

А.Г. Румянцев

Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии, Москва

Научные достижения и перспективы развития детской гематологии/онкологии

Контактная информация:

Румянцев Александр Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАМН, директор Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии

Адрес: 117997, Москва, Ленинский проспект, д. 117, тел.: (495) 937-50-24, e-mail: info@niidg.ru

Статья поступила: 26.07.2010 г., принята к печати: 16.08.2010 г.

Достижения биологической науки, приведшие к расшифровке генома и формированию постгеномной клеточной регуляции развития человека, привели к выделению в педиатрии новой специальности детского гематолога/онколога. Клинические исследования в детской гематологии/онкологии направлены на изучение патогенеза и разработку научно обоснованных методов диагностики и лечения наследственных и приобретенных заболеваний крови и иммунной системы, онкологических заболеваний у плода, новорожденных, ребенка и подростка. Междисциплинарный подход в науке и организации работы отделений детской гематологии и онкологии на базах многопрофильных детских больниц привел к выдающимся результатам. В статье представлены наиболее значимые научные и практические достижения отечественных ученых и врачей в диагностике и лечении гематологических и онкологических заболеваний у детей и подростков.

Ключевые слова: детская гематология, иммунология, онкология.

В отличие от общей гематологии, теоретической основой которой является учение о кроветворении и его регуляции, детская гематология как наука базируется на изучении онтогенеза кроветворной и иммунной систем, гистогенетически связанных единой стволовой клеткой и, следовательно, характеризующихся общими путями ее дифференцировки и миграции, закономерностями становления, функционирования, терминальной дифференцировки и апоптоза клеточных структур, обеспечивающих биохимический и иммунный гомеостаз, тканевое дыхание и регуляцию метаболизма. Детская гематология изучает, помимо прочего,

молекулярно-биологические и генетические дефекты функционирования клеток крови и иммунной системы, приводящие к развитию иммунодефицитных состояний, аутоиммунных заболеваний, опухолей и инфекций иммунной системы. Клинические исследования в гематологии направлены на изучение патогенеза наследственных и приобретенных заболеваний крови и иммунной системы у плода, новорожденного, ребенка, подростка и взрослого человека, а также на разработку научно обоснованных методов профилактики и лечения этих заболеваний с учетом положений доказательной медицины.

A.G. Rumyantsev

Federal Scientific Clinical Center of Children's Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

Scientific progress and perspectives of children's hematology/oncology development

Progress of biology leading to the decoding of genome and forming of post-genome cell regulation of human development, resulted in separation of new pediatric speciality: children's hematologist/oncologist. Clinical studies in children's hematology/oncology are dedicated to study of pathogenesis and development of scientifically-based methods of diagnostics and treatment of hereditary and obtained diseases of blood and immune system, oncological diseases of newborns, children and adolescents. Interdisciplinary approach in science and organization of service in children's hematology/oncology departments on the basis of multisectoral children's hospitals led to significant results. The article presents most significant scientific and practical achievements of Russian scientists and doctors in diagnostics and treatment of hematological and oncological diseases in children and adolescents.

Key words: children's hematology, immunology, oncology.

Тесная связь между научной и практической гематологией и иммунологией прослеживается уже более 100 лет. На первых этапах она развивалась в виде учения о фагоцитозе, группах крови и антигенах тканевой совместимости. С момента выделения Т и В лимфоцитов, определения роли антигенпрезентирующих макрофагов в иммунной системе, описания кластеров и генетических маркеров дифференцировки клеток-предшественников кроветворения и иммунной системы, выяснения роли гормонов, колониестимулирующих факторов, молекул адгезии, цитокинов и стромального микроокружения в функционировании стволовых клеток кроветворения наметилась эффективная интеграция этих двух разделов медицины и биологии. Указанные и другие открытия ускорили продуктивные исследования в области клеточных основ иммунологии, онтогенеза иммунной системы, детализации наследуемых, врожденных и приобретенных иммунодефицитных состояний (ИДС) у детей и подростков, способствовали научному обоснованию новых технологий диагностики и лечения этой группы больных. При этом в отличие от классической иммунологии, тщательному изучению подверглись гемопоэтические и иммунные клетки-предшественники, а также формы их взаимодействия с эффекторным звеном иммунного ответа.

Иммунодефицитные состояния

Для изучения патогенеза ИДС в Федеральном научно-клиническом центре детской гематологии, онкологии и иммунологии организован персонифицированный регистр пациентов с такими состояниями, включающий результаты оценки иммунного и гематологического статуса, мутационного анализа и секвенирования комплементарной ДНК. Регистр позволил объединить информацию о 30 формах ИДС, шесть из которых (общая переменная иммунная недостаточность, гипер-IgM синдром, синдром Вискотта–Олдрича, синдром Ниймегена и аутоиммунный лимфолифферативный синдром, дефицит С1-ингибитора комплемента) подверглись углубленному научному анализу. Так, при общей переменной иммунной недостаточности был выявлен генетический дефект в виде мутантного гена, индуцируемый костимуляторной молекулой (ICOS), находящейся на длинном плече 2 хромосомы. Эта молекула экспрессируется активированными Т лимфоцитами, причем взаимодействие с лигандом на В лимфоцитах необходимо для поздней дифференцировки В клеток и образования В клеток памяти. Хотя общая переменная иммунная недостаточность отнесена экспертами ВОЗ в группу ИДС с преимущественным нарушением продукции антител, наши исследования показали, что нарушения Т-клеточного иммунитета в этом случае являются первичными, а дефекты продукции иммуноглобулинов В клетками — вторичны. Эти наблюдения важны с точки зрения терапии заболевания как комбинированного ИДС. Недавно обнаруженная у 10% больных общей переменной иммунной недостаточностью мутация гена TNFRST 13B, кодирующего трансмембранный активатор кальция, экспрессируемый В лимфоцитами и обеспечивающего взаимодействие с макрофагами и дендритными клетками, по существу подтверждает комбинированный вариант ИДС при клинически гетерогенной форме заболевания.

Исследования у пациентов с гипер-IgM синдромом, наряду с известными гуморальными дефектами, выявили инверсию отношения CD4+/CD8+ клеток, повышение содержания NK клеток и точечные мутации геномной структуры лиганда CD40, нарушающие дифференцировку В лимфоцитов в IgM-продуцирующие клетки при взаимодействии с Т лимфоцитами. Это объясняет изменение резистентности к бактериальным, грибковым и оппортунистическим инфекциям и развитие аутоиммунных заболеваний у таких больных. Следствием неадекватного иммунного ответа на внутриклеточные патогены у пациентов с гипер-IgM синдромом является развитие склерозирующего холангита и неспецифического язвенного колита, имеющих неблагоприятный прогноз.

В результате молекулярно-генетических исследований больных с синдромом хромосомных поломок Ниймегена — иммунодефицита, который более чем в половине случаев завершается развитием опухоли, определена новая мутация гена Nbsl (657 del 5), характерная для русской популяции. Кроме того, выделены неизвестные ранее нарушения функционирования теломер, показана возможная роль гетерозиготного носительства мутации 657 del 5 в развитии апластических анемий, нейтропений, тромбоцитопений и злокачественных лимфолифферативных заболеваний у детей.

В 1995 г. был описан ранее неизвестный дефект иммунной регуляции — аутоиммунный лимфолифферативный синдром, клиническая симптоматика которого проявлялась сочетанием лимфолифферативного синдрома с аутоиммунными поражениями кишечника, печени, суставов и других органов и систем. Определены характерные диагностические критерии аутоиммунного лимфолифферативного синдрома: инверсия отношения CD4+/CD8+ клеток, повышение содержания активированных Т и В лимфоцитов, NK клеток и резкое увеличение двойных негативных (CD4-/CD8-) Т клеток, нарушение апоптоза периферических мононуклеаров при индукции антителами к Fas-рецептору, мутации в генах Fas, каспаз 8 и 10. Выявленные типы молекулярно-генетических расстройств при аутоиммунном лимфолифферативном синдроме позволили разработать дифференцированные протоколы лечения, зависящие от степени мультиорганного поражения и включающие циклоспорин, антитела к анти-CD20 (ритуксимаб), спленэктомию и, в особо тяжелых случаях, трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК).

У больных с синдромом Вискотта–Олдрича установлено, что классический синдром, проявляющийся микротромбоцитопенией, экземой и иммунодефицитом, имеет точно установленный дефект гена в хромосоме 11.23, контролирующего синтез белка WASP, экспрессирующегося исключительно на клетках гемопоэтического ряда. Мутации гена WASP включают весь возможный спектр генетических расстройств: миссенс, нонсенс, делеции, инсерции, мутации клеточного скелета. В последнее время выявлено и описано 15 новых мутаций в гене WASP, установлен патогенез микротромбоцитопении (дефекты скелета мембраны), являющийся причиной повышенного разрушения тромбоцитов, впервые показана мозаичность лимфоцитов по уровню экспрессии WASP, что послужило основанием к моделированию эффектов генной терапии и/или ТГСК у больных с синдромом Вискотта–Олдрича.

Для системы комплемента установлены и описаны все дефектные гены, локализованные на аутосомных хромосомах (кроме гена пропердина). В целом, дефекты ранних фракций комплемента (C1–C4) сопровождаются развитием аутоиммунных заболеваний, таких как системная красная волчанка, ювенильный ревматоидный артрит, узелковый полиартериит. Дефекты терминальных компонентов комплемента (C5–C9) предрасполагают к развитию менингококковой инфекции. Исследования экспериментальных животных, нокаутированных по белкам системы комплемента, позволили описать патогенез и обосновать терапию наследственного и приобретенного дефицита C1-ингибитора комплемента, сопровождающегося жизнеопасным ангионевротическим отеком, определить иммунологические критерии тяжести течения системной красной волчанки, диагностическое и прогностическое значение комплементарных белков в развитии гнойно-воспалительных заболеваний у детей раннего возраста.

Исследования детей с дефектами фагоцитоза и гранулоцитарными синдромами костномозговой недостаточности выявили более 30 генных дефектов с X-сцепленным, аутосомно-доминантным и аутосомно-рецессивным наследованием. Это позволило разработать молекулярно-генетический алгоритм дифференциальной диагностики и обосновать дифференциальную терапию этой группы больных. Определены критерии иммунных нейтропений: наличие антигранулоцитарных антител в сочетании с нейтропенией потребления и снижением гранулоцитарно-моноцитарных колониеобразующих единиц (КОЕ-ГМ) при культивировании костного мозга в системе «агаровая капля — жидкая среда». Разработаны и внедрены в практику протоколы лечения пациентов с рядом генетических (использование гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, ТГСК) и иммунных (применение циклоспорина, инфликсимаба, антицитокиновых препаратов) нейтропений.

Особую группу ИДС представляют дефекты, являющиеся следствием иммунной дисрегуляции, ранее описанные в группе гистиоцитозов. К ним относятся первичный (в том числе семейный) гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (ГЛГ) — группа заболеваний макрофагов, характеризующихся дефектами и неконтролируемой активацией Т лимфоцитов в ответ на инфекцию. Как результат, происходит гиперпродукция противовоспалительных цитокинов, системный эффект которых обуславливает тканевые и органые повреждения, проявляющиеся лихорадкой, гепатоспленомегалией, двух- или трехростковой цитопенией, гипертриглицеридемией, гипербилирубинемией, гипофибриногенемией, неврологическими нарушениями, что приводит к фатальному исходу. Неспособность НК клеток осуществлять эффективные цитотоксические функции является универсальным феноменом при этом заболевании и связана с мутацией гена перфорина (PRF1). Морфологическим субстратом ГЛГ является лимфогистиоцитарная инфильтрация с гемофагоцитозом, преимущественно в костном мозге, селезенке, лимфоузлах, ЦНС, печени, тимусе. Средняя продолжительность жизни у заболевших до внедрения современных протоколов химио- и иммуносупрессивной терапии и ТГСК составляла 2–3 мес. В связи с этим в нашей клинике впервые в стране проведена сравнительная оценка эффектив-

ности международных протоколов химиоиммунотерапии и аллогенной ТГСК. Показан 50%-й эффект химиоиммуно- и сопроводительной терапии и абсолютный эффект ТГСК: 14 из 14 больных выжили, в том числе 3 из 3 при неродственной ТГСК.

В отличие от ГЛГ гистиоцитоз из клеток Лангерганса имеет специфические иммуногистохимические маркеры повреждения макрофагов — CD1a-антиген и гранулы Бирбека при электронной микроскопии. После внедрения протоколов химиотерапии в лечебную практику при наиболее тяжелых полисистемных гистиоцитозах общая и безрецидивная выживаемость больных составила, соответственно, 80 и 60%. Трансплантация ГСК эффективна у резистентных больных с неэффективностью системной химиотерапии. Исследования в России по гистиоцитозам у детей выполнены в рамках международного сотрудничества с кооперативной международной группой по лечению этого заболевания: обсуждены результаты лечения 866 детей в возрасте от 0 до 18 лет и показана идентичность результатов при использовании международных протоколов химиотерапии.

В течение последнего десятилетия описана группа редких наследственных заболеваний и синдромов, характеризующихся нарушением регуляторов воспаления. При этом у пациентов не определяются признаки аутоиммунной агрессии (аутоантитела, аутореактивные Т лимфоциты). К этой группе аутовоспалительных заболеваний относятся семейная средиземноморская лихорадка (периодическая болезнь), периодический синдром, ассоциированный с дефектом рецептора фактора некроза опухоли, гипер-IgD синдром, семейная холодовая крапивница и др. Принципиально важным для клиники оказалось то, что генетические дефекты, ответственные за протеины, участвующие в реакциях воспаления (например, дефекты пирин-транскрипционного фактора миелоидных клеток, ограничивающего действие провоспалительных цитокинов), вызывают активацию цитокинового каскада, неспецифическую стимуляцию антителогенеза, повышение уровня белков острой фазы воспаления и амилоида А, что приводит к развитию вторичного амилоидоза AA-типа с преимущественным поражением почек. Синдромы, ассоциированные с мутацией гена CIAS-1 (такие, как синдром Макл-Веллса, семейный холодовой аутовоспалительный синдром, младенческий кожно-артикулярный синдром), связаны с дефектами криопирин, экспрессируемого полиморфноядерными лимфоцитами и хондроцитами. Этот белок индуцирует процесс метаболизма проинтерлейкина 1 с образованием его активной формы. Молекулярно-генетический анализ позволил обосновать дифференцированные методы лечения, например, использование колхицина при периодической болезни, предотвращающего развитие почечной недостаточности и раннего летального исхода от амилоидоза, или патогенетическое лечение рекомбинантным антагонистом интерлейкина 1, который приводит к исчезновению воспалительных симптомов уже на 2-й день от начала терапии при CIAS-1-ассоциированных заболеваниях.

Радикальным методом терапии при большинстве ИДС является ТГСК, обеспечивающая в случае успешного выполнения полную коррекцию иммунологического дефекта. Первая трансплантация ГСК больному с ИДС

в России проведена в 1995 г. в нашей клинике. В последующие годы было налажено эффективное международное сотрудничество по подбору доноров ГСК, разработаны оригинальные режимы предтрансплантационной химиотерапии и профилактики инфекционных осложнений. Итоги исследований, обобщивших результаты 170 трансплантаций у детей с комбинированными ИДС с преимущественными дефектами антителообразования и дефектами фагоцитоза, определили общую эффективность лечения у 75% больных.

Следующим этапом интенсивного развития проблемы лечения ИДС станет генная терапия, получившая развитие в последние 7 лет. Первый случай введения гена аденозиндезаминазы в стволовые клетки пациента с этой патологией и последующей аутотрансплантацией их с полным восстановлением кроветворения и коррекцией иммуногенного дефекта, обеспечил выздоровление пациента. За этим последовала работа по накоплению опыта, прежде всего в виде комбинации генной терапии и ТГСК.

Анемии

Значимой проблемой детской гематологии, педиатрии и детского здравоохранения по-прежнему являются анемии, что было подтверждено данными Всероссийской диспансеризации детского населения в 2002 г. У детей 90% всех анемий (у взрослых — 80%) приходится на железодефицитные анемии (ЖДА). За 10 лет (1992–2002 гг.) распространенность ЖДА у детей в возрасте до 15 лет выросла с 452 до 1821 на 100 тыс. населения соответствующего возраста, а у подростков 15–18 лет — с 103 до 591. Многочисленные исследования отечественных педиатров-гематологов завершились разработкой рекомендаций по антенатальной, интранатальной и постнатальной профилактике ЖДА. Эти исследования включали сравнительную оценку эффективности зарегистрированных в Российской Федерации (РФ) препаратов железа, в результате чего подготовлены стандарты и обучающие программы для врачей.

К новым результатам, полученным из многолетних исследований, следует отнести данные по патогенезу эритропоэтин-зависимых анемий, тактике терапии эритропоэтином (ЭПО) ранней анемии недоношенных детей, роли недостаточности ЭПО в развитии анемии беременных, возрастной эволюции трансферриновых рецепторов сыворотки крови, а также патогенезу анемии в период становления репродуктивной функции у девочек-подростков, патогенетическому обоснованию применения ЭПО и его комбинации с внутривенными препаратами железа при онкологических заболеваниях.

Одним из разделов научной и практической гематологии является изучение наследственных и приобретенных синдромов костномозговой недостаточности. Эти заболевания, как правило, фатальны, могут возникать в любом возрасте и эволюционировать в опухолевые процессы. Их изучение позволяет понять общие механизмы нарушения гемопоэза, иммуногенеза и индукции опухолевого роста. Предметом наших исследований явились 4 врожденных синдрома костномозговой недостаточности: анемия Фанкони, врожденный дискератоз, анемия Даймонда–Блекфена и синдром Швахмана–Даймонда, а также 2 приобретенных

расстройств — трехростковая идиопатическая и постгепатитная апластические анемии.

Классическая анемия Фанкони проявляется прогрессирующей аплазией костного мозга, врожденными аномалиями и предрасположенностью к развитию лейкозов, особенно острого миелобластного лейкоза и солидных опухолей. В базе данных больных анемией Фанкони, созданной нами в России, оказалось более 60 детей и членов их семей, вследствие чего и проведен широкий круг клеточных, биохимических, биофизических и молекулярно-генетических исследований. Было предложено несколько моделей функционирования белков у больных анемией Фанкони для объяснения спонтанной хромосомной нестабильности и чувствительности клеток к кластогенным агентам. Одна из них заключается в нарушении кислородного метаболизма в результате сверхпродукции активных форм кислорода или недостаточности процессов их детоксикации, связанного с дефектами пероксидазного и каталазного доменов в составе генов основных комплементарных групп анемии Фанкони. Эти исследования позволили обосновать терапевтическую программу, в основе которой — применение комбинации андрогенов и ингибиторов активных форм кислорода. Эта тактика была взята на вооружение Европейской ассоциацией больных анемией Фанкони. В результате удалось получить эффект клинической стабилизации и уменьшения частоты генетических поломок у 62% больных, однако этот эффект при наличии аплазии сохранялся в течение 2 лет (максимально — до 9 лет); 1/3 больных погибли в результате развития опухоли; 2/3 — из-за осложненной костномозговой недостаточности. Выжили только те больные, которым удалось провести аллогенную неродственную ТГСК.

Врожденный дискератоз характеризуется триадой симптомов (дистрофия ногтей, закупорка слезных канальцев и лейкоплакия слизистых оболочек), часто проявляющихся в полном наборе после развития апластической анемии. Пациенты с этим заболеванием представляют собой группу высокого риска по развитию лейкозов и солидных опухолей. Врожденный дискератоз наследуется по X-сцепленному рецессивному, аутосомно-доминантному или аутосомно-рецессивному типу. Для пациентов с X-сцепленным вариантом врожденного дискератоза характерны мутации гена, кодирующего дискерин — белок, связывающий РНК-теломеразу. У больных с аутосомно-доминантной формой врожденного дискератоза теломеры, которые «запечатывают» концы хромосом, значительно укорочены, что проявляется неустойчивостью генома. Поскольку дискерин обладает сродством к псевдоуридинсинтетазе, участвующей в посттранскрипционных изменениях, это расстройство сопровождается дисфункцией рибосом, что, с одной стороны, ведет к апоптозу клеток-предшественников гемопоэза, с другой — дефекты теломеров приводят к незащищенности концов ДНК, что вызывает деградацию ядра и образование слипания «конец в конец» с другими хромосомами. Такие хромосомы подвержены дополнительным поломкам во время митотического цикла, что приводит к развитию опухолевого процесса. Излечение возможно только при выполнении ТГСК. Наше учреждение располагает собственными наблюдениями радикального лечения пациентов с дискератозом с применением данного метода терапии.

Анемия Даймонда–Блекфена (парциальная красноклеточная аплазия), с одной стороны, рассматривается как исход врожденной парвовирусной инфекции, избирательно поражающей клетки-предшественники эритроидного ряда. Однако наличие сопровождающих аплазию аномалий черепно-лицевого скелета, лучевых костей, патологии со стороны сердца и почек стимулировали поиск генетических причин заболевания. Оказалось, что у 20–25% больных с анемией Даймонда–Блекфена выявляются гетерозиготные мутации в гене, кодирующем рибосомальный белок RPS19, причем были описаны как аутосомно-доминантный тип наследования, так и случаи спонтанного развития заболевания. К сожалению, лечение этого заболевания (с использованием глюкокортикоидных гормонов и эритроцитарной массы) в настоящее время недостаточно эффективно. Радикальным методом лечения пациентов с анемией Даймонда–Блекфена является аллогенная ТГСК.

Синдром Швахмана–Даймонда характеризуется нейтропенией в сочетании с нарушениями экзокринной функции поджелудочной железы. Пациенты с этим заболеванием составляют группу повышенного риска по развитию апластической анемии и острого миелобластного лейкоза. У этих больных выявлена мутация в гене *SBDS*, экспрессируемая во всех тканях, примерно у 90% больных с синдромом Швахмана–Даймонда. Предполагается, что этот ген участвует в метаболизме РНК; роль рибосомальной дисфункции остается неизученной.

При приобретенных апластических анемиях панцитопения может быть результатом дефекта или снижения пролиферативного потенциала гемопоэтических предшественников, либо пониженной способности стромального микроокружения костного мозга поддерживать адекватную потребностям сбалансированную дифференцировку и пролиферацию ГСК.

Исследования, проведенные в нашем центре, показали, что функции стромы у больных апластической анемией не нарушены, в то время как при исследовании ранних предшественников клеток костного мозга выявлен их глубокий дефект, обусловленный патологическим апоптозом. Лабораторные доказательства роли аутоиммунных факторов в патогенезе апластической анемии (а именно улучшение роста миелоидных и эритроидных колоний в культуре после удаления аутологичных лимфоцитов с помощью антилимфоцитарной сыворотки или моноклональных антиТ-клеточных антител) легли в основу новых технологий лечения заболевания — замещения недостающего числа стволовых клеток донорскими клетками (ТГСК) или снятия иммуноопосредованной ингибции пролиферации стволовых клеток с помощью иммуносупрессивной терапии.

В течение 16 лет в России были последовательно организованы и проведены многоцентровые рандомизированные исследования сравнительной эффективности протоколов лечения больных апластической анемией, включающих монотерапию циклоспорином, а также циклоспорином в комбинации с низкими дозами преднизолона и метандростенолона, циклоспорином в комбинации с антитимоцитарным глобулином, комбинированную иммуносупрессивную терапию (циклоспорин, антитимоцитарный глобулин, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор) и, наконец, аллогенную ТГСК с щадящими режимами

кондиционирования. Отработаны оптимальные методы гемотрансфузионной поддержки с фильтрацией, а в дальнейшем — облучение компонентов крови, получаемых аппаратным методом; протоколы сопроводительной антибактериальной, противовирусной и противогрибковой терапии. Проведен анализ результатов лечения 296 больных апластической анемией, у 62 из которых проведены аллогенные ТГСК. Выживаемость больных с тяжелыми и сверхтяжелыми формами апластической анемии, получивших ТГСК от HLA-совместимого донора, составила 80–90%, при неродственной ТГСК — 40–60%; при комбинированной терапии (антитимоцитарный глобулин + циклоспорин) у больных с легкими и среднетяжелыми формами апластической анемии получены сравнимые с ТГСК результаты.

Расстройства гемостаза

Наиболее значимые достижения в изучении расстройств гемостаза у детей связаны с организацией исследовательского регистра больных гемофилией в РФ, Москве и Московской области, качественной диагностикой гемофилии и других наследственных коагулопатий (болезни Виллебранда, дисфибриногенемий и др.). Ретроспективные эпидемиологические исследования, проведенные в течение 11 лет (1993–2003 гг.), позволили получить новые данные об основных характеристиках наследственных коагулопатий, а также оценить фармакоэкономические затраты на обеспечение адекватной профилактики и лечения заболеваний этой группы.

Внедрение в России известных в мире протоколов лечения гемофилии — лечение по факту возникновения геморрагического эпизода, профилактический метод (введение концентратов факторов 3 раза в неделю при гемофилии типа А и 2 раза в неделю при гемофилии типа В из расчета 25–40 МЕ на 1 кг массы тела больного) и высшее достижение медицины — организация лечения больных на дому — были реализованы на базе Детского гематологического центра при Измайловской детской городской клинической больнице.

Научные исследования в области гемофилии в настоящее время проводятся по 3 основным направлениям:

- разработка методов лечения ингибиторной формы гемофилии через индукцию иммунной толерантности (Боннский протокол, протокол Мальме);
- создаются новые рекомбинантные факторы свертывания крови для замены ими имеющихся в продаже 17 препаратов, получаемых из плазмы;
- поиск подходов к генной терапии гемофилии (генетическая модификация клеток печени *in vivo* с использованием ретровирусного вектора).

Наши сотрудники участвуют в каждом из этих направлений, которые осуществляются в кооперации с учеными Германии, Франции, США и Японии, и мы рассчитываем увидеть результаты этой деятельности уже в ближайшие годы.

Онкологические заболевания

Детская гематология и детская онкология — дисциплины, в свое время разделенные не без участия взрослых специалистов (гематология — терапевтическая, а онкология — хирургическая специальности), оказались настолько тесно связаны между собой, что разделить их

в практике педиатрии оказалось невозможным и нецелесообразным по экономическим причинам. За рубежом это повлекло за собой слияние указанных специальностей в оказании специализированной помощи детям более 30 лет назад. В настоящее время этот процесс завершается и в России: принципиальным решением явилась организация лечения всех детей с гематологическими и онкологическими заболеваниями на базах многопрофильных детских больниц, а не в стационарах, где лечатся взрослые больные. В детской практике гемобластозы (острые и хронические лейкозы, неходжкинские злокачественные лимфомы, лимфомы Ходжкина и гистиоцитозы) составляют половину онкологических заболеваний детского возраста, и такие больные всегда, основываясь на соответствующих приказах Минздрава, лечились в гематологических стационарах детских больниц. Пациенты с опухолями центральной и периферической нервной системы (25%) также получают медицинскую помощь в детских больницах, а пациенты с опухолями костей и мягких тканей (12%), почек (6%) и др., более редкими злокачественными новообразованиями — в онкологических отделениях детских больниц и онкодиспансерах для взрослых.

Приведенная выше структура онкологической заболеваемости, а также возрастные особенности течения опухолей у детей (мутационный инцидент и вероятное начало во внутриутробном периоде развития, становление опухолей на фоне генетических, биологических дефектов и иммунодефицитов, информация о которых приведена выше, развитие опухолей из эмбриональных зачатков, склонность к генерализации — метастазированию на фоне становления иммунного и гормонального гомеостаза и т.д.) оказали влияние на выбор стратегии лечения. Ею стала высокодозная полихимиотерапия, повлекшая за собой необходимость расширения знаний врачей-онкологов в области гематологии, иммунологии, инфекционных болезней, интенсивной терапии, реанимации, сопровождающей и реабилитационной терапии и педиатрии в целом. Хирургическое лечение и лучевая терапия детских опухолей заняли вспомогательное, этапное положение.

Новые технологии лечения в детской гематологии/онкологии опираются на знание генетики и биологии каждой конкретной опухоли, учитывающих первично-генерализованный характер опухолевого процесса у детей и возможные ответы больных на > 100 жизнеопасных химиопрепаратов, колониестимулирующих факторов, цитокинов и новейших средств точечной и сопроводительной терапии и, что очень важно, на новую систему организации лечебной работы на основе междисциплинарного протокола, участницей выполнения которого является команда в составе гематолога/онколога, патолога, хирурга (нейрохирурга), радиолога, специалиста по лучевой терапии, анестезиолога-реаниматолога, врачей «узких» педиатрических специальностей. Уникальной моделью успешного внедрения новых технологий, точкой роста развития гематологии/онкологии является драматическая история лечения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей. Именно достижения в лечении этого заболевания в полной мере продемонстрировали возможности современной высокодозной химиотерапии и роль сопроводительной терапии для ее успеха, а также

ключевое значение организации многоцентровых рандомизированных исследований, исключающих селекцию пациентов и медицинского персонала, для доказательства их эффективности и максимально быстрого внедрения в практику здравоохранения.

Основные принципы лечения ОЛЛ у детей были разработаны в конце 60-х годов XX века. Дальнейший прогресс в лечении ОЛЛ связан с определением биологической гетерогенности ОЛЛ, выделения иммуноцитологических вариантов заболевания и внедрением международной цитологической классификации (FAB). Это позволило дифференцировать терапию FAB-вариантов, В- и Т-линейных ОЛЛ, определить ближайший и отдаленный прогнозы заболевания. Следующий этап развития терапии был определен культуральными, генетическими и молекулярными исследованиями лейкемических клеток. В частности, были определены 5 хромосомных aberrаций при ОЛЛ: t (9; 22), t (4; 11), t (1; 19), t (8; 14) и t (12; 21) и рассчитаны результаты терапии при наличии каждой из них, что послужило основанием для стратификации больных на группы риска и дифференцированного подхода к лечению.

Внедрение международного протокола кооперированной группы BFM — ALL-BFM-90 лечения ОЛЛ в России потребовало разработки методов адекватной статистики, создания материально-технической базы, современной лабораторной диагностики, полного лекарственного обеспечения, междисциплинарного взаимодействия, организации отделений переливания крови и дневных стационаров, разработки принципов диспансерного наблюдения и реабилитации больных. Проведение интенсивной программной терапии с использованием высоких доз метотрексата, циклофосфана и антрациклинов, а также краниального облучения у большинства детей сопровождалось высокой токсичностью и связанными с ней тяжелыми побочными явлениями, требующими высококачественной и дорогостоящей сопутствующей терапии. Поэтому было решено пойти по пути создания такой же эффективной, но менее агрессивной и дорогой программы лечения ОЛЛ и сравнить 2 программы по эффективности, токсичности и стоимости. Основываясь на рандомизированных исследованиях DFCI (США) и ALLVI (Нидерланды) и опыте, накопленном группой BFM, мы разработали первый в России протокол лечения, который был назван «Москва-Берлин» 91 (ALL-MB-91). Следующий шаг, обеспечивающий объективность исследования и обоснование его внедрения в практику, требовал сравнения нового протокола с известным и внедренным в России стандартным протоколом, каким стал протокол ALL-BFM-90m в многоцентровом контролируемом исследовании. Для этих целей была создана кооперированная группа на базе 6 клиник в 1995 г. Итоги этой работы подведены в 1999 г. Эффективность нового протокола оказалась сопоставима с результатами лечения больных по протоколу ALL-BFM-90m: 4-летняя бессобытийная выживаемость (*event-free survival* — EFS) больных, получивших лечение по протоколу ALL-BFM-90m, составила 82%, а больных, получивших лечение по протоколу ALL-MB-91, — 79%. Вместе с тем токсичность и, следовательно, объем и стоимость сопроводительного лечения были значительно ниже, как и длительность госпитализации. Успех работы этой кооперированной группы, создав-

шей унифицированную компьютерную базу данных для эффективной проспективной обработки больших массивов информации из историй болезней в кооперированном исследовании, привлек в группу другие клиники России и все клиники Республики Беларусь. Российско-белорусская кооперированная группа насчитывает 42 клиники и способна рекрутировать до 600 больных в год. В 2001 г. подведен 10-летний опыт сравнительного использования 2 протоколов лечения — ALL-FFM-90m и ALL-MB-91 — более чем у 800 больных и проведена оценка факторов риска, позволяющих дифференцировать лечебную тактику на базе этих 2 протоколов, что способствует повышению результатов лечения ОЛЛ (10-летняя выживаемость составила 80%). С 2002 г. кооперированная группа, завершив первое исследование, которое было высоко оценено Международным обществом детских онкологов (SIOP) и позволило полностью интегрироваться в мировое сообщество, перешла к следующему этапу исследования и в настоящее время завершила работу по протоколу ALL-MB-2002. Главным итогом этого исследования, в которое были включены более чем 2000 пациентов, стало дальнейшее снижение смертности больных вследствие токсических и инфекционных осложнений.

На базе гематологического стационара городской клинической больницы им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения Москвы организовано первое в стране специализированное отделение подростковой гематологии, где исследована эффективность педиатрических протоколов ALL-BFM-90m и ALL-MB-91 у подростков старшей возрастной группы и лиц молодого возраста (15–28 лет). Несмотря на то, что клиничко-биологические характеристики ОЛЛ у подростков старшего возраста и детей в большей степени соответствуют лейкозу у взрослых, внедрение педиатрических протоколов во взрослую практику позволило получить результаты, сопоставимые с таковыми у подростков младшей возрастной группы при использовании аналогичных протоколов: 6-летняя общая выживаемость (*overall survival* — OS) всей группы пациентов (15–28 лет) составила 84,1%, EFS — 75%.

Острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) у детей — группа заболеваний с 11 различными фенотипическими признаками субстрата опухоли и плохим прогнозом. В 1988 г. впервые в России были проанализированы результаты лечения ОМЛ у 100 больных: лишь у 34% пациентов была достигнута ремиссия, 5% могли считаться излеченными, так как у них отмечалось безрецидивное течение более 5 лет. Понадобилось 20 лет для того, чтобы по аналогии с ОЛЛ последовательно пройти путь по изучению биологии опухоли, иммунологических, цитогенетических и молекулярно-генетических ее маркеров. В итоге оказалось, что практически все случаи ОМЛ имеют характерные молекулярно-генетические маркеры, затрагивающие транскрипцию, нарушения проведения сигналов (тирозинкиназа) и ацетилирование хроматина. Развитие стратегии терапии ОМЛ следовало за достижениями терапии ОЛЛ, целью этой стратегии являлась эрадикация лейкоэмического клона с последующим восстановлением нормального гемопоэза. В отличие от ОЛЛ в химиотерапии ОМЛ индукционная терапия проводится миелотоксическими препаратами. Внедрение стандартизованного протокола AML-BFM-87 в практику здравоохранения

и последующее развитие этой программы в виде оригинального российско-белорусского протокола ОМЛ-MM-2000 в многоцентровом исследовании позволили получить клиничко-гематологическую ремиссию у 88,98% больных, 5-летняя OS составила 42%, EFS — 38%, RFS (*recurrence free survival*) — 52%. Проведение родственной аллогенной ТГСК в течение 1-й ремиссии пациентам с ОМЛ с неблагоприятным прогнозом позволило значительно улучшить результаты их терапии: 4-летний показатель RFS составил 100%.

Демонстрацией выдающегося успеха молекулярной медицины и следующих за ним новых технологий лечения является терапия одной из самых тяжелых форм ОМЛ — острого промиелоцитарного лейкоза. Для этого заболевания патогномонична транслокация t(15,17)(q22; q12), протекающая с образованием химерного гена PML-RAR. Как оказалось, транс-ретиноевая кислота способна подавлять транскрипцию этого гена. Благодаря этому происходит обрыв пути лейкемогенеза и инициируется дозревание опухолевых промиелоцитов до гранулоцитов *in vitro* и *in vivo*. При этом транс-ретиноевая кислота нивелирует клинические проявления, не вызывает аплазии кроветворения, что снижает вероятность кровотечения и сепсиса у больных острым промиелоцитарным лейкозом.

Мы впервые с успехом использовали транс-ретиноевую кислоту в России, получив опытные образцы препарата от разработчиков в Китае в 1995 г. Затем последовали развитие технологии лечения транс-ретиноевой кислотой в комбинации с химиопрепаратами и разработка специальных методов сопроводительной терапии в многоцентровом, а с 2000 г. — и в многоцентровом кооперированном исследовании. Результатом стало достижение 85%-й выживаемости больных. При контроле молекулярной ремиссии у детей, у которых терапия с применением транс-ретиноевой кислоты оказалась неэффективной, были выявлены минорные молекулярные транскрипты, что потребовало поиска новых лекарств с точечным действием. В настоящее время в клинике используется триоксид мышьяка, который оказывает дозозависимое воздействие на ген PML-RAR (включая и минорные транскрипты) — от дифференцирующего действия при малых дозах до полного подавления (уничтожения) транскрипта при использовании больших доз.

Эти достижения в полной мере подтверждают соответствующее положение научно-врачебной декларации XXI века — рак из числа фатальных болезней в первой четверти этого столетия будет переведен в число хронических, управляемых заболеваний. Примером служит победа над одним из опухолевых заболеваний — хроническим миелолейкозом, при котором выявлена специфическая хромосомная транслокация t(9,22). После определения молекулярного дефекта, связанного с образованием химерного гена *Bcr-Abl* и его онкопротеина, являющегося специфической тирозинкиназой, нарушающей клеточную дифференцировку и апоптоз, поиски ингибиторов тирозин- и серинтреонинкиназ привели к созданию уникального препарата — иматиниба мезилата, который в культуре *Bcr-Abl*+клеток вызывает избирательную гибель клеток опухоли при 10–20% повреждении клеток нормального гемопоэза. Вслед за этим открытием в 1998 г. начались широкомасштабные

клинические исследования за рубежом, а с 2000 г. — и в России у детей, подростков и взрослых. На фоне лечения иматиниба мезилатом полная гематологическая ремиссия сохраняется в течение года от начала терапии у 90% пациентов с хроническим миелолейкозом. По данным молекулярного мониторинга, проводимого в течение 3 лет у лиц, продолжающих постоянно получать препарат, частота молекулярной ремиссии составила 68%. При оценке эффективности терапии иматиниба мезилатом через 1 год при хроническом миелолейкозе в фазе акселерации от начала лечения гематологический ответ сохранялся у 96% пациентов: полный — у 56%, частичный — у 32%, регрессия в хроническую фазу заболевания — у 8%. В последние годы получены данные о механизмах резистентности к иматиниба мезилату в связи с мутациями в нуклеотид-связывающей петле домена Abl-киназы. Клиническая резистентность, обусловленная рядом мутаций, может быть преодолена путем эскалации доз иматиниба мезилата или использования следующего поколения ингибиторов тирозинкиназы (например, семейства пиридол-пиримидинов или тирфостинов).

Эволюция знаний в области биологии неходжкинских лимфом у детей, выделение 3 линейных типов опухоли (B-, T- и группы крупноклеточных лимфом различного гистогенеза), внедрение дифференцированных протоколов лечения больных (протокол NHL-BFM-90), исключающих хирургическую резекцию опухоли и лучевую терапию, в практику работы специализированных стационаров России позволили в течение 15 лет в 10 раз улучшить результаты лечения этого контингента больных.

При условном разделении такого периода на 3 этапа отчетливо видно, что на 1-м этапе только на основе жесткого выполнения стандартов лечения и обеспечения больных необходимыми препаратами удалось достичь 50%-й выживаемости больных неходжкинской лимфомой. На 2-м этапе проводилось специальное обучение врачей принципам сопроводительной терапии (профилактика и лечение инфекций у иммунокомпрометированного хозяина, заместительная компонентная терапия, контроль неотложных состояний и т.д.), что повысило выживаемость больных до 70% и сократило время индукции ремиссии. Наибольший интерес вызвал следующий, 3-й этап, базирующийся на фундаментальных исследованиях, обосновывающих использование модификаторов клеточной резистентности, колониестимулирующих и ростовых факторов, интерлейкинов, точечной (таргетной) терапии. Получение антител к кластерам дифференцировки, например, В клеточных опухолей, привело к созданию нового поколения лечебных протоколов. Первый протокол лечения В клеточных неходжкинских лимфом у детей с использованием химиопрепаратов в комбинации с ритуксимабом в 2004 г. стал предметом клинических испытаний у 35 детей в возрасте от 2 до 17 лет. Наблюдение в течение 4 лет за этой группой пациентов показало, что только в 1 случае была констатирована первичная резистентность опухоли, и у 1 ребенка развился рецидив; 82% больных находятся в ремиссии при медиане длительности наблюдения 2 года.

Успехи в лечении детей с лимфомой Ходжкина в РФ связаны с внедрением в практику протокола лечения, разработанного и апробированного на 10 тыс. пациентов

немецкими и австрийскими специалистами (протокол HD-DAL-90). Протокол показал высокую эффективность при низкой токсичности, позволяющей вести пациентов амбулаторно. При использовании этого протокола лечения детей с лимфомой Ходжкина в России 10-летняя EFS детей в возрасте до 14 лет составила 81%, OS — 94%. Использование этого протокола у пациентов в возрасте 15–21 лет и взрослых до 29 лет продемонстрировало аналогичные результаты: 5-летняя OS — составила 90%, EFS — 79%, RFS — 90%.

Ключевыми проблемами в лечении больных лимфомой Ходжкина, к сожалению, остаются технологическое отставание отечественных баз лучевой терапии (кобальтовые пушки вместо линейных ускорителей) и устранение рецидивов. Большинство рецидивов развиваются в первые 2 года (через 6–18 мес) после окончания дифференцированной терапии в зависимости от стадии заболевания. При поздних рецидивах с успехом используется ударная терапия ифосфамидом, этопозидом и преднизолоном или другие комбинации 3–4 химиопрепаратов (ABVD, CEP и др.). При резистентности опухоли и/или развитии ранних рецидивов без проведения ТГСК шансы на излечение равны нулю. Использование программ высокодозовой терапии с ауто-ТГСК костного мозга или периферической крови позволяет достичь 5-летней RFS у 60% больных, причем у детей и подростков этот показатель достигает 80%. В ходе проведенной работы получены важные практические результаты, связанные с выбором схемы мобилизации ГСК — схемы Dеха-BEAM (дексаметазон, кармустин, этопозид, цитозар, мелфалан) и DHAP (дексаметазон, цитозар, цисплатин) с колониестимулирующим фактором, которые наряду с мобилизационным обеспечивают и циторедуктивный эффект, а также разработкой системы сопроводительных мероприятий, позволяющих снизить раннюю посттрансплантационную летальность < 5%.

Особого внимания заслуживают опухоли центральной нервной системы. Первичные опухоли ЦНС составляют 16–20% злокачественных новообразований у детей, уступая по частоте только лейкозам, причем 95% из них представлены опухолями головного мозга. Заболеваемость опухолями головного мозга составляет 2,4 случая на 100 тыс. детского населения, т.е. ежегодно в России диагностируется около 800 новых случаев заболевания. До 1992 г. в нашей стране лечение опухолей головного мозга ограничивалось хирургическим вмешательством, реже — комбинацией оперативного удаления опухоли и лучевой терапии. Отдаленные результаты этих методов лечения оказались неутешительными, что заставило начать внедрение комбинированной терапии опухолей головного мозга у детей России с включением в схему лечения полихимиотерапии и ТГСК. Первые результаты, полученные у пациентов с наиболее чувствительной к химиотерапии медуллобластомой, показали, что в 43% случаев комбинированная терапия привела к выраженному положительному лечебному эффекту. При первичной медуллобластоме после частичного удаления опухоли, лучевой терапии, применение химиотерапии повышало выживаемость > 3 лет у 83% больных, среди инкурабельных больных без операции, с рецидивами и метастазами — у 27%. При анапластических астроцитомах безрецидивная выживаемость > 3 лет отмечена только у 9% больных.

К 2002 г. в России подведены итоги работы кооперативной группы специалистов, объединяющих 17 клиник в 10 субъектах РФ, в области лечения опухолей головного мозга. Эта группа использовала новые модификации протоколов, разработанные SIOР и в нашем центре РО/02 и РО/04 (с увеличенными дозами циклофосфана и карбоплатины) для медуллобластом с 5-летней выживаемостью, соответственно, 60 и 51%. Предварительные результаты реализации методов высокодозной ПХТ при опухоли головного мозга значительно улучшили выживаемость больных. Дальнейший прогресс в лечении опухоли головного мозга связан с выделением молекулярных дефектов, обуславливающих развитие отдельных опухолей, и эффективностью поиска точечных (таргетных) препаратов. Сотрудничество с учеными Кубы и Германии в выборе новых биологически обоснованных методов лечения привело к разработке и клиническим испытаниям первого препарата антител к эпителиальному фактору роста для лечения глиом мозга (для которых нет сегодня другого метода лечения, чем паллиативная операция). Механизм действия моноклонального антитела нимотузумаба связан с блокированием рецептора эпителиального фактора роста и индукцией антителозависимой цитотоксичности клеток глиомы.

Мы начали исследования в области лечения герментативно-клеточных опухолей, солидных опухолей у детей первого года жизни и опухолей костей с органосохраняющими операциями, а также опухолей малого таза у девочек. Основной проблемой этих исследований является перевод их из формата моноцентровых в многоцентровые, что сопровождается наиболее эффективной подготовкой специалистов и самым быстрым и эффективным путем внедрения высокотехнологичных методов лечения детей с онкологическими заболеваниями в практику здравоохранения.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

Внедрение методов ТГСК у детей России — отдельная, изобилующая драматическими страницами история, главными вехами которой были строительство 12 климатизированных блоков в РДКБ в 1992–1994 гг., подготовка кадров врачей, медсестер, специалистов в области процессинга ГСК; первые 12 трансплантаций, проведенных в 1994 г., каждая из которых не повторяла другую; медленное увеличение числа трансплантаций до 80 в год и, наконец, следовавшие за этим развитие технологии и возможности получения финансирования технологий из любых источников.

На 01.05.10 в клинике проведено более 500 ТГСК детям с наследственными заболеваниями, иммунодефицитами, костномозговой недостаточностью, гемобластозами, солидными опухолями. Используются все виды источников ГСК (костный мозг, периферическая и пуповинная кровь), все разновидности ТГСК (аллогенная родственная и все виды неродственной), аутологичная с различными приемами обработки трансплантационного материала. Проведены сравнительная оценка режимов кондиционирования при ТГСК у детей, оценка сроков приживления трансплантата, частоты токсических и инфекционных осложнений, частоты развития

острой и хронической реакций «трансплантат против хозяина». Главными итогами этой многолетней работы стали достижение 68%-й выживаемости больных при неродственных аллогенных трансплантациях и распространение технологии ТГСК в другие учреждения Москвы, Санкт-Петербурга, Екатеринбургa, Нижнего Новгорода и других городов, а также организация в Москве Банка пуповинных стволовых клеток для неродственных трансплантаций. Это позволило создать предпосылки для ежегодного увеличения числа выполняемых ТГСК и реальной помощи детям, не имеющим другой альтернативы.

Организация онкогематологической помощи

Успехи в лечении гематологических и онкологических заболеваний у детей напрямую связаны с выделением в педиатрии врачебной специальности — детский гематолог/онколог и организации специальной постдипломной подготовки врачей, рекомендованной Американской академией педиатрии и Европейской ассоциацией педиатров в течение 36 мес после окончания резидентуры (ординатуры) по педиатрии. Врачи — специалисты в области взрослой онкологии исключаются из повышения квалификации по специальности «детская гематология/онкология».

В РФ в течение 1991–1996 гг. (де-факто) было организовано лечение детей с гематологическими и онкологическими заболеваниями в специализированных отделениях республиканских, краевых и областных детских больниц (64 субъекта РФ). В 12 субъектах РФ пациенты с гематологическими заболеваниями получают лечение в детских больницах, а с онкологическими — в онкологических диспансерах, причем дети с гемабластозами и опухолями головного мозга получают лечение исключительно в детских больницах.

Подготовка специалистов в соответствии с рекомендациями Американской академии педиатрии и Европейской ассоциации педиатров проводится на кафедре гематологии и онкологии Российского государственного медицинского университета, причем специализация по онкологии включает подготовку детских специалистов и по так называемой «взрослой» гематологической патологии и детской онкологии. Таким образом, врач, работающий с детьми, страдающими онкологическими и гематологическими заболеваниями в РФ, должен иметь сертификат по 3 врачебным специальностям, что затрудняет подготовку и переподготовку для ресертификации.

В 2010 г. в России создано профессиональное сообщество врачей «Национальное общество детских гематологов и онкологов» для проведения научно обоснованных кооперированных многоцентровых исследований эффективности лечения, организации персонифицированного регистра больных, проспективной базы данных, подкрепленных обоснованной статистикой, и контроля соответствующего объема финансирования из бюджета и внебюджетных фондов (страхование, пожертвования и т.д.). Это будет способствовать революционным изменениям практического здравоохранения во благо пациентов, страдающих гематологическими и онкологическими заболеваниями.