



БЮЛЛЕТЕНЬ

ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова

Санкт-Петербург
2012

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ И МОНИТОРИНГУ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХМЛ

*Е.Г. Ломаиа¹, Е.И. Сбитякова¹, Н.С. Лазорко¹, Е.Г. Романова¹,
И.В. Холопова¹, Т.С. Никулина¹, А.Ю. Зарицкий^{1,2}*

¹ Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

² ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Ломаиа Ельза Галактионовна — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник НИЛ онкогематологии ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ; *Сбитякова Евгения Игоревна* — врач-гематолог ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ; *Лазорко Наталья Сергеевна* — врач-гематолог ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ; *Романова Екатерина Геннадьевна* — младший научный сотрудник НИЛ онкогематологии ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ; *Холопова Ирина Валерьевна* — врач клиничко-лабораторной диагностики клиничко-диагностической лаборатории ЦКДЛ, ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ; *Никулина Татьяна Серафимовна* — врач клиничко-лабораторной диагностики клиничко-диагностической лаборатории ЦКДЛ, ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ; *Зарицкий Андрей Юрьевич* — доктор медицинских наук, профессор директор института гематологии ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, профессор кафедры факультской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Контактная информация: ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, ул. Аккуратова, д.2, Санкт-Петербург, Россия, 197341. E-mail: lomelza@gmail.com (Ломаиа Ельза Галактионовна).

Резюме

Диагностика многих гемобластозов, в том числе хронического миелолейкоза, возможна только при использовании высокотехнологичных лабораторных методов. Кроме того, одним из важных условий успеха в терапии ХМЛ является адекватная оценка резидуальной болезни. Именно молекулярно-генетические методы позволяют оценить эффективность как современных лекарственных средств, так и аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при ХМЛ.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, ингибиторы тирозинкиназ, цитогенетика, ПЦР.

DIAGNOSTICS, MONITORING AND EFFICIENCY OF CML THERAPY. RECOMMENDATIONS

*E.G. Lomaia¹, E.I. Sbityakova¹, N.S. Lazorko¹, E.G. Romanova¹,
I.V. Kholopova¹, T.S. Nikulina¹, A.Yu. Zaritsky^{1,2}*

¹ Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, Saint-Petersburg, Russia

² Saint-Petersburg Pavlov State Medical University, Saint-Petersburg, Russia

Corresponding author: Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, 2 Akkuratova str., Saint-Petersburg, Russia, 197341. E-mail: lomelza@gmail.com (Elza G. Lomaia — PhD, hematologist of Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre).

Abstract

Just high-tech laboratory techniques allow us to make an accurate diagnosis of the most hematological malignancies, including chronic myeloid leukemia (CML). In addition, one of the important conditions for success in the treatment of CML is an adequate assessment of residual disease. Molecular genetic techniques allow us to estimate the effectiveness of both modern drugs and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in CML.

Key words: Chronic myeloid leukemia, inhibitors of tyrosinkinase, Cytogenetic, PCR.

Статья поступила в редакцию 01.10.12, принята к печати 20.10.12.

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) — первый среди описанных лейкозов, а Филадельфийская хромосома (Ph-хромосома), являющаяся специфической мутацией при ХМЛ, — первая генетическая аномалия, выявленная у онко-гематологических больных.

Патогенетическая значимость гена BCR-ABL

Впервые укорочение 22 хромосомы у всех пациентов с клиническим диагнозом ХМЛ в 1960 г. было обнаружено учеными Филадельфийского университета Nowell P.C. и Hungerford D.A. [1]. Дальнейшие исследования показали, что образование Ph-хромосомы является следствием реципрокной транслокации t(9;22)(q34;11) [2], в ходе которой происходит обмен материала ДНК между 9 и 22 хромосомами. Разрыв хромосом происходит на уровне генов ABL (на 9-ой хромосоме) и BCR (на 22-ой хромосоме). В результате данной обменной транслокации на 9-ой и 22-ой хромосомах образуются химерные гены, соответственно, ABL-BCR и BCR-ABL. Тогда как в развитии хронического миелолейкоза роль гена ABL-BCR не доказана, патогенетическое значение гена BCR-ABL не вызывает сомнений [3]. Продукт данного гена белок BCR-ABL обладает высокой тирозин-киназной активностью. Последняя воздействуя на субстраты, приводит к активации множество сигнальных путей, как усиливающих пролиферацию клетки (SOS → RAS/GAP → RAF → MEK → MAP-киназа), так и подавляющих апоптоз (GAB2 → PI3K → PIP3 → PKB → AKT) [4]. В результате лейкоэмическая клетка приобретает пролиферативное преимущество, быстро накапливается и на момент выявления заболевания составляет около 90 % среди гемопоэтических клеток.

Одним из характерных признаков ХМЛ является также выход незрелых клеток в периферическую кровь. В исследованиях показано, что в гемопоэтических клетках, экспрессирующих ген BCR-ABL, снижена способность к связыванию с фибронектином. По-видимому, нарушение адгезии клеток со стромой является следствием взаимодействия F-актина с актин-связывающим участком BCR-ABL тирозин-киназы, что, вероятно, приводит к снижению экспрессии интегринов и CXCR4, ослаблению взаимодействия клетки с белками цитоскелета, снижению контакта со стромой в костном мозге и к выходу незрелых клеток в периферическую кровь. Кроме того, в клетках ХМЛ выявляется нарушение взаимодействия между CXCR4 рецептором и его лигандом SDF-1 [5]. После выхода в кровь лейкоэмические клетки способны формировать очаги экстрамедуллярного гемопоэза практически во всех тканях

и органах, особенно часто в селезенке, лимфоузлах, костях, коже, центральной нервной системе.

Известно также, что со временем наряду с транслокацией (9;22) в клетка ХМЛ появляются и другие хромосомные aberrации. Клональная эволюция является следствием геномной нестабильности. Показано, что в клетках ХМЛ снижается способность восстанавливать двойные разрывы ДНК (снижение BRCA1) и повышается способность восстанавливать гомологичные повреждения [6]. Также было показано, что BCR-ABL способна активировать белок RAD51, который участвует в гомологичной рекомбинантной репарации, приводящей к устойчивости клетки к апоптозу при формировании двойных разрывов ДНК [7]. Кроме того, BCR-ABL способствует повышению экспрессии ROS (reactive oxygen species). Последние повреждают ДНК путем нарушения процессов трансверсии (GC → TA) и транзиции (GC → AT) [8]. Как повреждение ДНК, так и снижение способности восстанавливать нормальную его последовательность, могут привести к возникновению мутаций генов, нарушению их экспрессии или более грубым хромосомным aberrациям.

Дополнительные хромосомные aberrации со временем появляются у 20–40 % больных — трисомия 8 хромосомы (30–40 %), дополнительная 22-ая хромосома (20–30 %), изохромосома 17 (15–20 %) и другие. Вовлечение генов, расположенных на этих хромосомах, приводит к дальнейшей дерегуляции процессов пролиферации, апоптоза и дифференцировки в лейкоэмических клетках [9]. Так, например, трисомии 8 хромосомы часто сопутствует гиперэкспрессия гена c-myc, расположенного в локусе 8q24, также вовлеченного в развитие и прогрессию ХМЛ. Формирование изохромосомы 17q сопровождается потерей длинного плеча 17 хромосомы, что, возможно, приводит к инактивации расположенного на 17 хромосоме антионкогена p53 и ведет к прогрессии заболевания. Дополнительная Ph хромосома, приводящая к гиперэкспрессии гена BCR-ABL, также играет важную роль в прогрессии ХМЛ [10].

Т.о., именно с появлением в клетке тирозинкиназы BCR-ABL связана ее опухолевая трансформация, приводящая к усиленной пролиферации, подавлению апоптоза, выходу незрелых предшественников в кровь, их экстрамедуллярная диссеминация, а появление новых хромосомных aberrаций, мутации генов приводит к неминуемой прогрессии болезни из хронической фазы (ХФ) в фазы акселерации (ФА) и бластного криза (БК).

У подавляющего большинства пациентов (около 80–85 %) ХМЛ диагностируется в ХФ. В остальных случаях ХМЛ выявляют на этапе ФА (около 15 %)

или даже в БК (около 5 %). Прогноз пациентов в продвинутых фазах существенно хуже. Как и при любых онкопатологиях, крайне важна своевременная диагностика ХМЛ и быстрое начало эффективной терапии.

Диагностика ХМЛ

Довольно часто изменения в клиническом анализе крови (КАК) или увеличение размеров селезенки выявляются случайно. Большинство пациентов чувствуют себя хорошо и не предъявляют никаких жалоб. Однако часть пациентов обращаются к врачу с неспецифическими симптомами — недомогание, слабость, быстрая усталость, потеря веса, редко лихорадка — связанными с опухолевой интоксикацией. Кроме того, в дебюте ХМЛ возможно наличие анемии, тромбоцитопении с проявлениями анемического и геморрагического симптомов. Выраженная спленомегалия и/или значительно реже гепатомегалия могут вызвать дискомфорт в брюшной полости и являться причиной обращения к врачу. Также возможны оссалгии из-за накопления огромного количества лейкемических клеток в костном мозге (КМ).

В КАК выявляется лейкоцитоз любого уровня с нейтрофилезом и молодыми предшественниками вплоть до бластов. Хотя эти изменения и являются наиболее характерными для ХМЛ, описаны случаи дебюта заболевания в виде тромбоцитоза. Возможно наличие анемии, тромбоцитоза или тромбоцитопении. При выявлении анемии всегда необходимо исключение других причин, особенно в ХФ. Морфологически клетки ХМЛ при микроскопии отличить от нормальных клеток не представляется возможным. Жалобы пациента, спленомегалия и/или вышеописанные изменения в КАК не являются специфическими для ХМЛ, хотя позволяют заподозрить заболевание. Поэтому только выявление Ph-хромосомы (цитогенетическое исследование) и/или гена BCR-ABL с помощью молекулярно-генетических методов исследования, таких как полимеразно-цепная реакция (ПЦР) и флуоресцентная гибридизация *in situ* (Fluorescent hybridization *in situ* — FISH), является патогномичным для ХМЛ. Поэтому единственным критерием для установки диагноза ХМЛ является выявление Ph-хромосомы и/или гена BCR-ABL.

При стандартном цитогенетическом исследовании Ph-хромосома выявляется почти у 95 % больных ХМЛ. При этом химерный ген BCR-ABL обнаруживается у всех больных ХМЛ с помощью ПЦР и/или FISH. Клиническая картина и течение болезни практически не отличаются у больных с Ph-положительным/BCR-ABL-положительным и Ph-негативным (с «замаскированной» Филадельфийской хромосомой),

но с BCR-ABL-положительным ХМЛ. «Маскировка» Ph-хромосомы может возникнуть при некоторых видах вариантных транслокаций, при которых в патологический процесс могут быть вовлечены наряду с 9 хромосомой, другие хромосомы. При этом разрыв на 22 хромосоме, как и при стандартной транслокации t(9;22)(q34;q11), происходит на уровне участка q11. В таких случаях если при цитогенетическом исследовании не удастся обнаружить Ph-хромосому, то ген BCR-ABL методом FISH или ПЦР выявляется в 100 % случаев ХМЛ.

При транслокации t(9;22)(q34;q11) точка разрыва на 9-ой хромосоме жестко фиксирована и возникает на 3' участке гена ABL (экзон a2). У подавляющего большинства больных ХМЛ разрыв на 22-ой хромосоме происходит в большой M-bcr зоне в области экзонов e13 и e14, известных также как b2 и b3. Оба транскрипта (b2a2 и b3a2) слитного гена BCR-ABL кодируют образование белка размером 210 kDa — p210 BCR-ABL. Однако другие транскрипты гена BCR-AB p190, p230 и др. у больных ХМЛ также могут выявляться. Хотя транскрипты e1a2, e19a2, e1a3 и др. встречаются редко, однако они могут вызвать определенные трудности при диагностике и мониторинге эффективности терапии ХМЛ. Так, при определении количественного ПЦР используют праймеры к стандартному транскрипту p210 BCR-ABL (b2a2 и b3a2). Поэтому при ПЦР анализе в случае наличия у пациента нестандартных транскриптов гена BCR-ABL, можно получить ложно-негативный ответ. В связи с этим рекомендуется выполнение качественного анализа ПЦР для определения транскрипта гена BCR-ABL (при невозможности можно выполнить количественный ПЦР) на этапе диагностики или позже, пока все еще выявляется Ph-положительный клон по цитогенетике. Отсутствие транскрипта BCR-ABL по данным ПЦР при наличии хотя бы 1 % Ph-положительного клона по стандартной цитогенетике или по данным FISH может свидетельствовать о присутствии нестандартного транскрипта гена BCR-ABL.

Фазы и группы риска ХМЛ

Четкое установление фаз ХМЛ важно как для определения прогноза заболевания, так и для подбора адекватной терапии (дозы ингибиторов тирозин-киназ, своевременное включение в схему лечения аллотрансплантации гемопоэтических стволовых клеток). Существует несколько критериев определения фазы заболевания. До недавнего времени наиболее часто использовали критерии Онкологического Центра М.Д. Anderson (США), разработанные Kantarjian H.M. с соавторами в

1988 г. [11]. Недавно распространение получили критерии Европейской сети по изучению лейкозов (European Leukemia Net — ELN), предложенные Вассарани М. с соавторами [12]. Характеристика фаз ХМЛ представлена в табл. 1.

Фазу заболевания следует устанавливать не только на момент диагноза, но и при ухудшении клинико-гематологических показателей и/или появлении органомегалии. Любые патологические образования, подозрительные на экстрамедуллярные очаги гемопоэза (за исключением поражения селезенки и печени), должны быть морфологически исследованы.

В отличие от фаз болезни, группы риска определяют только однократно до начала какой-либо терапии. В настоящее время используют группы риска Sokal, EURO и EUTOS [13–15]. Несмотря на то, что критерии факторов риска по Sokal и EURO были определены у пациентов, получавших терапию цитостатиками и препаратами ИФН- α , их значимость показана и у больных, получающих ингибиторы тирозин-киназ (ИТК). Группы риска можно рассчитать на сайте ELN на страницах http://www.leukemia-net.org/content/leukemias/cml/cml_score и http://www.leukemia-net.org/content/leukemias/cml/eutos_score. В табл. 2 представлены критерии групп риска ХМЛ.

Таблица 1

МЕЖДУНАРОДНЫЕ КРИТЕРИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФАЗ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА

Признак	Критерии фазы акселерации	
	М.Д.Андерсон	критерии ELN
Бласты крови или костного мозга	15–29 %	15–29 %
Бласты + промиелоциты крови или костного мозга	≥ 30 %	> 30 % (при наличии бластных клеток < 30 %)
Базофилы крови	≥ 20 %	> 20 %
Тромбоцитопения, не связанная с терапией	$< 100 \times 10^9/\text{л}$	$< 100 \times 10^9/\text{л}$
Клональная эволюция	Да	–

Примечание: ХФ ХМЛ — устанавливается при отсутствии критериев ФА и БК.

Бластный криз — диагностируют при наличии бластных клеток в крови и/или костном мозге ≥ 30 % или при появлении экстрамедуллярных очагов гемопоэза в разных органах и тканях (кроме селезенки и печени).

NB! Спленомегалия и гепатомегалия любых размеров не являются признаками ФА или БК ХМЛ.

Таблица 2

КРИТЕРИИ ГРУПП РИСКА ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА

Признак	Критерии Sokal	Критерии EURO	Критерии EUTOS
Возраст, годы	0.0116(43.4)	0.6666(≥ 50)	–
Селезенка, см (из-под края реберной дуги)	0.0345(7.51)	0.042 * размер селезенки	4 * размер селезенки
Тромбоциты $\times 10^9/\text{л}$	0.188((тромбоциты) $^2/700-0.563$)	1.0956, если ≥ 1500	–
Бласты, % (костного мозга)	0.0887(2.1)	0.0584*бласты	–
Эозинофилы, % (крови)	–	0.0413*эозинофилы	–
Базофилы, % (крови)	–	0.2039, если базофилы ≥ 3 %	7 * базофилы (%)
Гемоглобин г/л	–	–	–
Индекс относительного риска	Экспонента суммы	Сумма*1000	–
Группы риска:			
Низкая	< 0.8	≤ 780	< 87
Средняя	0.8–1.2	781–1479	–
Высокая	> 1.2	≥ 1480	≥ 87

Примечание: Возможность автоматического подсчета групп риска.

http://www.leukemia-net.org/content/leukemias/cml/cml_score

http://www.leukemia-net.org/content/leukemias/cml/eutos_score

Следует учитывать, что если группы риска SOKAL, EURO помогают прогнозировать общую выживаемость, EUTOS может предсказать вероятность достижения полного цитогенетического ответа к 18 мес терапии иматинибом. Пока валидность EUTOS для определения эффективности терапии новыми ИТК (дазатиниб, нилотиниб) не доказана.

К **обязательным методам** обследования пациентов ХМЛ для установления диагноза, а также для определения фазы и группы риска относятся:

1) Морфологическое исследование периферической крови с подсчетом лейкоцитарной формулы и тромбоцитов;

2) Морфологическое исследование пунктата костного мозга;

3) Цитогенетическое исследование костного мозга. При неинформативности цитогенетического анализа (невозможность получения качественных метафазных пластинок, исследовано менее 20 клеток), а также при выявлении нормального кариотипа или отсутствии $t(9;22)(q34;11)$, необходимо использовать молекулярно-генетические методики (FISH или ПЦР). Как правило, на этапе диагностики данная транслокация выявляется практически во всех исследуемых клетках. Хотя целесообразно исследовать не менее 20 клеток, однако обнаружение Ph-хромосомы в 2-х и более метафазах свидетельствует о клональном характере изменений и подтверждает диагноз ХМЛ. Поэтому если исследовано менее 20 метафаз, но при этом в 2-х и более клетках выявлена Ph-хромосома, диагноз ХМЛ считается доказанным и выполнение молекулярно-генетических исследований не обязательно. Данные исследования обязательны при отсутствии Ph-хромосомы и невозможности исследования 20 метафаз. В остальных случаях на этапе диагностики выполнение количественного ПЦР анализа или FISH не требуется.

4) Оценка экстрамедуллярных очагов: Показано пальпаторное определение размеров селезенки, печени и периферических лимфатических узлов. Выполнение УЗИ/КТ брюшной полости или грудной клетки требуется только при подозрении экстрамедуллярных очагов, кроме поражения селезенки и печени. Спленомегалия и/или гепатомегалия любых размеров не являются критериями ФА или БК, тогда как специфическое поражение центральной нервной системы, любых других органов и тканей следует рассматривать как признак трансформации болезни в БК. Природа экстрамедуллярных поражений (кроме селезенки и печени) должна быть доказана морфологически. Диагностическая люмбальная пункция и МРТ головного мозга показаны при наличии неврологической симптоматики, а также у пациентов в бластном кризе, особенно при лимфоидном варианте БК.

5) При бластном кризе показано цитохимическое исследование или иммунофенотипирование бластных клеток.

6) Мутационный анализ: В дебюте болезни только в ФА и БК, а в ХФ при резистентности к ИТК.

Мониторинг эффективности терапии ХМЛ

В настоящее время первой линией терапии ХМЛ являются ИТК (иматиниб, нилотиниб, дазатиниб). Многочисленные исследования доказали, что на фоне терапии ИТК крайне важен регулярный мониторинг для оценки как степени, так и скорости редукции лейкоемического клона клеток. Рисунок. Поэтапное достижение полного гематологического ответа (ПГО), ПЦГО, большого молекулярного ответа (БМО) и полного молекулярного ответа (ПМО).

Критерии ПГО, цитогенетического и молекулярного ответов представлены в таблице № 3–5.

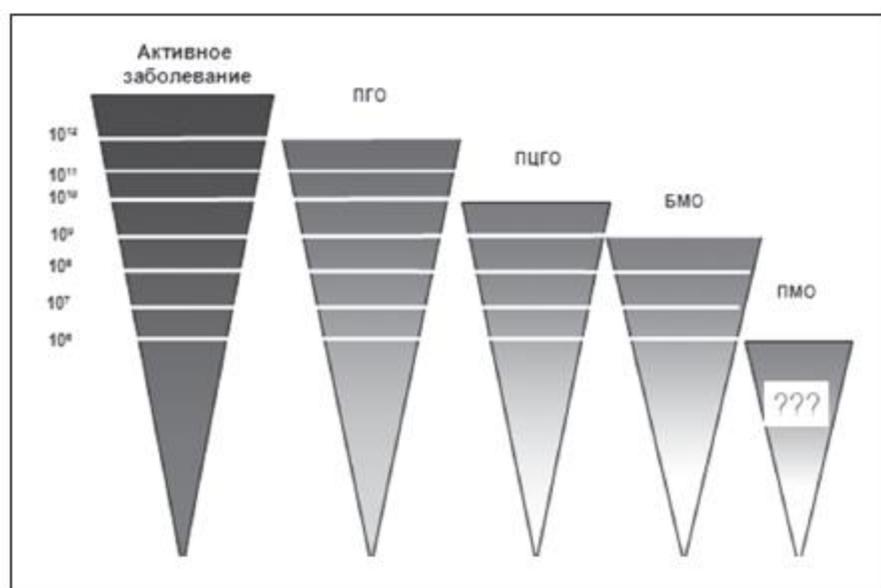


Рисунок. Ответ на терапию и примерное количество резидуальных лейкоемических клеток при ХМЛ

Таблица 3

КРИТЕРИИ ПОЛНОГО ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ОТВЕТА

Показатель	Ответ
Лейкоциты	$< 10 \times 10^9/\text{л}$
Тромбоциты	$< 450 \times 10^9/\text{л}$
Спленомегалия	Отсутствует пальпаторно
Бласты + промиелоциты+миелоциты+метамиелоциты	0 %
Базофилы ПК	$< 5 \%$

Таблица 4

КРИТЕРИИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ОТВЕТА

Глубина ответа	Количество Ph+метафаз
Полный (ПЦГО) *	0 %
Частичный (ЧЦГО)*	1–35 %
Малый (МЦГО)	36–65 %
Минимальный (минЦГО)	66–95 %
Нет ответа	96–100 %

Примечание: * — Большой цитогенетический ответ (БЦГО) = полный + частичный ЦГО. Цитогенетический ответ оценивается только при исследовании 20 и более метафазных пластинок!

Таблица 5

КРИТЕРИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ОТВЕТА

Глубина ответа	Соотношение bcr-abl/abl	
	% (по международной шкале)	log (Снижение от базального уровня по IRIS)
Большой молекулярный ответ (БМО)	$\leq 0,1 \%$	$\geq 3 \log$
Молекулярный ответ ⁴ (МО ⁴)	$\leq 0,01 \%$ или	$\geq 4 \log$ или
	Неопределяемый уровень транскрипта bcr-abl при исследовании $\geq 10\,000$ копий контрольного гена abl	
Молекулярный ответ ^{4,5} (МО ^{4,5})	$\leq 0,0032 \%$ или	$\geq 4,5 \log$ или
	Неопределяемый уровень транскрипта bcr-abl при исследовании $\geq 32\,000$ копий контрольного гена abl	
Молекулярный ответ ⁵ (МО ⁵)	$\leq 0,0001 \%$ или	$\geq 5 \log$ или
	Неопределяемый уровень транскрипта bcr-abl при исследовании $\geq 32\,000$ копий контрольного гена abl	
Полный молекулярный ответ/неопределяемый уровень транскрипта	Транскрипт bcr-abl не определяется	

Достижение ПГО, т.е. нормализация показателей КАК и отсутствие экстрамедуллярных очагов гемопоэза, свидетельствует примерно о десятикратном снижении уровня лейкемических клеток. При наличии ПГО дальнейшая оценка ответа на терапию осуществляется с помощью цитогенетики и/или ПЦР. Выполнение FISH нецелесообразно при информативном ЦГ анализе. Несмотря на возможность исследования 200 и более клеток при FISH, чувствительность данного метода не сильно превосходит ЦГ анализ. Как правило, FISH используется при неинформативности ЦГ анализа (невозможно исследовать ≥ 20 метафаз или метафазные пластинки вовсе не удалось получить). При интерпретации результата FISH всегда следует обращать внимание на чувствительность исследования, которая может быть разной в зависимости от используемого зонда.

Количественный анализ ПЦР для оценки степени редукции опухолевой массы можно использовать на любом этапе терапии ИТК. Однако согласно наиболее широко используемой рекомендации Вассагани М. с соавторами по терапии ИТК [16], количественное определение ПЦР обязательно только после достижения ПЦГО. Экспертное со-

общество давно обсуждается целесообразность использования ЦГ анализа для оценки эффекта терапии ХМЛ. Существуют доводы как «за», так и «против». В пользу ЦГ — объективность метода, возможность оценки всего кариотипа и выявление хромосомных aberrаций, как в Ph-позитивном, так и в Ph-негативном клоне. Недостатками данного метода исследования являются необходимость пункции костного мозга, длительность его выполнения, отсутствие четких доказательств прогностической значимости, как клональной эволюции, так и появления хромосомных aberrаций в Ph-негативных клетках. В 2012 г. появились новые рекомендации Вассагани с соавторами [17], где наряду с ЦГ анализом для оценки эффективности ИТК можно использовать ПЦР анализ. Так, оптимальным следует считать результаты терапии при уровне транскрипта на 3 мес и 6 мес $< 10\%$, а на 12 мес $\leq 1\%$.

Многочисленные исследования доказывают прогностическую значимость достижения ПЦГО и БМО в определенные сроки терапии ИТК, как в первой, так и во второй линии. Рекомендации Вассагани с соавторами 2009 г. по терапии ХМЛ с указанием оценки ответа на ИТК в разные сроки лечения представлены в таблицах 6–7.

Таблица 6

КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИМАТИНИБА В ПЕРВОЙ ЛИНИИ ТЕРАПИИ ХМЛ

Месяцы терапии	Оптимальный	Субоптимальный	Неэффективность	Факторы риска
На момент диагноза	–	–	–	– Высокая гр. риска ХМЛ – КЭ в Ph+ клетках
3 мес	ПГО и Ph+ $\leq 65\%$	ПГО есть, но Ph+ $> 95\%$	Нет ПГО	–
6 мес	БЦГО Ph+ $\leq 35\%$	Нет БЦГО Ph+ $> 35\%$	Нет ЦГ ответа Ph+ $> 95\%$	–
12 мес	ПЦГО Ph+ 0 %	БЦГО Ph+ 1–35 %	Нет БЦГО Ph+ $> 35\%$	Нет БМО
18 мес	БМО	ПЦГО, но нет БМО	Нет ПЦГО Ph+ $\geq 1\%$	–
В любое время	БМО стабильный или транскрипция гена BCR-ABL снижается	– Потеря БМО, но сохранение ПЦГО и/или – Появление мутаций с чувствительностью к иматинибу	– Потеря ПГО и/или – Потеря ПЦГО и/или – Появление мутаций, нечувствительных к иматинибу или – Появление КЭ в Ph+ клетках	– Любой прирост BCR-ABL транскрипта – Дополнительные хромосомные аномалии в Ph-негативных клетках

Примечание: ПГО — полный гематологический ответ; БЦГО — большой цитогенетический ответ; ПЦГО — полный цитогенетический ответ; БМО — большой молекулярный ответ; КЭ — клональная эволюция (в Ph+ клетках).

Таблица 7

**КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДАЗАТИНИБА И НИЛОТИНИБА ПРИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ
К ИМАТИНИБУ ИЛИ ЕГО НЕПЕРЕНОСИМОСТИ У ПАЦИЕНТОВ ХМЛ**

Этап	Оптимальный	Субоптимальный	Неэффективность	Факторы риска
До терапии	–	–	–	– Гематологическая резистентность к имати- нибу – КЭ – Мутации, резистент- ные к ИТК
3 мес	ПГО и БЦГО Ph+ 0–35 %	Малый ответ Ph+ 36–65 %	Ph+ >95 % или новые рези- стентные мутации	Минимальный ЦГО (Ph+ 66–95 %)
6 мес	ПЦГО Ph+ 0 %	БГЦО Ph+ 1–35 %	Ph+ 66–95 % или новые рези- стентные мутации	Малый ЦГО (Ph+ 36–65 %)
12 мес	БМО	Нет БМО	Ph+ >35 %	–

Примечание: ПГО — полный гематологический ответ; БГЦО — большой цитогенетический ответ; ПЦГО — полный цитогенетический ответ; БМО — большой молекулярный ответ; КЭ — клональная эволюция (в Ph+ клетках); ИТК-Ингибиторы тирозин-киназ.

Таблица 8

ОБСЛЕДОВАНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ИТК

Метод исследования	Частота исследования
Клинический анализ крови	1 раз в 15 дней до 3-х мес, далее каждые 3 мес. Анализ выполняется чаще по показаниям (токсичность, отсутствие ПГО).
Морфология костного мозга	При подозрении на трансформацию в фазу акселерации или бластный криз.
Цитогенетика	Через 3 мес, 6 мес от начала терапии и далее каждые 6 мес до достижения ПЦГО. После достижения ПЦГО и регулярного ПЦР мониторинга проведение ЦГ исследования возможно только при подозрении на утрату ПЦГО (при выявлении >1 % транскрипта bcr-abl при количественном ПЦР).
FISH	Только при неинформативности цитогенетики.
Количественный ПЦР	Каждые 3 мес до достижения БМО, далее каждые 3–6 мес.
Мутационный анализ	При первичной или вторичной резистентности к ИТК.

Регулярное адекватное обследование позволяет своевременно выявить пациентов с резистентностью к проводимой терапии тем или иным ИТК. В такой ситуации ранний перевод пациента на другое ИТК или своевременное выполнение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТТСК) дает больному ХМЛ наилучший шанс на достижение ремиссии. Доступность всех молекулярно-генетических методов исследования имеет крайне важное значение для обеспечения адекватной тактики ведения пациентов ХМЛ. Безусловно, для обеспечения высокого качества исследований огромное значение имеет и опыт врачей лабораторной диагностики.

Международное сотрудничество в области стандартизации и оценки качества этих высокотехнологических методов позволяет гематологам быть уверенными в полученных результатах. Кроме того, международная стандартизация количественной методики ПЦР с получением индивидуального коэффициента (конверсионный фактор) для каждой лаборатории позволяет гематологам оценивать динамику транскрипта bcr-abl по ПЦР анализам, выполненным в разных лабораториях. Кроме того, уровень БМО в международных рекомендациях указан с учетом использования конверсионного фактора. В России важности международной стандартизации была посвящена конференция в Иркутске в 2010 г.

Journal of Nationale Cancer Institution. — 1998. — Vol. 90. — P. 850–858.

14. Sokal J.E., Baccarani M., Russo D. et al. Staging and prognosis in chronic myelogenous leukemia // *Semin Hematol.* — 1988. — Vol. 25. — P. 49–61.

15. Hasford J. et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score // *Blood.* — 2011. — Vol. 118, № 3. — P. 686–692.

16. Baccarani M., Cortes J., Pane F., Niederweiser D. et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet // *JCO.* — 2009. — P. 1–11.

17. Baccarani M., Pileri S., Steegmann J.L. et al. ESMO Guidelines Working Group. Chronic myeloid leukemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // *Ann Oncol.* — 2012. — Vol. 23, № 7 — P. 72–77.

18. Дубин М.В., Куевда Д.А., Хомяков Т.Е. и др. Молекулярный мониторинг эффективности терапии больных хроническим миелолейкозом в России (по материалам Всероссийской научно-практической конференции, Иркутск, 3–4 сентября 2010 г) // *Современная онкология.* — 2010. — № 4. — С. 9–15.

19. Cornelison A.M., Welch M.A., Koller C., Jabbour E. Dasatinib combined with interferon-alfa induces a complete cytogenetic response and major molecular response in a patient with chronic myelogenous leukemia harboring the T315I BCR-ABL1 mutation // *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* — 2011. — Vol. 11, № 1. — P. 111–113.

20. Soverini S., Hochhaus A., Nicolini F. et al. BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet // *Blood.* — 2011. — Vol. 118, № 5. — P. 1208–1215.