях может представлять сложную проблему, особенно в случаях с минимальными признаками дисплазии и отсутствием специфичных для МДС цитогенетических аберраций. Современные рекомендации по диагностике МДС также включают проточную цитометрию.

Th.M. Westers и соавт. представили результаты международного исследования в докладе «Применение иммунофенотипирования с целью обнаружить дисплазию клеток эритроидного ряда в диагностике МДС. Доклад Европейской рабочей группы по проточной цитометрии (LeukemiaNet-MBMC-Flow)» (Diagnostic Application of Immunophenotypic Analysis of Erythroid Dysplasia in Myelodysplastic Syndromes. A Report on Behalf of the European LeukemiaNET-IMDS-Flow Cytometry Working Group) [Th.M. Westers et al. Abstract 1914].

В большинстве случаев субстратом изучения при проточной цитометрии служат клетки-предшественницы и клетки миеломоноцитарного происхождения разных этапов дифференцировки. Изучение иммунофенотипических особенностей эритрокариоцитов методом проточной цитометрии может иметь дополнительное диагностическое значение. В настоящем сообщении приведены результаты многоцентрового исследования, осуществляемого Европейской рабочей группой LeukemiaNet MDS-FC (ELNET-MBMC-Flow) по определению характеристик эритроидных клеток, которые позволяют

дифференцировать клональный дизэритропоэз, обусловленный МДС, от такового при цитопении неклональной природы.

Анализ был основан на принципах проведения проточной цитометрии ELNET-MBMC для ядросодержащих эритроидных клеток (исследование экспрессии CD117, CD71, CD36, CD235a и CD105). Результаты проточной цитометрии клеток эритроидного ряда костного мозга были получены преимущественно у больных МДС низкого риска, пациентов с другими заболеваниями системы крови и у здоровых лиц.

В исследование были включены больные МДС ( $n = 403$ ), здоровые доноры ( $n = 191$ ), больные с неклональными заболеваниями системы крови ( $n = 443$ ). Анализ показал, что экспрессия CD71 и CD36 эритроидными клетками в сочетании с процентным содержанием CD117+ эритроидных клеток-предшественниц позволяют максимально точно провести границу между МДС и цитопенией неклонального происхождения. Перечисленные маркеры были использованы для диагностики дисплазии эритроидных клеток посредством проточной цитометрии с чувствительностью метода 59 % (95%-й доверительный интервал [95% ДИ] 49–68 %) и специфичностью 84 % (95% ДИ 77–89 %). Следует отметить, что проточная цитометрия позволила не у всех пациентов с МДС обнаружить дисплазию эритрокариоцитов, в то время как она определялась при некоторых неклональных процессах.

Оценка результатов проточной цитометрии эритроидных клеток с признаками дисплазии продемонстрировала специфичность 77 % (95% ДИ 29–50 %) и чувствительность 39 % (95% ДИ 66–85 %) для разграничения пациентов с МДС и с неклональными заболеваниями системы крови. В группе с неклональными заболеваниями системы крови и диспластическими изменениями (только по результатам проточной цитометрии) отмечались реактивные состояния гемопоэза и цитопении, связанные с инфекциями. У большинства больных с признаками дисплазии гемопоэза (по данным проточной цитометрии) из контрольной группы была обнаружена аномальная экспрессия CD71. Этот факт указывает на то, что аномальной экспрессии 1 антигена недостаточно для диагностики дисплазии. Только aberrантная экспрессия нескольких антигенов может указывать на диспластические изменения клеток эритроидного ростка со специфичностью 96 и 95 %, однако при существенно сниженной чувствительности (37 и 21 % соответственно) в сравниваемых когортах больных.

Таким образом, анализ эритроидных и миелоидных ростков гемопоэза должен проводиться одновременно с целью повысить чувствительность и специфичность метода. В заключение авторы делают вывод о том, что сочетание определенных эритроидных маркеров с одновременной оценкой методом проточной цитометрии клеток-предшественниц и созревающих элементов миелоидного происхождения может способствовать диагностике МДС.

Проточная цитометрия используется в дополнение к цитоморфологическому методу для оценки диспластических изменений наряду с рутинными цитогенетическими данными («золотой стандарт»). К настоящему времени числовые системы проточной цитометрии при МДС характеризуются средней чувствительностью и специ-

фичностью около 71 и 93 % соответственно. Они основаны на анализе миелоидного и моноцитарного ростков гемопоэза. Исследовательская группа HOVON89 также предположила, что изучение клеток эритроидного ростка может увеличить чувствительность метода проточной цитометрии при МДС. Результаты проведенной работы опубликованы в постере «**Анализ клеток эритроидного ростка с помощью проточной цитометрии — важный дополнительный метод диагностики МДС: исследование группы HOVON89**» (Erythroid Lineage Analysis By Flow Cytometry Is of Highly Additive Value for MDS Diagnosis: A Study on Behalf of the HOVON89 Study Group) [E.M. Cremers et al. Abstract 4667].

Проанализировано 176 аспиратов костного мозга методом проточной цитометрии у 110 больных МДС (низкого и промежуточного-1 риска) и у 66 пациентов из контрольной группы (с дефицитом железа, болезнями накопления железа, дефицитом витамина B<sub>12</sub>, цитопенией в результате приема лекарственных средств или хронических заболеваний, с апластической анемией и пароксизмальной ночной гемоглобинурией).

Для исследования клеток эритроидного ростка использовались маркеры, рекомендованные Европейской группой ELNet iMDS-Flow, например уровень экспрессии CD71 и CD36, а также число (%) клеток-предшественниц эритропоэза (CD117+ или CD105+). Первоначальный анализ результатов проточной цитометрии показал, что из 110 пациентов с доказанным МДС 75 относятся к категории «согласующихся с МДС» (истинно положительной), 23 — к «абберациям, незначительно связанным с МДС», а 12 — к «не согласующимся с МДС» (ложноотрицательным) наблюдениям. В контрольной группе 45 из 66 пациентов соответствовали категории «не согласующихся с МДС» (истинно отрицательной), 20 из 66 наблюдений были отнесены к «абберациям, незначительно связанным с МДС», 1 из 66 — к категории «согласующихся с МДС» (ложноположительной). Чувствительность и специфичность проточной цитометрии при МДС без анализа клеток эритроидного ростка составили 68 и 98 % соответственно.

Метод проточной цитометрии эритроидного ростка показал наличие выраженного дизэритропоэза у 82 из 110 больных МДС, в то время как он присутствовал у 16 из 66 участников контрольной группы (с другими заболеваниями системы крови). Имела место отчетливая корреляция между дизэритропоэзом при проточной цитометрии и морфологическим диагнозом (коэффициент Пирсона  $R = 0,71$ ;  $p < 0,001$ ).

Объединение этих данных с числовой системой проточной цитометрии при МДС продемонстрировало, что из 110 больных МДС у 94 была установлена категория «согласующихся с МДС», у 13 — «абберации, незначительно связанные с МДС» и у 3 — «не согласующихся с МДС». В контрольной группе из 66 пациентов 40 охарактеризованы как «не согласующиеся с МДС», 23 — с «абберациями, незначительно связанными с МДС», 3 — как «согласующиеся с МДС».

Таким образом, объединение результатов проточной цитометрии клеток эритроидного ряда с числовой системой проточной цитометрии при МДС позволило увеличить чувствительность до 85 % и незначительно снизить специфичность метода (95 %).

Кроме того, на конгрессе ASH-2014 рассматривались иммунофенотипические особенности некоторых подвариантов МДС и ОМЛ, например с моносомией хромосомы 7, которая является цитогенетическим фактором неблагоприятного прогноза. МДС и ОМЛ с  $-7$  и/или  $7q-$  могут быть объединены термином «опухоль (неоплазия) миелоидного происхождения из стволовых клеток» (ОМСК). Иммунофенотипирование относится к одному из методов выявления опухолевых бластных клеток миелоидного происхождения. Следует отметить, что иммунофенотипические особенности ОМСК с моносомией 7 и/или  $del(7q)$  ранее не были описаны.

В работе «**Иммунофенотипические признаки миелоидных опухолей стволовых клеток происхождения с моносомией хромосомы 7**» (Immunophenotypic Features of Myeloid Stem Cell Neoplasms Associated with Monosomy 7) [X. Chen, S. Cherian. Abstract 1051] ретроспективно проанализированы результаты и обобщены данные проточной цитометрии у этой категории пациентов.

У 126 больных ОМСК были идентифицированы моносомия хромосомы 7 и делеция  $7q$  как изолированные аномалии кариотипа либо в сочетании с другими цитогенетическими абберациями. В исследование были включены пациенты с моносомией хромосомы 7 ( $n = 112$ ) и делецией  $7q$  ( $n = 73$ ), у которых определялись миеломоноцитарные клетки, соответствующие требованиям проведения проточной цитометрии.

Повышение экспрессии CD14 (компонент рецепторного комплекса CD14/TLR4/MD2) на мембране миелоидных клеток обнаружено у 86 (77 %) больных с моносомией хромосомы 7. Кроме того, выявлено увеличение других разновидностей аномального иммунофенотипа, в т. ч. на миелобластах (медиана 7,3 %, диапазон 0–54 %), и числа бластных клеток без признаков дифференцировки (CD34+/CD38–). Обнаружена абберантная экспрессия CD5 (22 %), CD7 (72 %), CD13 (48 %), CD15 (19 %), CD33 (50 %), CD34 (37 %), CD38 (57 %), CD56 (41 %), CD117 (54 %), HLA-DR (59 %) на миелоидных бластных клетках и аномальная экспрессия CD56 (43 %) и CD64 (54 %) на миелоидных клетках с признаками созревания. Идентифицирована абберантная экспрессия CD56 моноцитами (41 %).

Следует отметить, только у 6 (8 %) больных с делецией  $7q$  отмечено увеличение экспрессии CD14 на миелоидных клетках с признаками созревания. Результаты проточной цитометрии были оценены у 10 больных с признаками регенерации костного мозга (день +28 после завершения химиотерапии или после выполнения трансплантации). При этом ни в одном из наблюдений не отмечалось увеличения экспрессии CD14 на миелоидных клетках с признаками созревания. Как сообщалось ранее, у 10 из 15 больных, получавших гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, было продемонстрировано повышение экспрессии CD14+ на клетках миелоидного ряда кроветворения без других аномалий иммунофенотипа.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у пациентов с ОМСК моносомия хромосомы 7 связана с характерным иммунофенотипическим профилем, включающим увеличение экспрессии CD14 на созревающих клетках миелоидного ростка, в т. ч. и на бластных. В свою очередь, аномальный иммунофенотип может способствовать выявлению больных с моносомией 7 в опухолевых

клетках даже при нормальном числе бластных клеток миелоидного происхождения.

К другому направлению изучения биологии МДС относится определение роли микроРНК, нарушения ряда сигнальных путей и дисфункции васкулярной ниши в патогенезе заболевания. Группа исследователей из Италии представила сообщение, посвященное этой проблеме, «**Аномальный профиль экспрессии микроРНК и продукция цитокинов в васкулярной нише при МДС**» (Abnormal MiRNA Expression Profile and Cytokine Production in Myelodysplastic Vascular Niche) [M. Martini et al. Abstract 1890].

Васкулярная ниша костного мозга играет важную роль в обеспечении пролиферации и дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). В работе использовались циркулирующие эндотелиальные колониобразующие клетки (ЕСFC), полученные у пациентов с МДС низкого риска и здоровых доноров в качестве суррогата васкулярной ниши. Ранее было показано, что у больных МДС нарушено взаимодействие между эндотелиальными и гемопоэтическими клетками. Молекулярные исследования при МДС выявили, что у ЕСFC имеется гиперметилирование промоторов генов *p15INK4b*, *DAPK1*, *CDH1* и *SOCS1*, а также нарушенный профиль экспрессии генов, ответственных за сигнальные пути адгезии, ангиогенеза, выживаемости и апоптоза. Кроме того, было продемонстрировано, что при МДС сигнальный путь Wnt (в частности, Wnt3 и Wnt5), который относится к одному из основных в регуляции межклеточного взаимодействия в кроветворной ткани, был нарушен при МДС по сравнению со здоровыми донорами. В нормальных условиях ЕСFC регулируют кроветворение посредством аутокринной и/или паракринной секреции различных растворимых медиаторов: факторов роста, цитокинов и хемокинов.

В настоящей работе исследовалась их продукция ЕСFC при МДС. Поскольку высвобождение ангиогенных факторов из микрососудов костного мозга регулируется микроРНК, в исследовании был определен профиль экспрессии 84 микроРНК, в т. ч. факторов, влияющих на сигнальный путь Wnt.

В совместных культурах ЕСFC с нормальными гемопоэтическими клетками и гемопоэтическими клетками при МДС уровень нескольких растворимых медиаторов существенно отличался. В частности, в совместных культурах ЕСFC с гемопоэтическими клетками при МДС наблюдалась большая продукция интерлейкинов (IL-1b, IL-5, IL-13) и эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF) ( $p \leq 0,05$ ). С другой стороны, IL-6, IL-10, IL-8 и RANTES (хемокин, выделяемый Т-клетками при активации) продуцировались в меньшем количестве в совместных культурах с гемопоэтическими клетками при МДС ( $p \leq 0,05$ ). Эти растворимые медиаторы обладают плейотропным свойством и оказывают влияние (непосредственно или косвенно) на клеточную адгезию, дифференцировку, выживаемость и ангиогенез. Авторы также отметили, что нарушение их продукции констатировано в совместных культурах всех трех линий дифференцировки миелопоэза, но было более выражено в мегакариоцитарном и гранулоцитарном ростках, чем в эритроидном. Кроме того, изучение совокупности микроРНК показало, что при МДС ЕСFC содержат статистически значимо меньшее количество микроРНК-142-3р, микроРНК-

424-5p и микроРНК-196b-5p ( $p = 0,003$ ,  $p = 0,001$  и  $p = 0,033$  соответственно). Эти микроРНК по-разному участвуют в кроветворении и ангиогенезе.

Учитывая, что добавление Wnt3 и Wnt5 в культуры только частично восстанавливало нормальную дифференцировку гемопоэтических клеток, аномальная секреция растворимых медиаторов, а также нарушенная экспрессия микроРНК могут вызывать дисфункцию васкулярной ниши и в результате приводить к возникновению МДС.

Поданным J.C. Lam и соавт., важную роль в патогенезе МДС с del(5q) играют микроРНК-143 и микроРНК-145. Результаты проведенного исследования изложены в сообщении «Утрата микроРНК-143 и микроРНК-145 подавляет самообновление гемопоэтических стволовых клеток посредством нарушения регуляции сигнального пути TGF- $\beta$ » (Loss of MiR-143 and MiR-145 Inhibits Hematopoietic Stem Cell Self-Renewal through Dysregulated TGF $\beta$  Signaling) [J.C. Lam et al. Abstract 527]. Наиболее распространенное нарушение кариотипа при МДС — интестинциальная делеция длинного плеча хромосомы 5 [del(5q)]. Этот вариант заболевания обозначается как синдром 5q-. Картирование хромосом показало, что обычно утрачиваемая область (commonly deleted region — CDR) при синдроме 5q- выявлена в регионе 5q32 и составляет 1,5 Мб. МикроРНК(miR)-143 и -145 располагаются в CDR del(5q) у больных МДС и вовлечены в патогенез заболевания. Однако их функция изучена недостаточно.

С целью изучить роль микроРНК-143 и -145 было использовано направленное изменение генов мышей с делециями *miR-143* и *miR-145*. Исследователи показали, что костный мозг мышей, лишенных *miR-143* и *miR-145*, характеризуется снижением числа ГСК и клеток-предшественниц миелоидной природы. С этой целью использовался метод проточной цитометрии и анализ активности гемопоэтических клеток-предшественниц при культуральном исследовании. Кроме того, авторами проведено предельное (лимитирующее) разбавление проб *miR-143* и *miR-145* костного мозга при МДС, в результате которого наблюдалась значительно меньшая функциональная активность ГСК по сравнению с клетками костного мозга дикого типа. В результате был идентифицирован сигнальный путь трансформирующего фактора роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) в качестве общей мишени для указанных выше микроРНК. Исследовательская группа подтвердила, что адаптерный белок DAB2 представляет собой мишень для микроРНК-145. Была отмечена активация сигнального пути TGF- $\beta$  в связи с утратой микроРНК-145 или повышенной экспрессией DAB2.

При МДС с del(5q) утрата микроРНК-143 и микроРНК-145 приводит к нарушению активности ГСК. Кроме того, сигнальный путь TGF- $\beta$  находится в активированном состоянии в костном мозге больных МДС, поэтому необходима оценка роли DAB2 как самостоятельной мишени для *miR-145*. В этом сообщении приводится обоснование того, что дефект *miR-143* и *miR-145*, наблюдаемый в костном мозге, частично опосредуется DAB2 и в конечном итоге приводит к дефекту самообновления ГСК и возникновению МДС.

## ПРОГНОЗ

На конгрессе представлены работы, целью которых было оценить факторы риска при естественном течении МДС, а

также определить прогноз при использовании различных препаратов и программ лечения. В связи с этим раздел «Прогноз» распространяется и на рубрику «Лечение».

К настоящему времени в качестве наиболее распространенных прогностических числовых (балльных) систем можно рассматривать IPSS — международную систему оценки прогноза у больных МДС, IPSS-R — модифицированную международную систему оценки прогноза у больных МДС и WPSS — прогностическую систему, адаптированную к классификации ВОЗ.

IPSS-R была разработана на основании анализа данных больных, ранее не получавших лечения.

A. Nazha и соавт. предложили новую прогностическую модель (систему) вне зависимости от предшествующего лечения, включающую в качестве факторов риска мутационный статус генов, с целью прогнозирования течения заболевания у пациентов с первичными и вторичными МДС. Эти данные представлены в постере «Новая прогностическая модель у больных МДС, ранее получавших лечение» (A Novel Prognostic Model in Heavily Treated Patients with Myelodysplastic Syndromes (MDS)) [A. Nazha et al. Abstract 168].

У 333 пациентов проанализированы клинические данные и мутационный статус генов. Медиана возраста составила 68 лет, у 37 (11 %) пациентов был вторичный МДС, у 43 (13 %) — ХММЛ. Во всей проанализированной группе число линий предшествующей терапии составило от 0 до 7. Лечение не получало 15 % пациентов. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) была выполнена у 14 % пациентов. Кроме того, больным осуществлялась терапия гипометилирующими агентами, леналидомидом, иммуносупрессивными препаратами, а также по цитарабин-антрациклиновым программам. Полногеномное секвенирование и NGS выявили мутации 62 генов.

Посредством статистического анализа к независимым прогностическим факторам были отнесены возраст, показатель IPSS-R, мутации генов *ASXL1*, *BCOR*, *BCORL1*, *EZH2*, *IDH2*, *SF3B1*, *TP53*. В новой прогностической системе каждому фактору присвоен соответствующий коэффициент, и расчет проводится по формуле:

$$ASXL1 \times 0,65 + BCOR \times 0,92 + BCORL1 \times (-1,65) + EZH2 \times 0,71 + IDH2 \times (-1,0) + SF3B1 \times (-0,59) + TP53 \times 1,24 + \text{возраст} \times 0,04 + \text{число баллов по IPSS-R} \times 0,43.$$

В зависимости от суммы баллов формируют четыре прогностические группы. Результаты, полученные исследователями, указаны в табл. 1.

Кривые общей выживаемости по прогностической системе IPSS-R и новой прогностической модели представлены на рис. 3 и 4.

**Таблица 1.** Группы риска по новой шкале и их прогностическое значение

Группа риска	Число баллов	Число больных	Медиана общей выживаемости, мес.*
Низкого	0–3,4	80	47,3
Промежуточного-1	3,5–4	69	30,2
Промежуточного-2	4,1–5,4	131	19,9
Высокого	≥ 5,5	53	12,2

\*  $p < 0,001$ .

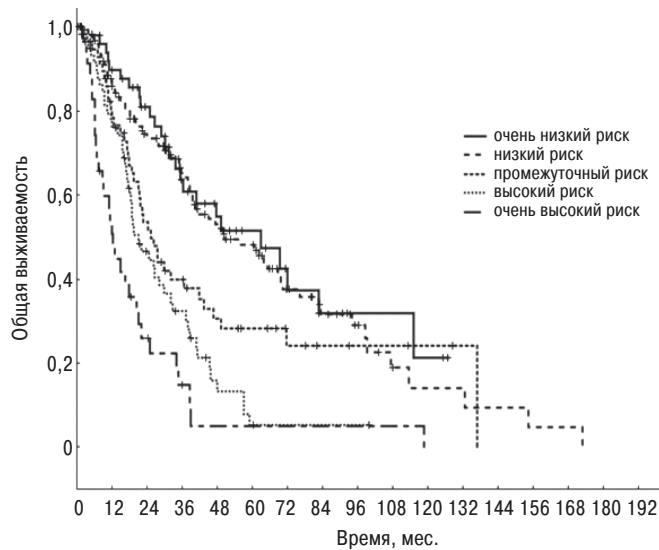


Рис. 3. Общая выживаемость больных в группах МДС, выделяемых по прогностической системе IPSS-R (n = 297)

Fig. 3. Overall survival rate in MDS patients determined on the basis of the IPSS-R prognostic system (n = 297)

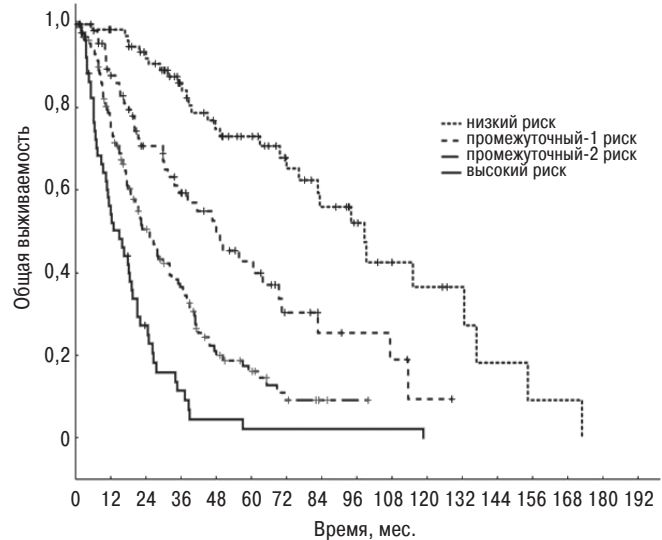


Рис. 4. Общая выживаемость больных в группах МДС, выделяемых по новой прогностической модели (n = 333; p < 0,001)

Fig. 4. Overall survival rate in MDS patients determined on the basis of a new prognostic model (n = 333; p < 0,001)

Таким образом, группой исследователей из Cleveland Clinic (США) предложена новая прогностическая модель, более достоверно определяющая ожидаемую общую выживаемость больных МДС вне зависимости от предшествующего лечения.

Согласно классификации ВОЗ, в настоящий момент ХММЛ рассматривается как заболевание, которое относится к группе МДС/МПО. Ранее, согласно ФАБ-классификации, ХММЛ являлся одним из вариантов МДС. В некоторых исследованиях миелодиспластический подвариант ХММЛ (с числом лейкоцитов менее  $13 \times 10^9/\text{л}$  или менее  $12 \times 10^9/\text{л}$ , по данным разных авторов) объединяют с МДС. С этой точки зрения представляют интерес прогностические балльные системы, разработанные только для больных ХММЛ. Об одной из них сообщалось в работе «Альтернативная прогностическая система для ХММЛ у когорты больных из UT MD Anderson Cancer Center» (Validation of Alternative Chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML)-Specific Prognostic Scoring (CPSS) System in UT MD Anderson Cancer Center Cohort) [P. Priyanka et al. Abstract 3278].

Международные прогностические системы IPSS и IPSS-R были разработаны для больных с впервые установленным диагнозом, которые ранее не полу-

чали лечения. В эти системы не включали больных ХММЛ. (Примечание от автора обзора конгресса: в систему IPSS все же были включены пациенты с диспластическим ХММЛ с числом лейкоцитов менее  $12 \times 10^9/\text{л}$  — 126 [15 %] больных, в то время как из базы данных International MDS Risk Analysis Workshop [IMRAW] — только больные МДС). В связи с этим была представлена прогностическая система для ХММЛ у когорты больных из UT MD Anderson Cancer Center, альтернативная прогностической системе (CPSS), созданной в 2013 г. для этой же группы больных.

В исследование включено 203 пациента (132 мужчины, 71 женщина) с впервые выявленным ХММЛ, не получавших лечения. Медиана возраста составила 70 лет. У 149 больных установлен диагноз ХММЛ-1 и у 54 — ХММЛ-2. Факторы, учитываемые в прогностической системе, указаны в табл. 2, а окончательное распределение больных по группам риска — в табл. 3.

Кривые общей выживаемости в зависимости от времени установления диагноза представлены на рис. 5.

Альтернативная прогностическая система открывает дополнительные возможности для стратификации больных по группам риска.

Известно, что сложный кариотип у больных МДС предполагает наличие 3 и более цитогенетических ано-

Таблица 2. Шкала оценки прогностических признаков по альтернативной прогностической системе для ХММЛ

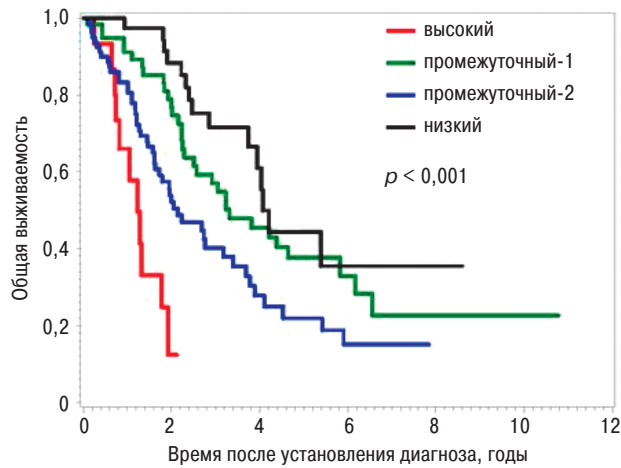
Признак	Оценка, баллы		
	0	1	2
Вариант по ВОЗ-классификации	ХММЛ-1 (число бластных клеток, включая промиелоциты, < 5 % в крови и < 10 % в костном мозге)	ХММЛ-2 (число бластных клеток, включая промиелоциты, 5–19 % в крови и 10–19 % в костном мозге или наличие палочек Ауэра вне зависимости от числа бластных клеток)	—
Вариант по ФАБ-классификации	ХММЛ-МД	ХММЛ-МП	—
Цитогенетические группы риска ХММЛ	Низкий	Промежуточный	Высокий
Уровень гемоглобина	$\geq 100$ г/л	< 100 г/л	—

ХММЛ-МД — миелодиспластический тип ХММЛ (число лейкоцитов <  $13 \times 10^9/\text{л}$ ), ХММЛ-МП — миелопролиферативный тип ХММЛ (число лейкоцитов  $\geq 13 \times 10^9/\text{л}$ ).

Цитогенетические группы риска ХММЛ: низкий — нормальный кариотип или изолированная -Y; промежуточный — другие аномалии; высокий — трисомия хромосомы 8, сложный кариотип ( $\geq 3$  аномалий), аномалии хромосомы 7.

**Таблица 3.** Прогностическое значение групп риска по альтернативной прогностической системе для ХММЛ

Группа риска	Сумма баллов	Медиана общей выживаемости, годы
Низкий	0	4,07
Промежуточный-1	1	3,32
Промежуточный-2	2–3	2,14
Высокий	4–5	1,23



**Рис. 5.** Общая выживаемость больных в различных группах риска по альтернативной прогностической системе для ХММЛ ( $n = 203$ )

**Fig. 5.** Overall survival rate of patients in different risk groups on the basis of an alternative prognostic system for chronic myelomonocytic leukemia ( $n = 203$ )

маний. Он рассматривается в качестве неблагоприятного фактора практически во всех прогностических системах. Помимо сложного кариотипа независимое отрицательное значение в отношении прогноза имеет мутация гена *TP53*. Сочетание мутации *TP53* со сложным кариотипом имеет крайне неблагоприятный прогноз, однако объективных данных в пользу этого утверждения недостаточно. С этой целью проведено исследование, результаты которого опубликованы в постере «**Формирование двух групп прогноза больных МДС со сложным кариотипом на основании мутационного статуса гена *TP53*: анализ объединенной базы данных международной рабочей группы**» (*TP53* Mutation Status Divides MDS Patients with Complex Karyotypes into Distinct Prognostic Risk Groups: Analysis of Combined Datasets from the International Working Group for MDS-Molecular Prognosis Committee) [R. Bejar et al. Abstract 532].

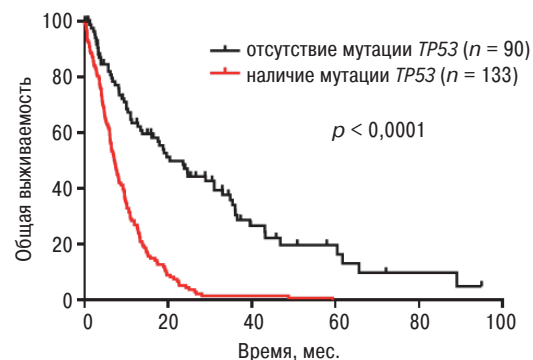
Проанализировано 258 сложных кариотипов у больных МДС. Мутационный статус гена *TP53* определен у 223 пациентов. В 133 (60 %) наблюдениях выявлена мутация *TP53*. Больные с этой мутацией были старше, чем пациенты в группе без нее (медиана возраста составила 70,8 и 65,5 года соответственно;  $p = 0,055$ ). Они характеризовались более выраженной тромбоцитопенией (медиана числа тромбоцитов  $42$  vs  $78 \times 10^9/\text{л}$ ;  $p = 0,002$ ), а также большим числом бластных клеток в костном мозге ( $7,75$  vs  $4$  %;  $p = 0,03$ ). Пациенты с мутацией *TP53* чаще имели моносомный кариотип с 5 хромосомными аномалиями и более, а также аномалии хромосомы 17. Все перечисленные цитогенетические особенности были статистически значимыми.

При наличии мутации *TP53* медиана общей выживаемости была значительно меньше ( $7,7$  vs  $23,4$  мес.;  $p < 0,0001$ ), что отражено на рис. 6. Многофакторный анализ выявил ряд других важных прогностических признаков общей выживаемости: моносомный кариотип, число хромосомных аномалий, число бластных клеток и тромбоцитов. Кроме того, в работе было показано, что мутация гена *TP53* имеет более существенное отрицательное значение, чем моносомный кариотип при МДС со сложным кариотипом.

Множество мутаций *TP53* свидетельствует о наличии субклонов заболевания. В подобных случаях даже незначительное количество клеток с мутациями может указывать на неблагоприятный прогноз. Таким образом, соматические мутации *TP53* у больных МДС со сложным кариотипом позволяют выделить группы с различной общей выживаемостью.

Имеются сведения о том, что прогноз у больных МДС после неудачи лечения гипометилирующими препаратами неблагоприятный. В этой связи было инициировано исследование «**Факторы прогноза ответа на лечение и выживаемость у пациентов с МДС после неудачи лечения гипометилирующими препаратами: первичная и вторичная резистентность**» (Predictive Factors for Response and Survival in Patients with Myelodysplastic Syndromes (MDS) after Hypomethylating Agent (HMA) Failure: Primary Resistance (PriRes) Vs. Secondary Resistance (SecRes)) [K. Sasaki et al. Abstract 1922].

В исследование включено 149 больных МДС, которые после неудачи лечения гипометилирующими агентами (ГА) получали вторую линию терапии. Децитабин и азацитидин назначались равному числу больных. В дальнейшем 23 пациентам была выполнена аллоТГСК. Трансформация в ОМЛ после неудачи терапии ГА отмечена у 15 пациентов. Таким образом, в работе оценены данные 93 больных с первичной и вторичной резистентностью МДС. Понятие «первичная резистентность» подразумевает отсутствие какого-либо ответа на терапию ГА. Вторичная резистентность обозначает утрату достигнутого эффекта при лечении ГА. В исследовании было сформировано четыре группы второй линии терапии: 1) со сменой ГА (азацитидин на децитабин и наоборот), 2) получавших цитарабин, 3) клофарабин или 4) новые исследуемые препараты.



**Рис. 6.** Общая выживаемость больных МДС со сложным кариотипом и наличием/отсутствием мутации гена *TP53* ( $n = 223$ )

**Fig. 6.** Overall survival rate of MDS patients with complex karyotype and presence/absence of *TP53* gene mutation ( $n = 223$ )

Из 93 больных у 30 (32 %) была констатирована первичная резистентность и у 63 (68 %) — вторичная. В качестве первой линии терапии 34 (37 %) получали азациитидин и 59 (63 %) децитабин. В общей группе медиана наблюдения составила 16 мес., медиана возраста — 65 лет (диапазон 20–85 лет), медиана продолжительности лечения азациитидином и децитабином — 5,6 и 7,2 мес.

Первичная резистентность отмечена у 14 (41 %) и 16 (27 %) пациентов, получавших азациитидин и децитабин соответственно. Медиана продолжительности терапии ГА составила при первичной и вторичной резистентности 1,1 и 10,5 мес. соответственно ( $p < 0,001$ ). Из 63 больных со вторичной резистентностью у 11 (18 %) получена полная ремиссия. Из 30 больных с первичной резистентностью полная ремиссия достигнута у 1 (3 %). Частота общего ответа при использовании всех видов терапии второй линии в обеих группах существенно не различалась. Единственным благоприятным прогностическим фактором, влияющим на ответ, была смена ГА ( $p = 0,019$ ). У 2 пациентов с первичной резистентностью смена ГА (1 больной — азациитидин на децитабин и 1 — децитабин на азациитидин) позволила получить гематологическое улучшение. Среди больных со вторичной резистентностью ответ на лечение получен у 9 со сменой ГА (4 пациента — азациитидин на децитабин и 5 — децитабин на азациитидин). В группе с заменой децитабина на азациитидин у 1 больного достигнута полная ремиссия, у 2 — стабилизация заболевания, в 1 наблюдении констатирован летальный исход. В группе замены азациитидина на децитабин у 4 пациентов получена полная ремиссия, 1 — выбыл из-под наблюдения. Медиана выживаемости без прогрессирования в группах первично-резистентных и вторично-резистентных заболеваний была 5,8 и 1,8 мес. ( $p = 0,178$ ). Медиана общей выживаемости в этих группах была сопоставимой (10,4 и 9,8 мес.). Неблагоприятными факторами в отношении ответа на лечение и общей выживаемости после второй линии терапии были сложный кариотип ( $p = 0,046$ ) и лечение клофарабином ( $p = 0,025$ ).

Таким образом, прогноз у больных в случае неудачи лечения ГА неблагоприятный. Необходимо проведение дальнейших исследований в данном направлении.

## ЛЕЧЕНИЕ

Следует отметить, что доклады о значительных достижениях в терапии МДС на конгрессе ASH-2014 практически отсутствовали. Многие постерные сообщения освещали результаты применения ГА и леналидомида у разных категорий больных, а также различные дозовые режимы и их комбинированное использование с препаратами из других групп. В ряде работ опубликованы новые направления лечения МДС.

Терапия ГА является стандартом лечения больных МДС и ХММЛ. Частота полных ремиссий колеблется в пределах 7–35 % с медианой продолжительности 9–10 мес. и медианой общей выживаемости 20–24 мес. АллоТГСК позволяет добиться выздоровления у ряда больных. Однако остается открытым вопрос об отдаленных результатах лечения ГА, которому было посвящено постерное сообщение «Отдаленные результаты лечения больных МДС гипометилирующими агентами: сообщение консорциума проведения клинических исследований при МДС» (Long-Term Outcome of Patients

with Myelodysplastic Syndromes (MDS) Treated with Hypomethylating Agents (HMA): A Report on Behalf of the MDS Clinical Research Consortium) [E. Jabbour et al. Abstract 4641].

В это исследование включено 511 пациентов с МДС ( $n = 409$ ) и ХММЛ ( $n = 102$ ), получавших лечение ГА. Больные, которым была выполнена аллоТГСК ( $n = 65$ ), исключены из исследования, т. е. были проанализированы данные 446 пациентов. Медиана наблюдения составила 13,6 мес., медиана возраста — 70 лет. Предшествующие злокачественные опухоли были у 198 (44 %) больных, 133 (30 %) участника получали предшествующую химиотерапию, а лучевую — 85 (19 %). Варианты МДС были следующими: рефрактерная анемия ( $n = 47$ , 10,5 %), рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами ( $n = 16$ , 4 %), рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией ( $n = 75$ , 17 %), рефрактерная анемия с избытком бластов ( $n = 204$ , 46 %), МДС неклассифицируемый ( $n = 8$ , 2 %), ХММЛ ( $n = 95$ , 21 %).

Лечение азациитидином проводилось 189 (42 %) пациентам, децитабином — 257 (58 %). Полные ремиссии получены у 124 (28 %) больных, полные ремиссии с неполным восстановлением числа тромбоцитов — у 27 (6 %), частичные ремиссии — у 9 (2 %), гематологическое улучшение — у 31 (7 %), отсутствие ответа констатировано у 121 (27 %) пациента, летальный исход в период терапии — у 23 (5 %), не оценены — 6 (1,4 %) пациентов, выбыли из-под наблюдения — 105 (23,5 %). Медиана продолжительности ответа составила 7,2 мес. (диапазон 1–68 мес.), трансформация в ОМЛ зарегистрирована у 130 (29 %) больных. Ко времени публикации сообщения под наблюдением оставалось 133 (30 %) пациента. Медиана выживаемости без трансформации в лейкоз и медиана общей выживаемости были 16,1 и 16,2 мес. соответственно. Показатели 2- и 5-летней выживаемости без трансформации в лейкоз составили 29 и 11 %, общей 2- и 5-летней выживаемости — 34 и 12 % соответственно.

По данным многофакторного анализа, лабораторные показатели, влияющие на общую выживаемость, включали число лейкоцитов ( $> 4$  vs  $\leq 4 \times 10^9/\text{л}$ ), уровень ферритина ( $> 500$  vs  $\leq 500$  мкг/л), уровень гемоглобина ( $> 100$  vs  $\leq 100$  г/л), число тромбоцитов ( $> 500$  vs  $\leq 500 \times 10^9/\text{л}$ ) и особенности кариотипа (группа высокого vs промежуточного vs низкого риска). При наличии 0–2 ( $n = 265$ ) и 3–5 факторов ( $n = 180$ ) медиана общей выживаемости была 18 и 14 мес. соответственно ( $p = 0,001$ ).

Таким образом, в исследовании были показаны непосредственные и отдаленные результаты применения ГА, а также факторы, влияющие на прогноз у больных МДС и ХММЛ.

Несмотря на то что азациитидин (AZA) является перспективным противоопухолевым лекарственным средством, улучшающим прогноз у больных МДС из группы высокого риска, монотерапию этим препаратом можно считать неадекватной при прогрессировании МДС (трансформация в ОМЛ) и агрессивном течении заболевания (аМДС), которое сопровождается клиническими проявлениями: лихорадкой, отеками и т. д. В таких ситуациях сообщалось об использовании малых доз цитарабина (AraC) перед терапией азациитидином (AraC→AZA). М. Hirai и соавт. представили постер о сравнении



монотерапии (sAZA) с комбинированной терапией AZA и малыми дозами AraC (LDAraC) «Удовлетворительная переносимость и высокая эффективность комбинации азациитидина с малыми дозами цитарабина у больных МДС и ОМЛ» (Azacitidine (AZA) Combination Therapy with Low-Dose AraC Is Well Tolerated and Highly Effective for MDS with Overt Leukemia) [M. Hirai et al. Abstract 3260].

Схема лечения (LDAraC→AZA) более успешно применялась у пожилых пациентов, а также у больных аМДС и ОМЛ по сравнению с монорежимом sAZA. В дальнейшем стал использоваться 7-дневный комбинированный режим терапии LDAraC + AZA: азациитидин 75 мг/м<sup>2</sup>, цитарабин 20 мг/м<sup>2</sup> п/к через 5–8 ч. Полные ремиссии получены у 6 из 10 больных ОМЛ после 1-го курса LDAraC + AZA. Лечение характеризовалось удобством и высокой эффективностью этого режима введения препаратов у пожилых пациентов.

В представленное пилотное исследование включено 50 больных. Из них у 29 был МДС, у 4 — ХММЛ и у 17 — ОМЛ (в 3 наблюдениях — рецидив ОМЛ). У всех больных МДС и ХММЛ отмечались прогрессирующие или клинические проявления заболевания.

Сформировано две группы пациентов, получавших лечение sAZA ( $n = 22$ ) и LDAraC + AZA или LDAraC→AZA ( $n = 27$ ). Частота ответа на лечение в первой группе составила 27 %, а во второй — 74 %. Медиана общей выживаемости в первой группе была значимо меньше (5,8 vs 19 мес.;  $p = 0,002$ ) при сопоставимой частоте побочных эффектов. Через 2,5 года наблюдения наилучшие результаты были получены у больных, в т. ч. с ОМЛ, у которых применялась программа LDAraC + AZA. Данная работа показала синергизм между GA и AraC.

В ряде постерных сообщений были изложены результаты исследования леналидомидом, который обычно назначается больным МДС с синдромом 5q— при симптоматической анемии, но без выраженной лейко- и тромбоцитопении. К настоящему времени проведены клинические исследования препарата у пациентов без del(5q), однако результаты лечения в этой группе больных хуже. Таким образом, подходы к лечению трансфузионно-зависимых пациентов с МДС низкого риска без делеции 5q, которые не отвечают или резистентны к терапии эритропоэстимулирующим препаратами, ограничены. Во II фазе исследования MDS-002 (CC-5013-MDS-002) применение леналидомидом позволило достичь периода прекращения трансфузий эритроцитов длительностью 56 дней и более у 26 % больных с низким/промежуточным-1 риском по шкале IPSS без del(5q). Использование леналидомидом в подобных ситуациях было продолжено в III фазе исследования (CC-5013-MDS-005), результаты которого доложены в постере «Эффективность и безопасность леналидомидом по сравнению с плацебо у трансфузионно-зависимых пациентов с МДС низкого/промежуточного-1 риска по IPSS без делеции 5q, не ответивших на терапию эритропоэстимулирующими препаратами: результаты III фазы рандомизированного исследования» (Efficacy and Safety of Lenalidomide (LEN) Versus Placebo (PBO) in RBC-Transfusion Dependent (TD) Patients (Pts) with IPSS Low/Intermediate (Int-1)-Risk Myelodysplastic Syndromes (MDS) without Del(5q) and Unresponsive or Refractory to Erythropoiesis-Stimulating Agents

(ESAs): Results from a Randomized Phase 3 Study (CC-5013-MDS-005)) [V. Santini et al. Abstract 409].

В многоцентровое рандомизированное двойное слепое исследование III фазы были включены трансфузионно-зависимые пациенты с МДС, получавшие не менее 2 трансфузий эритроцитарной массы каждые 28 дней в течение 112 дней непосредственно перед рандомизацией, с низким/промежуточным-1 риском по IPSS, без делеции 5q и резистентные к терапии эритропоэстимулирующими препаратами (ЭСП).

Пациенты были рандомизированы в соотношении 2:1 на принимавших леналидомид 10 мг внутрь 1 раз в сутки (5 мг для пациентов с клиренсом креатинина 40–60 мл/мин) и принимавших плацебо. Всего в исследование включено 239 пациентов (леналидомид,  $n = 160$ ; плацебо,  $n = 79$ ). Медиана возраста составила 71 год (диапазон 43–87 лет), медиана времени от установления диагноза — 2,6 года (диапазон 0,1–29,6 года). У большинства (90 %) пациентов наблюдался ответ (не нуждались в трансфузиях эритроцитов 56 дней и более) в течение 16 нед. лечения. Медиана продолжительности отсутствия необходимости в трансфузиях эритроцитов составила 8,2 мес.

Статистически значимыми факторами, положительно влияющими на отсутствие необходимости в трансфузиях эритроцитов, были предшествующая терапия ЭСП (по сравнению с ее отсутствием;  $p = 0,005$ ), эндогенный эритропоэтин не более 500 ЕД/л (по сравнению с его уровнем более 500 ЕД/л;  $p = 0,015$ ), менее 4 трансфузий эритроцитов за 28 дней (vs  $\geq 4$  трансфузий за 28 дней;  $p = 0,036$ ), женский пол ( $p = 0,035$ ).

Отсутствие необходимости в переливаниях эритроцитов в течение 168 дней и более было достигнуто у 17,5 и 0 % больных в группах, получавших леналидомид и плацебо соответственно. Частота летальных исходов составила 2,5 % в обеих группах. Период наблюдения был недостаточным для расчета общей выживаемости в группах сравнения. Миелосупрессия оказалась основным побочным эффектом в группе леналидомидом vs плацебо: нейтропения III–IV степени (61,9 vs 11,4 %), тромбоцитопения III–IV степени (35,6 vs 3,8 %). Прекращение терапии из-за нежелательных явлений зарегистрировано в 31,9 % наблюдений в группе получавших леналидомид. Ее причинами были тромбоцитопения ( $n = 14$ ) и нейтропения ( $n = 8$ ).

Терапия леналидомидом позволила значительно снизить число больных, нуждающихся в трансфузиях эритроцитов (26,9 %), со средней продолжительностью 8,2 мес. Всего на лечение ответило 90 % больных в течение первых 16 нед. Общий профиль токсичности леналидомидом подтверждает возможность использования препарата у этой категории пациентов.

Как указывалось выше, применение леналидомидом (LEN) в монорежиме при МДС с del(5q) продемонстрировало удовлетворительные результаты. У пациентов без del(5q) частота ответа на это лечение существенно меньше (примерно 26 %), а длительность достигнутого эффекта короче. По этой причине инициировано исследование комбинации LEN с вальпроевой кислотой. Вальпроевая кислота (VPA) — противосудорожное средство, обладающее свойствами ингибитора гистондеацетилазы, которое способно уменьшить выраженность цитопении при МДС низкого риска. Данная работа опубликована

в постерном сообщении «**Результаты лечения больных МДС с благоприятным прогнозом комбинацией вальпроевой кислоты и леналидомида: II фаза клинического исследования Valena**» (A Phase II Study of Valproic Acid and Lenalidomide Combination Therapy in Patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS) and a Favorable Risk Profile: Final Results of the Valena Trial) [A. Kuendgen et al. Abstract 1918].

В исследование включено 23 пациента. Медиана возраста составила 66 лет (диапазон 48–81 год). У 16 больных была рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией (РЦМД), у 3 — рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией и кольцевыми сидеробластами (РЦМД-КС), у 1 — рефрактерная анемия (РА), у 3 — рефрактерная анемия с избытком бластных клеток-1 (РАИБ-1). Распределение по шкале IPSS: низкий риск ( $n = 11$ ) и промежуточный-1 ( $n = 12$ ). VPA назначалась в дозе с целевой концентрацией препарата в сыворотке 50–110 мкг/л. LEN применялся по 10 мг в сутки на протяжении 21 дня (длительность курса 28 дней). Запланированное 16-недельное лечение завершило только 12 больных в связи с гематологической токсичностью. У большинства ( $n = 19$ ) пациентов был нормальный кариотип. Молекулярное исследование (обнаружение мутаций генов *DNMT3A*, *EZH2*, *CBL*, *RUNX1*, *TET2*, *JAK2*, *FLT3*, *MLL-PTD*, *KRAS*, *NRAS*, *ASXL1*, *IDH1*, *IDH2*, *TP53*, *SF3B1*, *SRSF2*) выполнено у 10 из 23 пациентов.

Результаты лечения оценены в соответствии с критериями Международной рабочей группы (IWG) 2006 г. у 9 из 23 больных. Полная ремиссия с сохраняющейся дисплазией получена в 3 наблюдениях, костномозговая полная ремиссия с гематологическим улучшением эритропоза — в 1, стабилизация МДС с гематологическим улучшением эритропоза — в 5. У 13 пациентов констатирована стабилизация заболевания, у 1 — прогрессирование. Гематологическое улучшение позволило прекратить гемотрансфузии. Медиана продолжительности ответа составила 8 мес. (диапазон 6–20 мес.).

Корреляции между ответом на терапию и вариантами МДС, числом бластных клеток, цитогенетическими аномалиями, группами риска по шкалам IPSS и IPSS-R не выявлено. Кроме того, не обнаружено связи с молекулярным профилем генов.

Таким образом, клиническое исследование продемонстрировало возможность получения эффекта у 39 % (9 из 23) больных МДС. Однако выраженность гематологической токсичности оказалась выше предполагаемой, что послужило причиной редукции первоначальной дозы леналидомида.

По данным М.А. Cherian и соавт., азацитидин и децитабин показаны в качестве терапии первой линии у больных МДС промежуточного и высокого риска. При использовании ГА в первой линии терапии ответ на лечение составляет 40–47 %. Медиана его продолжительности 13 мес. Выбор лечения при неудаче терапии ГА или прогрессировании МДС представляется затруднительным.

Как правило, при отсутствии ответа на ГА, уровне эндогенного эритропоэтина более 500 ЕД/л и отсутствии показаний к применению иммуносупрессивной терапии больным предлагается продолжение лечения по программам, разработанным для ОМЛ. Однако у этой категории больных М.А. Cherian и соавт. предприняли

попытку оценить эффективность леналидомида. Результаты исследования изложены в сообщении «**Применение высоких доз леналидомида в индукции ремиссии и малых доз леналидомида в поддерживающей терапии у больных МДС, рефрактерных к гипометилирующим агентам**» (A Study of High Dose Lenalidomide Induction and Low Dose Lenalidomide Maintenance for Patients with Hypomethylating Agent Refractory MDS) [M.A. Cherian et al. Abstract 1931].

Авторы работы инициировали исследование II фазы по применению высоких доз леналидомида (50 мг в сутки в течение двух 28-дневных циклов) с последующей поддерживающей терапией малыми дозами леналидомида (10 мг в сутки, суммарно 12 циклов) у больных МДС по ФАБ-классификации с рефрактерностью к ГА. В исследование включено 24 пациента, 16 из которых завершили не менее 1 курса терапии. Полные или частичные ремиссии не получены. У 8 (50 %) из 16 больных достигнута костномозговая полная ремиссия. У 1 из 8 больных была делеция 5q, у 3 — трисомия хромосомы 8, у 1 — сложный кариотип с моносомией хромосомы 7. Гематологическое улучшение отмечено у 2 (12,5 %) из 16 пациентов. Нежелательными явлениями III степени и выше были пневмонии (50 %), сепсис (17 %), фебрильная нейтропения (33 %), сыпь (8 %), тромбоэмболия и вторая опухоль (по 1 осложнению в общей группе). В качестве следующего этапа изучения высоких доз леналидомида при МДС исследователи планируют применение чередующегося дозового режима.

Данные о прогностических факторах при использовании иммуносупрессивной терапии (ИСТ) у больных МДС достаточно противоречивы. В качестве кандидатов на ИСТ одними исследователями рассматриваются пациенты с МДС низкого или промежуточного-1 риска по шкале IPSS, моложе 60 лет, с нормальным кариотипом или трисомией хромосомы 8 [S.B. Killick et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult myelodysplastic syndromes. Br. J. Haematol. 2014; 164: 503–25]. Согласно рекомендациям Национальной всеобщей онкологической сети США (National Comprehensive Cancer Network [NCCN]) 2014 г., ИСТ целесообразно проводить больным из группы низкого или промежуточного-1 риска по шкале IPSS, в возрасте до 60 лет, с числом бластных клеток в костном мозге не более 5 %, при гипоплазии кроветворения, при HLA-DR15+, наличии клона клеток, составляющих субстрат пароксизмальной ночной гемоглобинурии.

Кроме того, отдаленные результаты лечения иммуносупрессивными препаратами больных МДС низкого и промежуточного-1 риска в литературе изложены недостаточно, а вопрос о назначении этого вида терапии в случае резистентности к ЭСП остается открытым.

Группа исследователей из Франции опубликовала постер «**Отдаленные результаты лечения больных МДС низкого риска иммуносупрессивными препаратами (антитимоцитарный глобулин ± циклоспорин А)**» (Long-Term Outcome of Lower-Risk MDS Patients after Immunosuppressive Therapy (IST) with Anti-Thymocyte Globulin (ATG) +/- Cyclosporin A (CsA)) [Ch. Kelaidi et al. Abstract 1921].

В исследование включено 15 пациентов с МДС низкого риска, которым назначался лошадиный или кроличий антитимоцитарный глобулин (АТГ) по 15 мг/кг в сутки

или 3,5 мг/кг в сутки соответственно в течение 5 дней в комбинации с циклоспорином А (ЦСА) по 2 мг/кг 2 раза в сутки в течение 6 мес. Медиана возраста составила 60 лет (диапазон 46–77 лет), медиана периода наблюдения — 8,1 года. Все больные были трансфузионно-зависимыми. Медиана продолжительности трансфузий эритроцитов составила 4,9 мес. Число тромбоцитов менее  $50 \times 10^9/\text{л}$  и менее  $20 \times 10^9/\text{л}$  было у 85 и 50 % пациентов соответственно. Медиана абсолютного числа нейтрофилов составила  $0,95 \times 10^9/\text{л}$ . Варианты МДС по классификации ВОЗ: РА ( $n = 5$ ), РЦМД ( $n = 6$ ), РАИБ ( $n = 1$ ). Вариант МДС не установлен у 2 больных в связи с гипоплазией костного мозга. Медиана числа бластных клеток составила 1 % (диапазон 0–8 %). Число миелокариоцитов в костном мозге было снижено у 9 из 14 оцененных больных. Клон клеток — субстрат пароксизмальной ночной гемоглобинурии — идентифицирован в 4 наблюдениях. В оцениваемой группе ( $n = 14$ ) частота общего ответа на терапию АТГ + ЦСА составила 50 %, в 4 наблюдениях отмечена полная ремиссия. Кумулятивная 5-летняя частота неудачи лечения (прогрессирование или трансформация в ОМЛ) составила 42 и 6 % соответственно при медиане общей выживаемости 5,6 года. Медиана общей выживаемости у больных, ответивших на терапию, не достигнута. Больные МДС низкого риска, ответившие на ИСТ, характеризовались благоприятным отдаленным прогнозом. У пациентов с необходимостью проведения трансфузий эритроцитов 6 мес. и менее, числом бластных клеток 2 % и менее вероятность ответа на лечение была значительно выше. Следует отметить, что возраст старше 60 лет не был связан с неблагоприятным прогнозом.

#### НОВЫЕ КОМБИНАЦИИ ПРЕПАРАТОВ

Наше внимание привлекли сообщения о новых комбинациях препаратов, одобренных к применению как при МДС, так и при других онкологических заболеваниях Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA):

- LDARaC + AZA [M. Hirai et al. Abstract 3260];
- LEN + VPA [A. Kuendgen et al. Abstract 1918];
- AZA + LEN [C.D. DiNardo et al. Abstract 164];
- Clofarabine + LDARaC [E. Jabbour et al. Abstract 534];
- AZA + vorinostat [G. Garcia-Manero et al. Abstract 3277].

Первые две комбинации рассматривались выше.

В работе «**Результаты исследования I–II фазы последовательного применения азациитидина и леналидомида у больных ОМЛ и МДС высокого риска**» (A Final Report: Phase I/II Study of Sequential Azacitidine and Lenalidomide in Patients with Higher-Risk Myelodysplastic Syndrome (MDS) and Acute Myeloid Leukemia (AML)) [C.D. DiNardo et al. Abstract 164] AZA назначался в дозе 75 мг/м<sup>2</sup> в сутки с 1-го по 5-й день, LEN — с 6-го дня курса в течение 5 или 10 дней. Продолжительность курса 28 дней.

В I фазе настоящего исследования LEN использовался в следующих режимах: 10 мг 5 дней ( $n = 5$ ), 15 мг 5 дней ( $n = 3$ ), 20 мг 5 дней ( $n = 3$ ), 25 мг 5 дней ( $n = 3$ ), 50 мг 5 дней ( $n = 4$ ), 75 мг 5 дней ( $n = 3$ ) и 75 мг 10 дней ( $n = 7$ ). Во II фазе начальная доза LEN составила 50 мг

ежедневно в течение 10 дней, однако из-за миелосупрессии и эпизодов инфекции доза LEN была снижена до 25 мг ежедневно в течение 5 дней. В исследование было включено 88 пациентов: в I фазу — 28, во II фазу — 60. Частота общего ответа составила 35 % (31 из 88): полная ремиссия ( $n = 15$ ), полная ремиссия с неполным восстановлением показателей гемограммы ( $n = 16$ ). Медиана общей выживаемости 33 нед. Согласно результатам проведения I фазы, частота общего ответа составила 14 %, II фазы — 45 %.

В исследовании II фазы комбинации клофарабина (нуклеозидный аналог 2-го поколения) с малыми дозами цитарабина было включено 56 пациентов, из которых оценены 52 при медиане наблюдения 15,3 мес. Медиана возраста составила 71 год. Предшествующую терапию азациитидином и децитабином получали 39 и 15 больных соответственно. У пациентов определяли мутационный статус генов *FLT3-ITD*, *RAS*, *NPM1*, *JAK2*.

Индукционная терапия включала клофарабин 15 мг/м<sup>2</sup> в/в ежедневно с 1-го по 5-й день и цитарабин по 20 мг п/к 2 раза в сутки с 1-го по 7-й день. Пациенты, ответившие на лечение, получали консолидационную терапию: клофарабин 15 мг/м<sup>2</sup> в/в с 1-го по 3-й день и цитарабин по 20 мг п/к 2 раза в сутки с 1-го по 5-й день каждые 4 нед. Максимальное число курсов лечения — 12.

Частота общего ответа составила 48 % (полные ремиссии — 9 [17 %], полные ремиссии с неполным восстановлением числа тромбоцитов — 3 [6 %], полные костномозговые ремиссии — 7 [13 %], стабилизация заболевания с гематологическим улучшением — 6 [12 %]). Медиана продолжительности ответа на лечение 12 мес., медиана общей выживаемости 6,8 мес. Медиана общей выживаемости у больных, ответивших и не ответивших на терапию, была более 12,4 и 3,4 мес. соответственно. Материалы данной работы подробно изложены в реферате доклада «**Применение комбинации клофарабина с малыми дозами цитарабина у больных МДС высокого риска с рецидивами или рефрактерностью к гипометилирующим агентам**» (Clofarabine Plus Low-Dose Cytarabine for the Treatment of Patients with Higher-Risk Myelodysplastic Syndromes (MDS) Who Have Relapsed or Are Refractory to Hypomethylating Agent (HMA) Therapy) [E. Jabbour et al. Abstract 534].

Известно, что прогноз при МДС и ОМЛ у пациентов с тяжелым общим состоянием, нарушением функции органов, а также другими сопутствующими заболеваниями неудовлетворительный. В подобных ситуациях становится невозможным проведение адекватной противоопухолевой терапии и большинство пациентов исключаются из клинических исследований.

В исследовании комбинации азациитидина (А) с вориностатом (ингибитором гистондеацетилазы; V) было включено 79 пациентов с подобными характеристиками. Его результаты опубликованы в постере «**Азациитидин по сравнению с комбинацией азациитидин + вориностат у больных с впервые диагностированными ОМЛ и МДС высокого риска с неудовлетворительным общим состоянием, дисфункцией органов и другими сопутствующими заболеваниями: рандомизированное исследование II фазы**» (A Bayesian Phase II Randomized Trial of Azacitidine Versus Azacitidine + Vorinostat in Patients with Newly Diagnosed AML or High-Risk MDS with Poor Performance Status, Organ Dysfunction, or Other Comorbidities) [G.

Garcia-Manero et al. Abstract 3277]. В группе А ( $n = 27$ ) лечение осуществлялось азациитидином в дозе  $75 \text{ мг/м}^2$  в/в в течение 5 дней подряд, в группе А+V ( $n = 52$ ) азациитидин вводился в том же дозовом режиме с вориностатом по  $200 \text{ мг}$  3 раза в сутки с 1-го по 5-й день. Медиана возраста составила 70 лет (диапазон 30–90 лет), медиана числа бластных клеток в костном мозге 8 % (диапазон 1–89 %), медиана числа лейкоцитов  $2,8 \times 10^9/\text{л}$ . Наличие или указание в анамнезе на вторую злокачественную опухоль было у 36 (46 %) больных, общее состояние по шкале ECOG  $\geq 2$  баллов — у 9 (11 %). Среди сопутствующих заболеваний отмечались фиброз легких, нарушение функции почек и/или печени, наличие ВИЧ-инфекции.

Частота общего ответа (полные ремиссии + полные ремиссии с неполным восстановлением числа тромбоцитов) составила 44 % в группе А и 35 % в группе А+V ( $p = 0,395$ ). Медиана общей и безрецидивной выживаемости в общей группе пациентов была 7,1 и 5,9 мес. Медиана общей выживаемости у больных из групп А и А+V составила 6,1 и 5,9 мес. ( $p = 0,9$ ); медиана безрецидивной выживаемости в этих группах — 5,9 и 8,7 мес. соответственно ( $p = 0,5$ ). Данная работа демонстрирует целесообразность проведения противоопухолевого лечения больным, которых не представляется возможным включить в клинические исследования.

#### НОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Ряд постерных сообщений посвящен исследованию нового препарата ригосертиб (rigosertib), химическая структура которого изображена на рис. 7.

Выбор следующей линии терапии после неудачи лечения ГА затруднителен. В многоцентровом рандомизированном контролируемом исследовании ONTIME III фазы изучалась безопасность и эффективность противоопухолевого препарата ригосертиб у больных МДС после неудачи лечения ГА. Ригосертиб представляет собой малую молекулу, ингибирующую сигнальные пути киназ PI3 (phosphatidylinositide-3-kinase) и PLK (polo-like kinase).

В докладе «Общая выживаемость больных МДС высокого риска при использовании ригосертиба или наилучшей сопроводительной терапии после неудачи лечения гипометилирующими агентами: исследование фазы III» (Overall Survival and Subgroup Analysis from a Randomized Phase III Study of Intravenous Rigosertib Versus Best Supportive Care (BSC) in Patients (pts) with Higher-Risk Myelodysplastic Syndrome (HR-MDS) after Failure of Hypomethylating Agents (HMAs)) [G. Garcia-Manero et al. Abstract 163] сообщалось о включении в исследование 299 пациентов с МДС высокого риска с прогрессированием (37 %), без ответа на

терапию (25 %) и рецидивом после лечения ГА (38 %). Ригосертиб и наилучшую сопроводительную терапию получило 199 и 100 больных соответственно. Ригосертиб назначался по  $1800 \text{ мг}$  в сутки в виде 72-часовой в/в инфузии каждые 2 нед. в течение первых 16 нед., а далее — каждые 4 нед.

Медиана общей выживаемости у больных, получавших ригосертиб и наилучшую сопроводительную терапию, составила 8,2 vs 5,9 мес. соответственно. Различий в профиле токсичности в обеих группах сравнения не было.

Аналогичное сообщение представлено в постере «Влияние числа бластных клеток костного мозга на общую выживаемость больных МДС высокого риска, получавших ригосертиб после неудачи лечения гипометилирующими агентами» (Relationship of Bone Marrow Blast (BMBL) Response to Overall Survival (OS) in Patients with Higher-Risk Myelodysplastic Syndrome (HR-MDS) Treated with Rigosertib after Failure of Hypomethylating Agents (HMAs)) [L.R. Silverman et al. Abstract 3259].

Исследование костного мозга было выполнено 156 больным из группы ригосертиба и 24 — из группы наилучшей сопроводительной терапии к 4 нед. лечения, а также 86 и 20 пациентам к 12 нед.

Поскольку различий в общей выживаемости в двух группах сравнения не было, больных разделили на две подгруппы: с костномозговым ответом + стабилизация заболевания vs прогрессирование МДС. У больных, получавших ригосертиб с ответом на лечение, медиана общей выживаемости составила 9,8 vs 4,6 мес. у больных с прогрессированием МДС ( $p = 0,011$ ). После исследования костного мозга на 12-й неделе лечения в подгруппе с уменьшением или стабилизацией числа бластных клеток медиана общей выживаемости составила 10,4 мес., а при прогрессировании — 7,5 мес. Авторы делают вывод о корреляции между числом бластных клеток в костном мозге и показателями общей выживаемости.

В «Исследовании I–II фазы комбинации ригосертиба для приема внутрь и азациитидина у больных МДС и ОМЛ» (A Phase I/II Study of the Combination of Oral Rigosertib and Azacitidine in Patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS) or Acute Myeloid Leukemia (AML)) [Sh.C. Navada et al. Abstract 3252] ригосертиб назначался в разных дозах 2 раза в сутки с 1-го по 21-й день курса, а азациитидин  $75 \text{ мг/м}^2$  в сутки в течение 7 дней подряд, начиная с 8-го дня курса. В исследование было включено 18 пациентов с МДС промежуточного-1 риска ( $n = 3$ ), промежуточного-2 риска ( $n = 6$ ), высокого риска ( $n = 2$ ), с ХММЛ ( $n = 1$ ) и ОМЛ ( $n = 6$ ). Медиана возраста составила 70,5 года. Распределение по цитогенетическим группам прогноза по шкале IPSS было следующим: благоприятный ( $n = 8$ ), неблагоприятный ( $n = 8$ ) и промежуточный ( $n = 2$ ). У 11 из 18 больных были показания к трансфузиям эритроцитов ( $n = 11$ ) и тромбоцитов ( $n = 6$ ). Более половины пациентов ранее получали лечение ГА.

Согласно критериям Международной рабочей группы (IWG), достигнуты полная ремиссия ( $n = 1$ ), частичная ремиссия ( $n = 4$ ), стабилизация заболевания ( $n = 2$ ), гематологическое улучшение эритропоэза ( $n = 1$ ). По ряду причин остальные больные не были оценены. Профиль токсичности комбинации ригосертиба и азациитидина существенно не отличался от такового при использовании азациитидина в монорежиме.

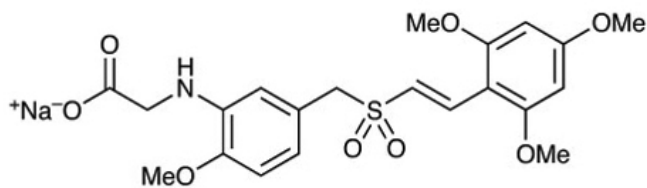


Рис. 7. Химическая структура ригосертиба [http://www.diagnoz-rak.info]

Fig. 7. Chemical structure of rigosertib [http://www.diagnoz-rak.info]

К другому классу новых противоопухолевых препаратов относится биринапант (birinapant), который представляет собой малую молекулу — пептидомиметик (peptidomimetic), т. е. соединение, содержащее небелковые структурные элементы, которые способны копировать биологическую активность природных белковых молекул или противодействовать ей [http://medicalcollege.ru/]. Биринапант является вторым митохондриальным активатором каспаз (second mitochondrial-derived activator of caspases — SMAC) и индуктором апоптоза опухолевых клеток, а также ингибитором NFκB. На основании противоопухолевого эффекта этого препарата на доклиническом этапе авторы инициировали I фазу клинического исследования, представленного в постере **«Исследование I фазы монотерапии биринапантом у пациентов с рецидивами МДС и ОМЛ»** (A Phase I Study Using Single Agent Birinapant in Patients with Relapsed Myelodysplastic Syndrome and Acute Myelogenous Leukemia) [N.V. Frey et al. Abstract 3758].

В работу было включено 20 больных: МДС ( $n = 1$ ), ОМЛ ( $n = 19$ ). Медиана возраста составила 75 лет. Препарат применялся в разных дозах: по 17, 22 и 26 мг/м<sup>2</sup> 1, 2 и 3 раза в неделю.

Ко времени настоящей публикации оптимальным эффектом были стабилизация заболевания и снижение числа бластных клеток в костном мозге с 60 до 10 %. Максимальная активность препарата наблюдалась в дозовом режиме 17 мг/м<sup>2</sup> 2 раза в неделю в течение 3 нед. Эти впервые опубликованные данные свидетельствуют о хорошей переносимости препарата и возможности его комбинированного применения.

Представляет интерес доклад о клиническом использовании нового ГА SGI-110 **«Первые результаты клинического рандомизированного исследования II фазы SGI-110, нового гипометилирующего агента для подкожного введения, у 102 больных МДС промежуточного или высокого риска и ХММЛ»** (First Clinical Results of a Randomized Phase 2 Dose-Response Study of SGI-110, a Novel Subcutaneous (SC) Hypomethylating Agent (HMA), in 102 Patients with Intermediate (Int) or High Risk (HR) Myelodysplastic Syndromes (MDS) or Chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML) [G. Garcia-Manero et al. Abstract 529].

SGI-110 относится к ГА 2-го поколения и представляет собой динуклеотид, разработанный как производное децитабина и дезоксигуанозина. Это лекарственное средство предназначено для п/к введения и характеризуется большим периодом полувыведения. В I фазе исследования SGI-110 установлена биологическая эффективная доза, равная 60 мг/м<sup>2</sup> 1 раз в сутки в течение 5 дней подряд, а также максимальная переносимая доза 90 мг/м<sup>2</sup> 1 раз в сутки в течение 5 дней подряд каждые 28 дней.

В исследование было включено 102 больных. Из них 53 были рандомизированы для лечения SGI-110 в дозе 60 мг/м<sup>2</sup> и 49 — в дозе 90 мг/м<sup>2</sup>. Медиана периода наблюдения составила 8,2 мес., медиана количества курсов лечения — 5 (для впервые выявленных больных). Частота полных ремиссий и полных костномозговых ремиссий составила 19 и 22 % для пациентов из групп 60 и 90 мг/м<sup>2</sup>, а частота исчезновения необходимости в гемотрансфузиях эритроцитов и тромбоцитов — 32 и 28 % соответственно. Частота нежелательных явлений составила 81 и 88 %. Расчет показателей выживаемости еще не проводился.

Обращают на себя внимание исследования новых стимуляторов эритропоэза — ACE-536 и ACE-011, которые были доложены на секции «МДС: клинические исследования». Первое из них **«Повышение уровня гемоглобина и уменьшение необходимости в гемотрансфузиях эритроцитов при использовании ACE-536 у больных МДС низкого и промежуточного-1 риска: предварительные результаты исследования II фазы»** (ACE-536 Increases Hemoglobin and Reduces Transfusion Burden in Patients with Low or Intermediate-1 Risk Myelodysplastic Syndromes (MDS): Preliminary Results from a Phase 2 Study) [U. Platzbecker et al. Abstract 411].

ACE-536 представляет собой рекомбинантный слитный белок рецептора активина типа IIВ и Fc-фрагмента иммуноглобулина G. Поскольку у пациентов с МДС зачастую уровень эндогенного эритропоэтина повышен, эта категория больных оказывается рефрактерной к ЭСП. Было обнаружено, что при МДС увеличен уровень эндогенного фактора роста и дифференцировки 11 (GDF11) и Smad 2/3 (SMAD представляют собой внутриклеточные белки, ответственные за передачу внеклеточных сигналов от трансформирующего фактора роста-β [TGF-β]) в костном мозге. ACE-536 образует связь с лигандом суперсемейства TGF-β, включая GDF11, и подавляет сигнальный путь Smad 2/3, а также активирует поздние стадии дифференцировки эритроидных клеток за счет механизма, отличающегося от ЭСП.

Из всех больных, включенных в исследование, 54 % получали лечение эритропоэтином, 15 % — леналидомидом. Медиана возраста составила 71 год. У 69 % участников была РЦМД, у остальных — синдром 5q-, РАКС или РАИБ-1. Представляет интерес, что у многих больных уровень эндогенного эритропоэтина превышал 500 ЕД/л.

У 2 из 7 больных с умеренной трансфузионной зависимостью уровень гемоглобина увеличился более чем на 15 г/л в течение 8 нед. Перестали нуждаться в гемотрансфузиях 6 пациентов из этой группы. У 6 из 19 больных с высокой трансфузионной зависимостью она уменьшилась на 50 % и более в течение 8 нед. У 5 из этих 6 больных достигнута трансфузионная независимость (диапазон 71–152 дня). Значимых различий в частоте тяжелых нежелательных явлений не было.

Вторая работа — **«Открытое исследование II фазы сотатерсепта (ACE-011) у больных МДС низкого или промежуточного-1 риска и непролиферативным вариантом ХММЛ с анемией, требующей трансфузионной терапии»** (An Open-Label, Phase 2, Dose-Finding Study of Sotatercept (ACE-011) in Patients with Low or Intermediate-1 (Int-1)-Risk Myelodysplastic Syndromes (MDS) or Non-Proliferative Chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML) and Anemia Requiring Transfusion) [R.S. Komrokji et al. Abstract 3251]. (Примечание: непролиферативный вариант ХММЛ характеризуется числом лейкоцитов, не превышающим  $12-13 \times 10^9/л$ .)

Сотатерсепт (ACE-011) — новый первый белок рецептора активина типа IIА, действующий на поздних стадиях эритропоэза, увеличивающий поступление в периферическую кровь зрелых эритроцитов. Применение сотатерсепта стимулировало эритропоэз и значительно увеличивало уровень гемоглобина у здоровых добровольцев, что послужило основанием к его использованию при анемии у больных МДС низкого риска.

В исследование включено 54 пациента с МДС: 7, 6, 21 и 20 больных, получавших исследуемый препарат по 0,1, 0,3, 0,5 и 1 мг/кг соответственно. Медиана возраста составила 71 год, медиана времени от установления диагноза — 4 года. Более 4 доз эритроцитов в течение 8 нед. перед началом лечения получало 45 пациентов (высокая трансфузионная зависимость), менее 4 доз — 17 % (невысокая трансфузионная зависимость). У 15 % больных уровень эндогенного эритропоэтина был более 500 ЕД/л.

Из 53 оцененных больных у 21 (40 %) отмечено гематологическое улучшение эритропоэза. Эффект и его продолжительность были дозозависимыми. Повышение числа тромбоцитов и нейтрофилов наблюдалось у больных с исходной тромбоцитопенией и нейтропенией. Терапия сотатерсептом больными МДС с низким риском переносилась удовлетворительно.

В рамках образовательной программы ASH-2014 мы приводим материалы лекции «Одобрены к применению и новые препараты для лечения МДС» [M.A. Sekeres, A. Gerds. Established and novel agents for myelodysplastic syndromes. American Society of Hematology, Education Program. 56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, California, December 6–9, 2014. Hematology. 2014. pp. 82–9].

МДС относятся к наиболее часто диагностируемым миелоидным опухолям с ежегодным выявлением более 15 000 новых случаев заболевания в США. Прогностические системы все больше вытесняют утвержденную классификацию и разделяют больных на группы низкого и высокого риска. Целью лечения пациентов с низким риском является уменьшение количества гемотрансфузий и улучшение качества жизни, а целью лечения больных с высоким риском — уменьшение вероятности трансформации в острый лейкоз и увеличение показателей выживаемости. У пациентов с низким риском и изолированной цитопенией осуществляется лечение ЭСП или факторами роста, такими как агонисты тромбопоэтина. Пациентам с цитогенетической аномалией del(5q) или при неудаче первоначальной терапии может назначаться леналидомид. У больных с низким риском и мультилинейной цитопенией возможно лечение иммуносупрессивными препаратами или малыми дозами ГА. Пациентам из группы высокого риска предпочтительно проводить первоначальное лечение ГА с оценкой возможности ТГСК. В настоящее время ведется разработка новых препаратов для больных с неудачей лечения ГА. В табл. 4 авторы лекции отражают новые подходы к лечению МДС.

На рис. 8 и 9 приведена лечебная тактика у больных МДС из разных прогностических групп.

**Таблица 4.** Новые потенциально эффективные препараты и их комбинации при миелодиспластических синдромах в различных прогностических группах [цит. по M.A. Sekeres, A. Gerds, 2014; с изменениями]

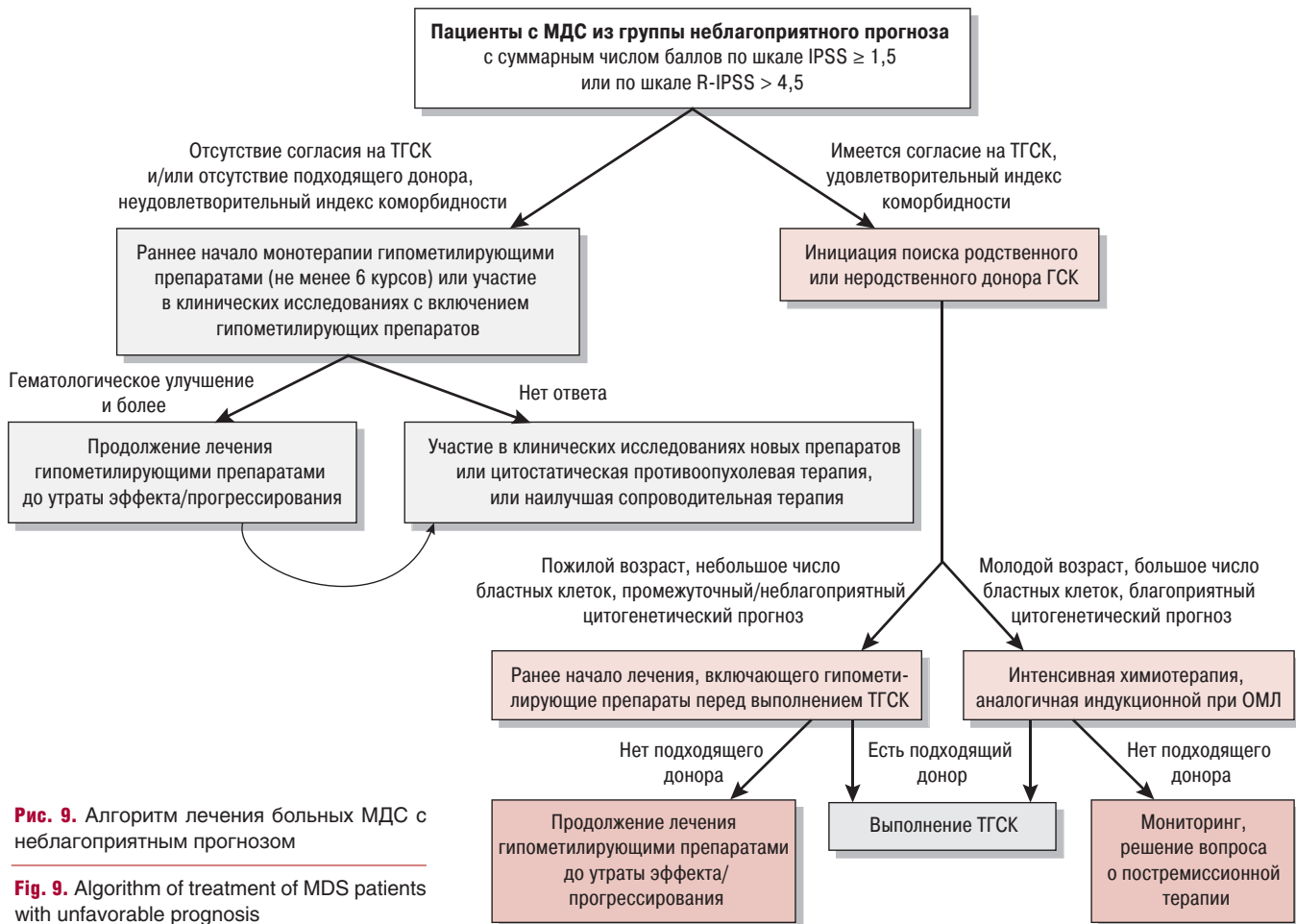
Препарат	Механизм действия	Эффективность
<b>МДС низкого риска</b>		
Ромиплостим	Агонист рецептора тромбопоэтина	Уменьшает частоту и выраженность клинически значимых геморрагических осложнений, может увеличивать количество миелобластов у больных с их исходно повышенным уровнем
Элтромбопаг	Агонист рецептора тромбопоэтина	Повышает число тромбоцитов, улучшает качество жизни (предварительные данные)
Scio-469	Аденозинтрифосфат-конкурентный ингибитор p38 $\alpha$ MAPK	Гематологическое улучшение у 29 % больных
ARRY-614	Ингибитор p38 MAPK/Tie2-киназы	Гематологическое улучшение у 22 % больных
Эзатиостат	Глутатионовый аналог пролекарства ингибитора GSTP1-1	Исчезновение необходимости в гемотрансфузиях у 29 % больных
Сотатерсепт	Слитный белок рецептора активина типа 2A Fc-фрагмента IgG, «ловушка» для суперсемейства TGF- $\beta$	Продолжается II фаза исследования
Малые дозы децитабина	Уменьшение содержания ДНК-метилтрансферазы, гипометилирование	Гематологическое улучшение у 22–47 % больных (результаты 2 исследований)
Азацитидин для приема внутрь	Гипометилирование/деплегия ДНК-метилтрансферазы	Во II фазе исследования у 35 % больных, ранее получавших лечение, и у 60 % впервые выявленных больных отмечен эффект
<b>МДС высокого риска</b>		
Азацитидин + леналидомид	Уменьшение содержания ДНК-метилтрансферазы, гипометилирование + ингибирование цитокинов/влияние на микроокружение	Во II фазе исследования частота общего ответа составила 72 %, полные ремиссии — 44 %
Азацитидин + вориностат	Уменьшение содержания ДНК-метилтрансферазы, гипометилирование + ингибирование гистондеацетилазы	Во II фазе исследования частота общего ответа составила 70 %, полные ремиссии/полные ремиссии с неполным восстановлением гемограммы — 42 %
Азацитидин + працностат	Уменьшение содержания ДНК-метилтрансферазы, гипометилирование + ингибирование гистондеацетилазы	В I фазе исследования частота общего ответа составила 89 %, полные ремиссии/полные ремиссии с неполным восстановлением гемограммы — 78 %
Азацитидин + этиностат	Уменьшение содержания ДНК-метилтрансферазы, гипометилирование + ингибирование гистондеацетилазы	Частота 3-росткового ответа и медиана общей выживаемости сопоставимы с монотерапией азацитидином (24 vs 31 %; 17,7 vs 12,8 мес.)
Азацитидин + воласертиб	Уменьшение содержания ДНК-метилтрансферазы, гипометилирование + ингибирование киназы PLK	Продолжается I фаза исследования
Ригосертиб	Ингибирование сигнальных путей киназ PI3 и PLK	Медиана общей выживаемости 8,2 vs 5,8 мес. в контрольной группе (наилучшая сопроводительная терапия и/или цитарабин)
Сапацитабин	Нуклеозидный аналог	Частота общего ответа 14 %, медиана общей выживаемости 8,6 мес.
Децитабин + возароксин	Уменьшение содержания ДНК-метилтрансферазы, гипометилирование + противоопухолевый дериват хинолона, встраивающийся в ДНК и ингибирующий топоизомеразу II	У 16 оцененных больных частота общего ответа составила 81 %

**Рис. 8.** Алгоритм лечения больных МДС с благоприятным прогнозом

\* Агонисты тромбопоэтина следует назначать вне клинических исследований только при иммунной составляющей тромбоцитопении.

**Fig. 8.** Algorithm of treatment of MDS patients with favorable prognosis

\* Thrombopoietin agonists should be prescribed outside clinical trials only in case of immune-mediated thrombocytopenia.



**Рис. 9.** Алгоритм лечения больных МДС с неблагоприятным прогнозом

**Fig. 9.** Algorithm of treatment of MDS patients with unfavorable prognosis

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Лечение больных МДС является риск-адаптированным, исходя из цитопении, числа бластных клеток и результатов цитогенетического анализа. Поскольку при МДС обнаружено около 9 соматических мутаций, определяющих клиническое течение заболевания, препарат, который можно назвать «волшебной пулей», еще не разработан. Тем не менее существует ряд средств, уменьшающих выраженность цитопении, которые используются при МДС низ-

кого риска с целью улучшить качество жизни пациентов. Лечение комбинацией уже утвержденных при МДС препаратов и новыми агентами применяется прежде всего при МДС высокого риска. Не вызывает сомнения, что очередным направлением в лечении будет поиск лекарственных средств при неудаче терапии ГА. В ближайшее десятилетие открытия в области молекулярной биологии приведут к более глубокому пониманию природы МДС, пересмотру классификации, прогностических факторов и созданию новых подходов к лечению.