

Федеральное медико-биологическое агентство

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства»**

**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ НЕХОДЖКИНСКИХ
ЛИМФОМ**

Санкт-Петербург
2015

Методические рекомендации посвящены современным подходам к диагностике злокачественных новообразований лимфоидной ткани и их лечению. Разработанный и апробированный алгоритм диагностики и лечения неходжкинских лимфом с использованием современных методов диагностики и лечения позволяет на более высоком уровне, с применением молекулярно-генетических маркеров, верифицировать варианты заболевания, прогнозировать его течение и целенаправленно использовать инновационные лекарственные препараты для повышения эффективности терапии.

Предназначены для врачей клинической лабораторной диагностики, врачей-гематологов, онкологов, врачей общей практики.

Область применения: онкология, гематология, внутренние болезни.

Авторы: К.М. Абдулкадыров, С.С. Бессмельцев, А.В. Четкин, С.В. Волошин, И.С. Мартынкевич, Л.Н. Бубнова, В.И. Ругаль, Т.В. Глазанова, И.Е. Павлова, Е.В. Беляева, Ж.В. Чубукина, Л.С. Мартыненко, М.П. Иванова, А.Ю. Кувшинов, Т.В. Санина, Н.Ю. Семенова, А.Д. Гарифуллин

Рецензенты: доктор медицинских наук профессор А.Н. Богданов
доктор медицинских наук профессор С.Г. Бологов

Организация-разработчик: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»

Утверждены заместителем руководителя Федерального медико-биологического агентства Е.Ю. Хавкиной 27.02.2015, Рег.№15-2015

Содержание

Введение	4
Обозначения и сокращения	8
Основные нормативные положения	10
1 Методика проведения исследования	10
1.1 Диагностическая часть алгоритма	10
1.1.1 Первичный осмотр больного, направление на биопсию – этап I	10
1.1.2 Определение варианта неходжкинской лимфомы – этап II	15
1.1.3 Определение стадии НХЛ (стадирование) – этап III	30
1.1.4 Формирование окончательного диагноза НХЛ – этап IV	37
1.2 Терапевтическая часть алгоритма.....	38
1.2.1 Стратификация больных НХЛ – этап V	38
1.2.2 Определение цели лечения НХЛ – этап VI.....	47
1.2.3 Стратегическое планирование лечения НХЛ – этап VII	49
1.2.4 Выбор варианта терапии НХЛ – этап VIII	51
1.2.5 Оценка эффективности терапии НХЛ – этап IX	65
1.2.6 Оценка токсичности химиотерапевтического режима при НХЛ – этап X.....	73
1.2.7 Динамическое наблюдение при НХЛ – этап XI	74
Библиография.....	76

Введение

Более чем 180-летняя история изучения лимфопролиферативных заболеваний (ЛПЗ) позволила выявить их общие черты и сформировать отдельные группы наиболее близкие по своим морфологическим, иммунофенотипическим и клиническим проявлениям [1]. Внедрение каждого нового метода исследования самой лимфоидной ткани приводило к усовершенствованию старых и формированию новых классификаций. Однако, только в 1997 году в классифицирующей системе появились клинические градации неходжкинских лимфом (НХЛ) на высокоагрессивные, агрессивные и индолентные, что не всегда соответствовало гистологическому субстрату опухоли, а основывалось на вероятности 5-летней общей выживаемости (ОВ) пациентов [2].

Стадирующая система, определяющая распространенность злокачественной лимфомы в организме, развивается не столь динамично. Имея в основе принципы онкологических систем стадирования, она, в целом, удовлетворяет потребностям клиницистов, являясь самостоятельным и надежным прогностическим фактором (ПФ), на котором строится большинство терапевтических стратегий [3, 4]. В 90-х годах прошлого столетия рядом ученых и клиницистов были разработаны и внедрены в практику алгоритмы диагностики НХЛ. Так, в 1993 году А.А. Новиком был предложен 6-этапный алгоритм общей диагностики НХЛ [5], который был модифицирован им в 2002 г. и послужил основой создания аналогичного для диагностики и лечения первичных диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфом (ДВККЛ) центральной нервной системы (ЦНС) уже в настоящее время [6]. Состоялся «аффинаж» химиотерапевтических режимов с возведением программы СНОР в ранг «золотого» стандарта терапии НХЛ [7], а аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) – основного метода лечения рецидивов ЛПЗ [8].

В то же время, отсутствие долгосрочных, удовлетворяющих и пациентов, и врачей-результатов лечения, как отдельных случаев, так и целых групп ЛПЗ, появление новых методов исследований, позволяющих выделять генетическую неоднородность уже имеющих нозологических форм, предоставляют широкое пространство для совершенствования систем классификации, стадирования, прогноза и построения лечебных программ при НХЛ [9-11]. Полученные данные об этиологии и патогенезе лимфоидных опухолей стимулируют поиск новых фармацевтических препаратов с иными точками лекарственного воздействия, комбинаций с известными лекарственными агентами, путей доставки препаратов в организм для повышения эффективности терапии [12-16]. Современные методы оценки динамики опухолевого клона позволяют точнее определить результаты лечения ЛПЗ, проводить мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) и, в конечном итоге, с наименьшими погрешностями строить прогноз течения заболевания [17-22]. Так, по-

иски причин неудовлетворительных результатов химиотерапии (ХТ) у отдельных пациентов с ДВККЛ позволили выявить генетическую неоднородность заболевания и разработать новые алгоритмы иммуногистохимической (ИГХ) диагностики этой формы НХЛ [23-25]. Введение на основе полученных данных в стандартную программу ХТ ДВККЛ нового препарата (бортезомиб) улучшили результаты лечения [26-28].

Достижения в области молекулярной биологии в последние годы позволили расшифровать или значительно прояснить патогенез многих гематологических заболеваний [29-32]. Молекулярные методы стали широко применяться в практической гематологии. В диагностике и мониторинге лимфоидных опухолей они имеют особое значение. Это связано, во-первых, с наличием уникально перестроенных генов варибельного региона антигенных рецепторов каждого лимфоцита. Данная особенность отличает лимфоидную ткань от любой другой и лежит в основе оценки клональности и отслеживания МОБ. Во-вторых, гемобластозы часто сопровождаются высокоспецифичными генетическими аномалиями, определение которых имеет диагностическое значение [33].

Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) отмечает, что именно хромосомные аномалии являются одними из самых надежных критериев классификации и диагностики лимфоидных опухолей. Идентификация генов, вовлеченных в развитие злокачественной опухоли, является фундаментальной биологической задачей, решение которой способствует формированию представлений о патогенезе заболевания, а также позволяет выявить генетические факторы риска развития НХЛ [1]. Использование генетических методов способствовало снижению диагностических ошибок при дифференциальной диагностике ЛПЗ. Определение хромосомной транслокации t(11;14) методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) в большинстве случаев позволяет дифференцировать мантийноклеточную лимфому (МКЛ) от других вариантов злокачественных лимфом и хронического лимфолейкоза, что делает выбор более агрессивной ХТ обоснованным [9].

Появление многоцветной иммунофлуоресцентной проточной цитометрии (МИФПЦ) позволило не только определять иммунофенотип опухолевых клеток для диагностики отдельных вариантов ЛПЗ, но и использовать данный метод для выявления поражения костного мозга (в дополнение к процедуре стандартной трепанобиопсии костного мозга), плевры и нервной системы, определять с ее помощью величину опухолевой нагрузки, в том числе для диагностики и мониторинга МОБ [34, 35].

Радиологическая оценка эффективности лечения злокачественных лимфом методом позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), совмещенной с компьютерной томографией (КТ), является на сегодняшний день наиболее полной в случае вариантов опухолей типично накапливающих радиоизотоп 18-фтордезоксиглюкозы (ФДГ). Так, наличие

ПЭТ-позитивных лимфатических узлов у пациентов (моложе 65 лет) с ДВККЛ после завершения индукционной терапии является неудовлетворительным результатом и требует проведения высокодозной ХТ с аутологичной ТГСК [36]. При этом, терапевтическая стратегия для пожилых пациентов с ПЭТ-позитивными очагами после индукционного лечения этого типа лимфомы на настоящий момент не разработана.

Построенные на существовавших общепринятых классификациях, в основе которых лежали данные диагностических методов, воспроизводимых большинством медицинского сообщества, и имеющихся в распоряжении врачей средств воздействия на опухоль (хирургические операции, радиологическое воздействие, лекарственные препараты) лечебные алгоритмы эволюционировали от «стандартных» программ, применимых к гистологическим (низкой/промежуточной/высокой степени злокачественности) и/или иммунологическим (В/Т-клеточные) типам НХЛ к программам, основанным на иммунофенотипических характеристиках опухолевых лимфоцитов и связанным с появлением первого терапевтического моноклонального антитела (МКАТ) (ритуксимаб) [37], а на современном этапе к программам эпигеномной терапии, учитывающих генетические подтипы лимфоидных опухолей и специфические хромосомные нарушения при них [9]. При этом, необходимо понимать, что методы хирургического и радиологического воздействия на лимфоидную опухоль остаются методами, прежде всего, локального контроля с основной областью применения при начальных (прежде всего I-ой) стадиях злокачественных лимфом или в качестве дополнения к программам ХТ при комбинированном лечении. Эволюция этих методов обусловлена совершенствованием хирургических техник и их «полным или частичным» замещением радиологическими методами строгого топического приложения с минимальным повреждением окружающих здоровых тканей (гамма- и кибер-«ножи») и снижением суммарной дозы лучевого воздействия. Однако, значение и хирургического, и радиологического методов так же велико, как и ранее, когда речь идет об излечении локализованных форм лимфоидных опухолей и лечении НХЛ отдельных локализаций (первичных лимфом ЦНС, лимфом, ассоциированных с лимфоидной тканью слизистых (MALT-лимфома)) [38, 39]. Отдельно необходимо упомянуть и о первичных лимфомах кожи, имеющих свою стадирующую систему, методы и тактику лечения на локализованных стадиях заболевания, которые не рассматривались нами в контексте данных методических рекомендаций [40].

Комплексная оценка динамики опухолевой нагрузки методом ПЭТ и КТ при заключительной оценке результатов терапии НХЛ, а также применение генетических методов выявления специфических хромосомных нарушений и определение иммунофенотипа опухолевых клеток при МИФПЦ для мониторинга МОБ позволяют формировать страте-

гию дальнейшего лечения пациентов (интенсификация, поддерживающая терапия (ПТ), наблюдение) [41]. При этом, появление практически каждого лекарственного препарата с иным терапевтическим механизмом действия и внедрение его в уже имеющиеся программы ХТ вынуждают подтверждать «жизнеспособность» существующих ПФ и прогностических индексов (ПИ) или совершенствовать их, принимая во внимание полученные новые данные [9, 41].

Таким образом, на сегодняшний день накоплено достаточно данных для создания модели/алгоритма действий врача-клинициста (гематолога, онколога, терапевта и др.), связанных с диагностикой и построением прогноза течения НХЛ, индивидуализацией лечения пациента и оценкой результатов терапии. В своих методических рекомендациях мы попытались прежде всего акцентировать внимание на принципах:

- использования имеющихся в распоряжении врачей современных методов диагностики отдельных вариантов НХЛ, в соответствии с классификацией ВОЗ (2008 г.);
- выявления распространенности опухолевого процесса в организме (стадирования) больного;
- определения прогноза течения заболевания на основе известных ПФ и ПИ, соматического статуса больного лимфомой, а также стратификации пациентов на основании этих данных;
- определения цели, стратегического планирования и избрания тактики (выбор инновационных лекарственных препаратов и программ ХТ) индукционного и противорецидивного лечения, основанных на данных о заболевании пациента;
- оценки результатов терапии и выработки рекомендаций о необходимости и варианте дальнейшего лечения и/или динамического контроля на организменном уровне и мониторинге МОБ, а также, проиллюстрировать их на отдельных примерах.

Данные методические рекомендации основаны на опыте, более чем 20-летнего наблюдения больных НХЛ, использования современных диагностических методов и инновационных лекарственных средств в клиническом отделе химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. Следует отметить, что предлагаемые методические рекомендации не являются догмой, а лишь руководством к действию и могут быть как оптимизированы при получении новых данных, так и способствовать получению таковых при планировании и проведении клинических исследований.

Обозначения и сокращения

БПВ	– беспрогрессивная выживаемость
БРВ	– безрецидивная выживаемость
В-НХЛ	– В-клеточная неходжкинская лимфома
ВОЗ	– Всемирная Организация Здравоохранения
ДВККЛ	– диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
ИГХ	– иммуногистохимическое исследование
КОЭ	– клиническая оценка эффективности
КТ	– компьютерная томография
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
ЛМЗ	– лимфома маргинальной зоны
ЛМЛ	– лимфома из малых лимфоцитов
ЛПЗ	– лимфопролиферативное заболевание
МИФПЦ	– многоцветная иммуофлуоресцентная проточная цитометрия
МКАТ	– моноклональное антитело
МКЛ	– мантийноклеточная лимфома
МОБ	– минимальная остаточная болезнь
МРТ	– магнитно-резонансная томография
НХЛ	– неходжкинская лимфома
ОВ	– общая выживаемость
ОО	– общий ответ
ПЗ	– прогрессия заболевания
ПИ	– прогностический индекс
ПОЭ	– полная оценка эффективности
ПР	– полная ремиссия
ПТ	– поддерживающая терапия
ПФ	– прогностический фактор
ПЦР	– метод полимеразной цепной реакции
ПЭТ	– позитронно-эмиссионная томография
РЗ	– рецидив заболевания
СЗ	– стабилизация заболевания
СПД	– сумма произведений диаметров
Т-НХЛ	– Т-клеточная неходжкинская лимфома

ТГСК	– трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
ФДГ	– фтордезоксиглюкоза
ФКС	– фиброколоноскопия
ФЛ	– фолликулярная лимфома
ФЭГДС	– фиброэзофагогастродуоденоскопия
ХТ	– химиотерапия
ЧР	– частичная ремиссия
ЦНС	– центральная нервная система
aaIPI	– Международный прогностический индекс связанный с возрастом
DHL	– Double Hit лимфома
FISH	– метод флуоресцентной гибридизации <i>in situ</i>
FLIPI	– Международный прогностический индекс для фолликулярных лимфом
IPI	– Международный прогностический индекс
PII	– прогностический индекс для Т-клеточных лимфом
R-IPI	– пересмотренный Международный прогностический индекс
β-2-МГ	– бета-2-микροглобулин

Основные нормативные положения

1 МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1 ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ АЛГОРИТМА

Существующие методы диагностики НХЛ являются весьма сложными и значительно устаревшими и требуют пересмотра с учетом современных технологических подходов, новых современных ПФ на базе которых строится индивидуальный подход к лечению отдельных вариантов НХЛ с использованием инновационных лекарственных препаратов, путей их введения в организм и программ ХТ. Перечисленные методические подходы, современные методы диагностики и лечения, основанные на молекулярно-генетических, иммунологических, гистоморфологических и ИГХ методах исследования отражены в представленных методических рекомендациях.

1.1.1 Первичный осмотр больного, направление на биопсию – этап I

Многие стандартные процедуры диагностики НХЛ хотя практически не претерпели изменений, все же требуют существенного пересмотра. При этом значимость полученных на первом этапе данных часто критична для проведения стратификации и воспроизведения комплексных ПИ при отдельных вариантах НХЛ, а потому важна и необходима на последующих этапах диагностического алгоритма.

1.1.1.1 Обращение пациента за медицинской помощью

Наиболее частой причиной обращения пациента с подозрением на ЛПЗ (НХЛ, в частности) являются:

клинические

- *увеличение лимфатических узлов (в том числе миндалин);*
- *спленомегалия (увеличение селезенки);*
- гепатомегалия (увеличение печени);
- наличие образования любой области человеческого тела;
- другие клинические проявления (лимфедема, плеврит, асцит, синдром сдавления верхней полой вены и др.);

лабораторные

количественные изменения

- лейкоцитоз;
- относительный и/или абсолютный лимфоцитоз;
- *абсолютный лимфоцитоз более 5×10^9 /л;*
- лейкопения;

- анемия (снижение уровня гемоглобина и/или эритроцитов в периферической крови);
- тромбоцитопения или тромбоцитоз;
- эозинофилия;
- синдром ускоренной скорости оседания эритроцитов;

качественные изменения

- наличие атипичных лимфоидных элементов (при микроскопии периферической крови).

Причины обращения за медицинской помощью больных с подозрением на ЛПЗ выделенные курсивом (без подчеркивания) могут характеризоваться как «*лимфома-специфичные*», только лишь потому, что присутствуют изолированно или в сочетании с другими симптомами в большинстве случаев НХЛ.

1.1.1.2 Объективный осмотр пациента

Помимо стандартного объективного осмотра пациента в рамках рутинной клинической практики обязательными компонентами обследования по органам и системам больного с подозрением на ЛПЗ являются:

- измерение двух наибольших взаимно перпендикулярных размеров всех увеличенных периферических лимфатических узлов (пакетов лимфатических узлов или их конгломератов) с обязательным использованием штангенциркуля медицинского назначения и точностью измерения до 1 мм;
- при невозможности измерения размеров лимфатических узлов штангенциркулем или линейкой оценка может быть дана приближенно с допустимой погрешностью 5 мм;
- осмотр небных миндалин с определением степени их гипертрофии;
- оценка спленомегалии и/или гепатомегалии, которая проводится в положении больного лежа на спине по степени выпячивания их из под левой и правой реберных дуг, соответственно, измеренное линейкой и выраженное в сантиметрах с погрешностью до 5 мм;
- выявление лимфатических отеков (лимфостаз, лимфедема) конечностей, обусловленных сдавлением лимфатических сосудов увеличенными лимфоузлами, и/или асцита требует измерения окружности увеличенных тканей сантиметровой лентой с записью результатов измерений с погрешностью до 5 мм.

1.1.1.3 Принятие решения о биопсии лимфатического узла

В соответствии с критериями *B.D. Cheson* '1999, '2007 увеличенными лимфатическими узлами принято считать узлы с длинной осью более 1,5 см или узлы размер короткой оси которых превышает 1,0 см [42, 43]. Возможные варианты форм лимфатических узлов и взаимоотношения их длинной и короткой осей представлены на рисунке 1. Для стандартизации оформления результатов измерений нами была использована диаграмма основных групп лимфатических узлов (рис. 2).

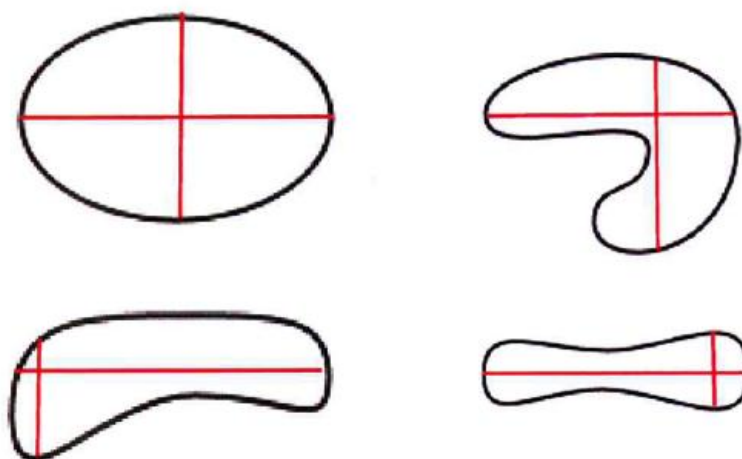


Рисунок 1 – Варианты форм лимфатических узлов и взаимного расположения их длинной и короткой оси

Конечной целью обследования лимфатической системы является решение вопроса о необходимости и целесообразности проведения биопсии увеличенного лимфатического узла, а в случае генерализованной лимфаденопатии – какого из них. Необходимо отметить, что речь идет только об эксцизионной биопсии лимфатического узла, т.к. другие виды биопсий (тонкоигольная или аспирационная, трепанобиопсия, частичная резекция лимфатического узла), обладая явными недостатками (нарушение целостности нативной архитектоники лимфатического узла, недостаточное количество материала, особенно в случае необходимости повторных исследований, невозможность диагностики двух типов опухоли в одном лимфатическом узле), не могут служить стандартными методами окончательной диагностики НХЛ и применимы лишь в случае абсолютной убежденности в невозможности проведения эксцизионной биопсии.

Абсолютными показаниями к проведению биопсии лимфатического узла служат:

- подозрение на злокачественную опухоль;
- лимфаденопатия, сопровождающаяся «лимфома-специфичными» симптомами и изменениями лабораторных показателей;
- висцеральная лимфаденопатия;

– прогрессирующее увеличение лимфатических узлов (более 3 см) при отсутствии признаков воспаления.

Относительные показания включают в себя:

– длительно существующую лимфаденопатию (более 2 недель) при отсутствии признаков инфекционного заболевания и эффекта от эмпирической антибактериальной терапии;

– лимфаденопатию, характеризующуюся плотными, безболезненными, спаянными между собой и/или с окружающими тканями узлами;

– генерализованную лимфаденопатию;

– локализованную лимфаденопатию (регионарную по отношению к хроническим очагам инфекции);

– лимфаденопатию, сопровождающуюся лихорадкой;

– лимфаденопатию, причина которой после всестороннего обследования осталась неясной.

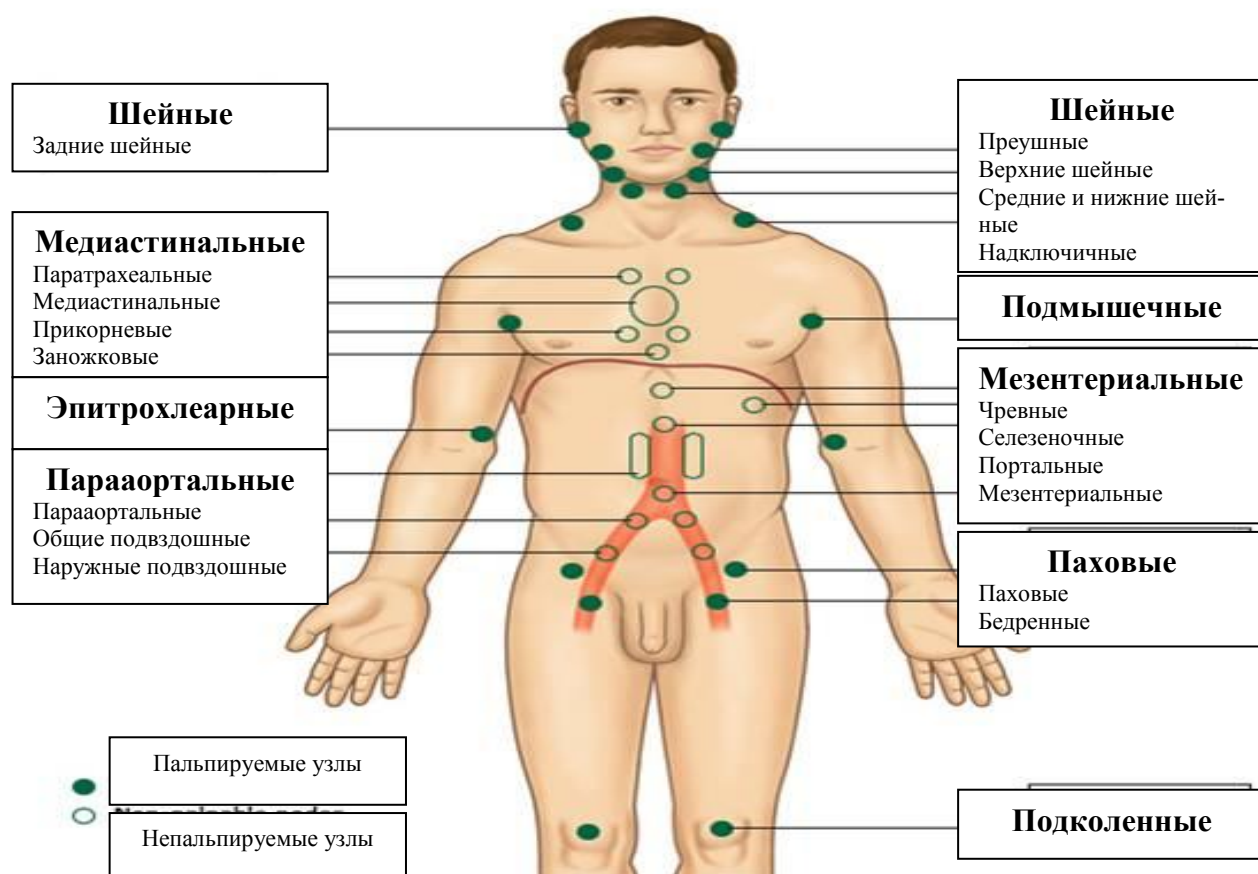


Рисунок 2 – Основные группы лимфатических узлов человека

При наличии нескольких увеличенных лимфатических узлов, удовлетворяющих техническим возможностям хирургического вмешательства, выбор планируемого к биопсии последовательно склоняется к увеличенному узлу:

- наиболее раннему по времени появления;
- с наибольшими размерами;
- «безопасному» (отсутствие близлежащих крупных сосудов и нервных сплетений) и «удобному» с точки зрения хирургического вмешательства;
- находящемуся вне паховых областей;
- без признаков воспаления и вторичного инфицирования, особенно, в случаях изъязвления кожных покровов в местах лимфаденопатии.

Таким образом, первый этап диагностики НХЛ (в большинстве случаев) завершается проведением эксцизионной биопсии увеличенного периферического лимфатического узла и направлением операционного материала для исследования патоморфологом, соответствующей квалификации. При отсутствии увеличенных и доступных для биопсии периферических лимфоузлов производится выбор висцерального увеличенного лимфатического узла на основании данных КТ, магнитно-резонансной томографии (МРТ) или ПЭТ-КТ. При этом, оперативное вмешательство целесообразно проводить с использованием эндовидеохирургических методов, как на брюшной, так и на грудной полостях, если для таковых существует техническая возможность и безопасность их проведения выше, чем для открытых полостных операций. В случае поражения желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), выявленного в ходе эндоскопического исследования его верхних отделов – фиброэзофагогастродуоденоскопия (ФЭГДС) и/или нижних отделов – фиброколоноскопия (ФКС), материал биопсии пораженных органов также направляется патоморфологу. В исключительно редких клинических ситуациях при отдельных вариантах НХЛ (например, лимфома маргинальной зоны (селезенки) (ЛМЗ), некоторые типы Т-клеточных НХЛ (Т-НХЛ)) диагностическим материалом для проведения стандартных (обязательных) гистологических исследований может служить костный мозг или сама селезенка. Окончательно сформированный первый этап алгоритма диагностики и лечения НХЛ «Первичный осмотр больного, направление на биопсию» представлен ниже.

І этап – Первичный осмотр больного, направление на биопсию

Цель: анализ распространенности и типа лимфаденопатии, определение общего соматического статуса больного, определение биологической активности процесса, решение вопроса о проведении биопсии лимфатического узла (пораженного органа или ткани).

Методы: физикальное обследование, клинические анализы крови и мочи, биохимические исследования крови с определением уровня системных опухолевых маркеров (лактатдегидрогеназа (ЛДГ), альбумин, мочева кислота, фибриноген, бета-2-микроглобулин (β -2-МГ)), рентгенография органов грудной клетки.

1.1.2 Определение варианта неходжкинской лимфомы – этап II

Оценивая цель второго этапа алгоритма диагностики НХЛ с позиций современной классификации ВОЗ'2008 [1] необходимо отметить, что на сегодняшний день большинство морфологических вариантов лимфоидных опухолей, во-первых, имеют несколько подтипов, вследствие генетической неоднородности, а во-вторых, требуют подтверждения «морфологической» диагностической гипотезы, основанной на данных световой микроскопии и ИГХ, методами МИФПЦ, генетических исследований (рутинный цитогенетический, методы FISH и полимеразной цепной реакции (ПЦР)). Цитологический анализ опухоли сохранил свое значение лишь в случаях, когда возможность проведения гистологического исследования полностью исключена и/или клиническая ситуация развивается таким образом, что начало лечения пациента лимитировано временными рамками жизненных показаний.

В этой связи, при отсутствии жизнеугрожающего состояния пациента, целью II этапа диагностики НХЛ служит определение варианта (в широком смысле) лимфоидной опухоли в соответствии с общепринятой классификацией и формированием иммунофенотипа и генотипа опухолевой клетки. Из методов исследований целесообразно выделить основные (обязательные) – метод световой микроскопии на основе окраски гематоксилин-эозином и ИГХ, а также дополнительные – МИФПЦ, цито- и молекулярногенетический анализ, иммунологические исследования. Нельзя исключить, что изменения современной классификации ЛПЗ потребуют расширения списка дополнительных методов исследования.

1.1.2.1 Обязательные методы исследования лимфатического узла (опухолевой ткани, костного мозга)

Комплекс гистологических исследований, состоящий из световой микроскопии срезов образца лимфатического узла (опухолевой ткани, костного мозга) окрашенных гематоксилин-эозином и их ИГХ исследованием с использованием МКАТ на сегодняшний день является стандартным (обязательным) методом диагностики НХЛ в рамках классификации ВОЗ'2008 и применяется в большинстве гематологических стационаров Российской Федерации. За время своего существования, а это более 150 лет, метод световой микроскопии срезов тканей с окраской гематоксилин-эозином был усовершенствован и стан-

дартизован до этапа «промывки и оценки при производстве алмазов» и историческое значение этого метода трудно переоценить.

Появившийся относительно недавно (в конце 20-го века), метод ИГХ анализа для диагностики отдельных вариантов НХЛ и определяемый им набор (алгоритм) МКАТ служит стандартной процедурой при злокачественных лимфомах и достаточно подробно изложен в соответствующих руководствах. Однако, появление новых МКАТ и имеющиеся на современном этапе данные о генетической неоднородности отдельных вариантов НХЛ требуют усовершенствования диагностических алгоритмов на основе ИГХ техники.

Гистологическое исследование лимфатического узла (опухолевой ткани, костного мозга)

В основе гистологического исследования биопсий лимфатических узлов лежит исследование тканевой структуры (архитектоники) и клеточного состава биоптата. Гистологическое исследование костного мозга, полученного методом трепанобиопсии подвздошной кости проводится с определением объёма, занимаемого кроветворной и жировой тканью, оценкой имеющихся изменений в составе и расположении кроветворных клеток и структур кроветворного микроокружения, наличия кровоизлияний, гемосидерина и др.

Материалы и оборудование

- стандартное оборудование гистологической лаборатории (гистологический процессор, термостаты, микротом, водяная баня, емкости и колбы для окрашивания образцов);
- реагенты для обезвоживания и депарафинирования;
- предметные и покровные стекла;
- наборы реагентов для гистологических и гистохимических окрасок;
- набор реагентов для проведения ИГХ.

Методика

Фиксация биоптатов лимфатических узлов проводится в 10% нейтральном забуференном формалине, объем фиксирующей жидкости в 20 раз больше фиксируемого объекта. Общее время фиксации при комнатной температуре 24-48 часов.

Объем трепанобиоптата для достоверной оценки состояния кроветворения рекомендован не менее 40 мм³ (длина «столбика» образца ткани костного мозга не менее 2 см). Основываясь на большом опыте работы с трепанобиоптатами, мы рекомендуем проводить фиксацию и декальцинацию с использованием набора Mielodec (BioOptica). В со-

став набора входит фиксатор (формалин с хлоридом ртути) и декальцинатор на основе этилендиаминтетрауксусной кислоты в кислотном буфере.

Обезвоживание и заливка в парафин лимфатического узла (опухолевой ткани, костного мозга) проводятся по общепринятой стандартной методике. Изготавливаются срезы толщиной 2-4 мкм. Для гистологической оценки препараты окрашиваются стандартными общепринятыми методами – гематоксилин-эозином, азур-II-эозином.

Иммуногистохимическое исследование лимфатического узла (опухолевой ткани)

Иммуногистохимическое исследование – это метод выявления точной локализации того или иного клеточного или тканевого компонента (антигена) благодаря связыванию его с мечеными антителами. На сегодняшний день существует множество методик ИГХ окрашивания, отличающихся не только принципом реакции (прямой, непрямой метод), методами визуализации (флуоресцентные метки, хромогены), но и рекомендациями фирм-производителей антител и систем визуализации. Протоколы окрашивания оптимально подбираются самостоятельно в каждой конкретной лаборатории. В своей работе мы используем Ready-to-use МКАТ и системы визуализации фирмы Dako, что позволяет получать стандартизованные результаты.

Материалы и оборудование

- водяная баня, РТ-модуль для демаскировки;
- дозаторы механические переменного объема 0,5-10 мкл, 20-200 мкл;
- одноразовые наконечники на дозаторы;
- стекла с поли-L-лизином;
- покровные стекла;
- гидрофобный карандаш;
- реагенты для обезвоживания и депарафинирования;
- промывочный TBS-буфер, Dako;
- пероксидазный блок, Dako;
- цитратный буфер для демаскировки, рН 6,0, Dako;
- панель первичных антител;
- система визуализации EnVision FLEX, Dako;
- BioMount, BioOptica (либо другая среда для заключения препаратов – полистирол, канадский бальзам).

Методика

1. Срез поместить на стекло с поли-L-лизином, высушить в термостате при 37 °С в течение 12 часов. Затем срезы поместить на 30 мин в термостат 56 °С.
2. Удалить парафин и регидратировать срезы стандартным способом.
3. После промывки срезов в дистиллированной воде (5 мин) провести демаскировку антигенов на водяной бане в цитратном буфере (рН 6,0), 98 °С 20 мин. Остудить в буфере – 15-20 мин (примерно до 60 °С).
4. Промыть срезы в дистиллированной воде, нанести на срезы по 100 мкл пероксидазного блока – 5 мин.
5. Промыть срезы в дистиллированной воде (5 мин), промыть срезы в TBS-буфере (5 мин).
6. Удалить избыток жидкости с предметного стекла вокруг срезов, срезы обвести гидрофобным карандашом. Перенести стекла во влажную камеру.
7. Нанести первичные антитела – 100 мкл на срез. Инкубация 20-30 мин при комнатной температуре.
8. Промыть срезы в TBS буфере – 3 раза по 5 мин.
9. Нанести 100 мкл системы визуализации. Инкубация 30 мин.
10. Промыть срезы в TBS буфере – 3 раза по 5 мин.
11. Срезы инкубировать в свежеприготовленном буферном растворе 3,3'-диаминобензидинтетрахлорида. В течение 1-3 мин происходит образование окрашенного продукта реакции. Процесс желательно контролировать под микроскопом, чтобы остановить реакцию до появления неспецифического фона.
12. Промыть срезы в дистиллированной воде – 3 мин.
13. Окрасить срезы гематоксилином – 1-3 мин. Смыть краситель дистиллированной водой, дифференцировать окраску в TBS-буфере (2 мин). Промыть срезы в дистиллированной воде (3 мин).
14. Обезводить препараты в спиртах восходящей концентрации, просветлить в ксилоле по стандартной методике.
15. Заключить в BioMount.

Оценка результатов

При микроскопическом анализе лимфатических узлов оценивается структура лимфатического узла в целом и клеточный состав. При этом выявляются тип роста опухоли и другие морфологические особенности, которые позволяют предположить типы лимфом для дифференциальной диагностики. Для проведения ИГХ исследования необходимо подобрать панель антител, после чего проводится оценка комбинации позитивных и нега-

тивных результатов реакции с известными литературными данными о морфологическом типе и иммунофенотипе опухоли.

При микроскопическом анализе трепанобиопсий оценивается общая клеточность костного мозга, процентное соотношение деятельной кроветворной и жировой ткани, морфология гемопоэтических клеток, наличие фиброза и аномальной инфильтрации, состояние микроциркуляторного русла. Сведения о состоянии сосудов микроциркуляции, важного элемента гемопоэтической ниши костного мозга, необходимы для уточнения диагноза, оценки эффективности лечения и прогнозирования течения заболевания.

Иммуногистохимическая диагностика подтипов ДВККЛ

Для диагностики генетического подтипа ДВККЛ нами был использован алгоритм ИГХ диагностики, предложенный в 2004 году *Hans и соавторами* [23] (рис.3). Частота выявления генетического подтипа ДВККЛ из В-клеток герминативного центра по данным литературы составляет около 60% [44]. Пациенты с этим вариантом лимфомы имеют более благоприятный прогноз течения заболевания [9].

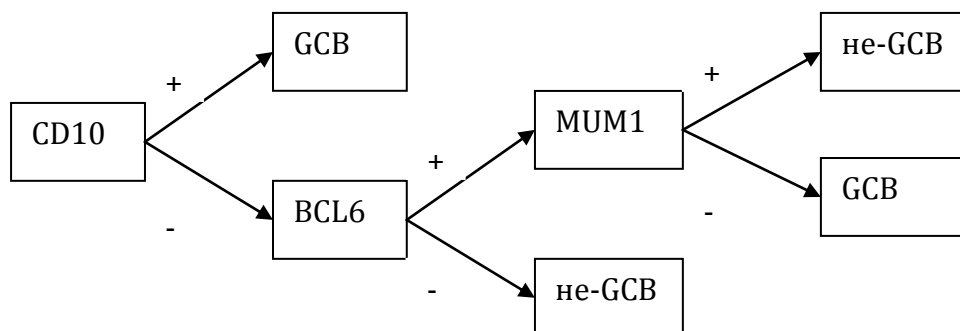


Рисунок 3 – Алгоритм ИГХ диагностики генетических подтипов ДВККЛ
CD10, BCL6, MUM1 – ИГХ окраски с соответствующими реактивами, GCB – ДВККЛ из В-клеток герминативного центра, не-GCB – ДВККЛ из В-клеток негерминативного центра

При обследовании 11 пациентов с ДВККЛ в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России по данному алгоритму у 3 (27%) был выявлен генетический подтип из В-клеток герминативного центра.

1.1.2.2 Дополнительные методы исследования лимфатического узла (опухолевой ткани, костного мозга, периферической крови)

Дополнительные методы исследования, используемые для подтверждения достоверности диагностической гипотезы, основанной на заключении патоморфолога, полученного после гистологического исследования лимфатического узла (опухолевой ткани, костного мозга) включают:

- генетический анализ:

- цитогенетические методы (стандартное цитогенетическое исследование и FISH с локус-специфическими зондами на интерфазных ядрах);
 - молекулярногенетические методы (ПЦР);
- МИФПЦ для определения иммунофенотипа опухолевых клеток периферической крови и костного мозга.

Отсутствие возможности проведения адекватного гистологического исследования лимфатического узла, и выявленные несоответствия между клинической картиной и вариантом НХЛ повышают значение дополнительных методов исследования, а в некоторых случаях делают их незаменимыми. Обязательное применение как стандартных, так и дополнительных методов диагностики значительно снижают риск ошибок при определении типа лимфоидной опухоли, способствуют формированию новых подгрупп НХЛ, вооружают клинициста методами контроля за течением заболевания при системном мониторинге МОБ и позволяют формировать новые стратегии лечения.

Генетические исследования при неходжкинских лимфомах

Согласно критериям ВОЗ (2008 г.) в диагностике и классификации НХЛ необходимо сочетать морфологические исследования с другими важными, включая генетические, методами исследования. Некоторые типы лимфом ассоциируются с высокоспецифичными клональными генетическими аномалиями, имеющими диагностическое значение.

Основными генетическими методами, используемыми как на этапах диагностики, так и при контроле проводимой терапии больных НХЛ, являются стандартное цитогенетическое исследование и FISH анализ с локус-специфическими зондами на интерфазных ядрах.

FISH анализ является более информативным по частоте выявляемости клональных aberrаций в сравнении со стандартным цитогенетическим исследованием. Однако, только стандартное цитогенетическое исследование позволяет произвести анализ одновременно всего хромосомного набора клетки, тем самым выявить не только высокоспецифические аномалии кариотипа, но и комплексные множественные хромосомные aberrации, крайне неблагоприятно влияющие на течение заболевания. В то же время криптогенные, не выявляемые при стандартном цитогенетическом исследовании перестройки генома, позволяют выявить только молекулярно-цитогенетические методы анализа, как, например, FISH.

Таким образом, одновременное применение всех доступных генетических методов исследований в диагностике НХЛ позволяет получить наиболее полную картину заболевания.

Стандартный цитогенетический анализ

Цитогенетическое исследование у больных НХЛ проводится на митоген-стимулированных В-лимфоцитах периферической крови, стабилизированной любым антикоагулянтом и полученной отбором в специальные вакуумные пробирки.

Материалы и оборудование

- венозная кровь;
- центрифуга лабораторная;
- термостат;
- микроскоп биологический (лабораторный);
- компьютерная система анализа изображений;
- дозаторы пипеточные с фиксированными и переменными объемами;
- наконечники полимерные к дозаторам пипеточным РП;
- центрифужные пробирки;
- стекла предметные;
- пипетка одноразовая, V=3 мл;
- стерильная среда RPMI-1640;
- эмбриональная 20% телячья сыворотка;
- коллемеид;
- липополисахарид;
- ТРА;
- фосфатно-буферные растворы;
- краситель Гимза.

Методика

Подсчитав количество лейкоцитов, кровь разделяют на две или более культур, выдержав оптимальную концентрацию – $3-5 \times 10^9$ /мл клеток на 1 мл среды RPMI-1640, дополненной 20% эмбриональной телячьей сывороткой, антибиотиком, глутамином (292,3 мг/л) и митогенами: липополисахарид и ТРА в соотношении 1:1. Периферическая кровь культивируется в термостате 72 часа при температуре 37 °С. За 24 часа до окончания культивирования добавляется коллемеид, что обеспечивает получение необходимого для исследования количества качественных метафазных пластин.

Полученный материал делится на две пробирки и центрифугируется в течение 10 минут при скорости вращения 1000 об/мин. После удаления надосадочной жидкости, полученная клеточная суспензия обрабатывается гипотоническим раствором хлорида калия в течение 30 минут при температуре 37°C. Остановку воздействия гипотонического раствора производят 5% уксусной кислотой, что позволяет более щадяще воздействовать на клетки, или фиксатором, состоящим из 3 частей метанола и 1 части ледяной уксусной кислоты. Модифицированный нами метод позволяет улучшить качество и увеличить количество метафазных пластин, пригодных для анализа.

После центрифугирования и удаления надосадочной жидкости, материал подвергается 3-4 кратной фиксации по 10 минут смесью метилового спирта и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1 при комнатной температуре. После этого полученную суспензию клеток наносят на холодные обезжиренные предметные стекла.

После высушивания препаратов хромосом в течение 1 суток в термостате при температуре 37 °С, выполняется процедура дифференциальной окраски на G-диски по методу Seabright (Seabright, 1971; ISCN, 2009) [45, 46]. Для этого препараты обрабатываются 0,25% раствором трипсина, нагретым до 37 °С в течении 2-10 секунд и промываются в трех сменах дистиллированной воды. Затем стекла покрывают краской Гимза, разведенной на фосфатном буфере (pH = 6,8) и промывали под проточной водой. Далее высушивают препараты при комнатной температуре и анализируют качество окраски хромосом под световым микроскопом. В каждом наблюдении окрашивается 5-10 стекол.

Оценка результатов

В каждом отдельном случае анализируется 20-30 метафазных пластин. При обнаружении патологической клетки анализируются все имеющиеся митозы для подтверждения клональности хромосомных aberrаций и установления процентного соотношения между нормальным и патологическим клоном клеток. Если одни и те же структурные нарушения кариотипа или дополнительные хромосомы обнаруживаются в двух и более клетках, а потери хромосом – в трех, констатируем наличие патологического клона клеток. Интерпретацию патологии кариотипа производим в соответствии с Международной номенклатурой дифференциально сегментированных хромосом [46].

Использование компьютерной системы анализа изображений при проведении цитогенетических исследований позволяет ускорить время кариотипирования и создать базу результатов цитогенетических исследований.

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH)

Для FISH исследования используют суспензию клеток, приготовленную для стандартного цитогенетического исследования или мазок периферической крови на предметном стекле.

Материалы и оборудование

- венозная кровь;
- центрифуга лабораторная;
- термостат;
- микроскоп биологический (лабораторный);
- микроскоп люминисцентный;
- микроцентрифуга;
- программируемый термостат Hybrite;
- водяная термобаня;
- дозаторы пипеточные с фиксированными и переменными объемами;
- наконечники полимерные к дозаторам пипеточным РП;
- эппендорфы;
- стекла предметные (адгезивные, с поли-L- лизином);
- покровные стекла;
- сосуд Коплина;
- пипетка одноразовая, V=3 мл;
- буфер;
- дистиллированная вода;
- DAPI;
- 20SSC;
- вектошилд;
- спирты 70%, 85%, 100%;
- активированный пепсин;
- ДНК-зонды Cyclin D1 (11q13) SO/CEP 11 SG), LSI BCL2, LSI BCL6 (ABR), LSI 13(RB1)13q14, IGH/CCND1, IGH/FGFR3, LSI Trp53(17p13.1), CEP12, LSI ATM.

Методика (FISH на суспензии клеток периферической крови)

1 день

1. Отцентрифугировать эппендорф с суспензией в микроцентрифуге 5 минут/1000 оборотов.

2. В отдельном эппендорфе разбавить осадок фиксатором.
3. Нанести осадок пипеткой на стекло (адгезивное, с поли-L-лизинном).
4. Положить стекло на термopлату (предварительно нагреть до 65 °C). Подождать пока высохнет.
5. Разметить под микроскопом участок (в поле зрения должно быть не менее 200 клеток).
6. Приготовить пробу (4 мкл – буфер, 0,5 мкл – дистиллированная вода, 0,5 мкл – зонд).
7. Нанести пробу, положить сверху покровное стекло, заклеить клеем.
8. Денатурация при 73 °C – 2 минуты, гибридизация при 37 °C – не менее 17 часов.

2 день

1. Предварительно нагреть баню до 72-73 °C.
2. Приготовить раствор 0,4 SSC (1 мл 20SSC/49 мл дистиллированной воды на 1 сосуд Коплина).
3. Снять клей, покровное стекло, поместить в сосуд Коплина в бане на 2 минуты.
4. Продолжить отмывку во втором сосуде Коплина при комнатной температуре 2 минуты.
5. Приготовить DAPI (190 мкл вектошилд/10 мкл DAPI).
6. Нанести 8 мкл, накрыть покровным стеклом.

Методика (FISH на мазках периферической крови)

1 день

1. Поместить мазки в фиксатор на 1 час.
2. Высушить на воздухе 15-20 минут.
3. Нагреть баню до температуры 37 °C.
4. Приготовить сосуд Коплина с раствором пепсина, активированного HCl (50 мл дистиллированной воды, 100 мкл стокового раствора пепсина (100 мг пепсина/1 мл дистиллированной воды), 2-3 капли HCl) и сосуд Коплина с раствором 20SSC (5 мл 20SSC/45 мл дистиллированной воды). Поставить в баню.
5. Поместить стекло в сосуд Коплина с активированным пепсином на 2 минуты, затем в раствор 20SSC на 20 минут.
6. Провести по спиртам (70%, 85%, 100%) по 2 минуты в каждом.
7. Высушить на воздухе.
8. Разметить участок, нанести пробу.

2 день

1. Предварительно нагреть баню до 72-73 °C.

2. Приготовить раствор 0,4 SSC (1 мл 20SSC/49 мл дистиллированной воды – на 1 сосуд Коплина).
3. Снять клей, покровное стекло, поместить в 1 сосуд Коплина в баню на 2 минуты.
4. Продолжить отмывку во втором сосуде Коплина при комнатной температуре 2 минуты.
5. Приготовить DAPI (190 мкл вектошейлд/10 мкл DAPI).
6. Нанести 8 мкл, накрыть покровным стеклом.

Оценка результатов

При исследовании каждого зонда анализируется 200 интерфазных ядер. Интерпретация патологии кариотипа и полученных результатов производится в соответствии с Международной номенклатурой [46].

Алгоритм генетической диагностики ЛМЛ аналогичен алгоритму при хроническом лимфолейкозе, однако, используется только у пациентов с поражением костного мозга (более 80% случаев).

Генетическая диагностика фолликулярных лимфом

Патогенетической причиной возникновения фолликулярных лимфом (ФЛ) является транслокация t(14;18), которая приводит к слиянию генов *BCL2*, локализованного на 18q21, и *IgH* – в локусе 14q32 (*NCCN Guidelines, Non-Hodgkin's lymphomas, version 1.2013*) (рис. 4). В результате такой реаранжировки образуется химерный ген *IgH/BCL2*, который приводит к гиперэкспрессии *BCL2* онкогена, вызывающего, в свою очередь, пролиферацию злокачественных лимфоидных клеток и предотвращает их апоптоз.

При цитогенетических исследованиях (стандартном и молекулярно-цитогенетическом – FISH) у больных ФЛ транслокация t(14;18)(q32;q21) – *IgH/BCL2* выявляется в 80-90% случаев. В *BCL2* гене на хромосоме 18 разрывы происходят в основном в двух сайтах: в большой зоне точек разрывов (mbr) и в малом кластере зоны (mcr), которые составляют 80% и 10% всех случаев транслокации t(14;18) соответственно.

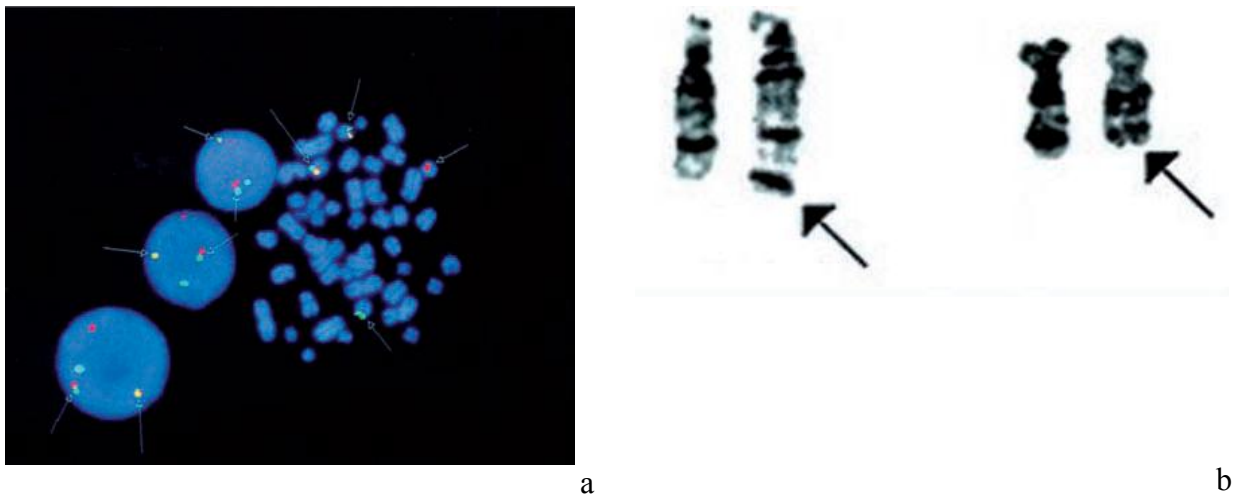


Рисунок 4 – FISH диагностика $t(14;18)(q32;q21)$ (IgH/BCL2):
 а – сливной *IgH/BCL2* генпри FISH исследовании; б – частичная кариограмма с дериватами 14 и 18 хромосом, образованными в результате $t(14;18)$

Приблизительно у 10% больных ФЛ кроме $t(14;18)$ определяются и другие клональные хромосомные аномалии. Чаще при кариотипировании выявляются $del(17p)$, $+X$, $del(1q36)$, $+7$, $+12$, $dup(18q)$, $del(6q)$ (рис.5), $del(10)(q22-q24)$ и полиплоидия.

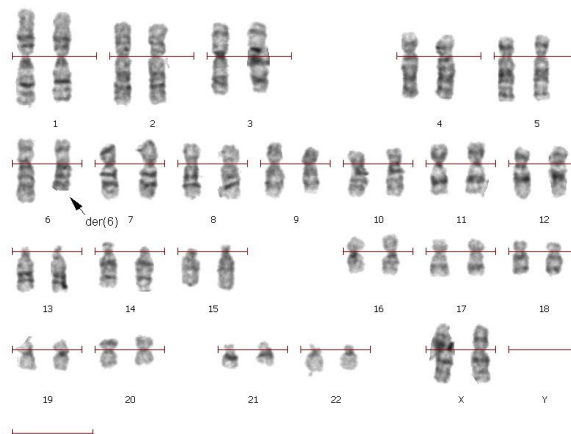


Рисунок 5 – Кариограмма: 46,XX, $del(6)(q27)$

Как правило, данные хромосомные aberrации коррелируют с морфологической прогрессией и являются независимыми ПФ риска трансформации заболевания в агрессивную НХЛ. В ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России цитогенетические нарушения при ФЛ ($n = 17$) выявлены не были, в то время как при FISH анализе $t(14;18)$ обнаруживалась у 50% (5/10) больных.

Генетическая диагностика МКЛ

Мантйноклеточная лимфома является агрессивной зрелоклеточной НХЛ, характеризующейся гиперэкспрессией циклина D1, обусловленной слиянием протоонкогена

BCL1, локализованного на 11q13 (*CCND1* ген кодирует циклин D1) и геном тяжелой цепи иммуноглобулинов *IGH* на хромосоме 14q32 в результате t(11;14)(q13;q32) (рис.6) [47]. Более информативным методом детекции химерного гена *CCND1/IGH* является FISH исследование, позволяющее определить перестройку у 70-75% больных МКЛ, в то время как при рутинном цитогенетическом исследовании t(11;14) выявляется приблизительно у 6% пациентов [48].

Однако выполнение стандартного цитогенетического исследования у больных МКЛ позволяет обнаружить дополнительные хромосомные aberrации, среди которых, в первую очередь современные исследователи выделяют del(13q14), del(17p) и +12, а также комплексные нарушения кариотипа. Наличие хромосомных аномалий у пациентов с МКЛ, как правило, ассоциируется с плохим прогнозом заболевания. Вместе с этим, у больных с делецией 17p в кариотипе чаще наблюдается спленомегалия и лейкоцитоз.

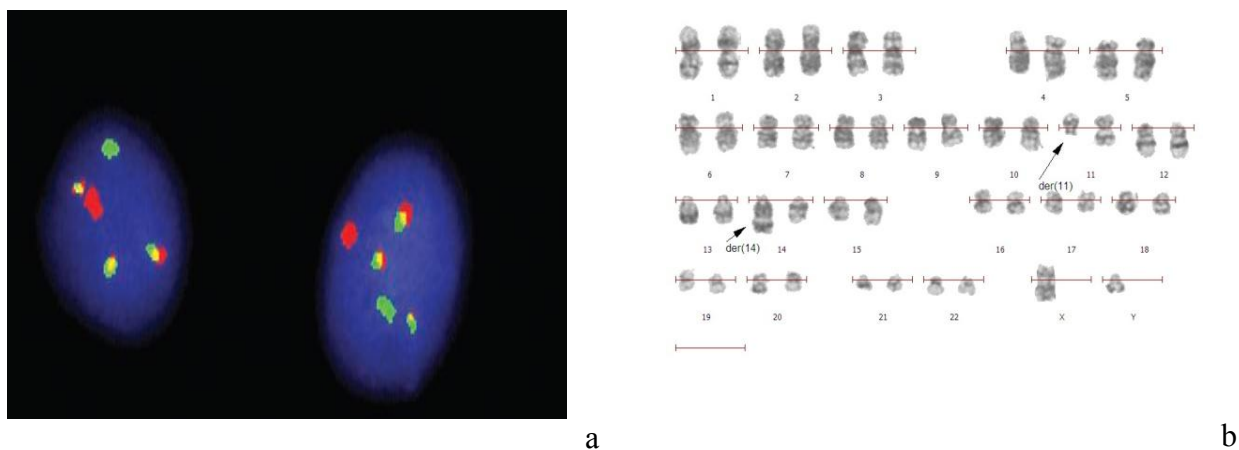


Рисунок 6 – FISH диагностика t(11;14)(q13;q32) (*CCND1/IGH*):
 а – сливной *CCND1/IGH* ген при FISH; б – кариограмма: 46,XY,t(14;18)(q13;q32)

Благодаря модифицированному стандартному цитогенетическому методу исследования в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России транслокация t(11;14)(q13;q32) была выявлена у 40% пациентов с МКЛ, в то время как при использовании FISH метода – у 80% больных.

1.1.2.2.5 Генетическая диагностика Double Hit лимфом

Double Hit лимфома (DHL) определяется сочетанием хромосомных локусов 8q24/*MYC* с другим локусами в повторяющихся точках: 18q21/*BCL2*, 3q27/*BCL6*, 11q13/*CCND1*. В последнее время DHL вызывают огромный интерес исследователей, что способствовало выделению этой группы лимфом в отдельную категорию лимфом в классификации ВОЗ (2008 г.), "Неклассифицируемая В-клеточная лимфома с промежуточными признаками диффузной В-крупноклеточной лимфомы и лимфомы Беркитта".

BCL2+/*MYC*+ DHL составляют основную часть данной категории лимфом (62%), в то время как *BCL6*+/*MYC*+ DHL встречаются относительно редко, всего в 8% случаев.

Triple Hit лимфомы, с участием трех генов: *MYC*, *BCL2* и *BCL6*, обнаруживаются в 16% всех случаев лимфом. *CCND1*⁺/*MYC*⁺ DHL составляют около 10% всех лимфом, из которых 5% принадлежит МКЛ [49].

В ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России у больных ДВККЛ и ФЛ (подтип 3b) генетические нарушения с вовлечением *BCL2* и *BCL6* выявлены не были. У части пациентов, наряду со специфическими хромосомными поломками, могут появляться дополнительные генетические аномалии, которые, как правило, носят вторичный характер.

Некоторые генетические аномалии имеют прогностическое значение, так у 12% пациентов ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России выявлен комплексный характер нарушений, а у 8,3% – *del(17p)/TP53*, что является самостоятельным неблагоприятным ПФ течения заболевания. По данным литературы *del(17p)/TP53* встречается в 10-15% случаев при ФЛ и МКЛ, реже при ЛМЗ и крайне редко при Т-НХЛ (*del(17p) in non-Hodgkin's lymphoma, Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology, <http://atlasgeneticsoncology.org/Anomalies/del17pNHLID2083>*). В ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России *del(17p)/TP53* FISH методом была выявлена у 2 больных (МКЛ и ЛМЗ (селезенки)). В настоящее время пациенты живы; средняя длительность общей выживаемости составила 12 и 30 месяцев соответственно.

Таким образом, включение генетических методов исследования в алгоритм обследования больных НХЛ в дебюте и динамике заболевания позволяет: дополнить представления о патогенетических механизмах формирования патологического клона при НХЛ и прогрессировании заболевания; определить частоту встречаемости и диагностическую значимость высокоспецифических и редких клональных генетических аббераций; определить прогностический потенциал хромосомных аббераций у больных различными НХЛ, достоверно осуществлять диагностику и мониторинг МОБ.

Метод многоцветной иммунофлуоресцентной проточной цитофлуориметрии в диагностике НХЛ

В основе метода МИФПЦ лежит проведение фотометрических и флуоресцентных измерений клеток в потоке жидкости лазерным лучом цитометра. Фотометрические каналы используются для оценки размеров клетки и ее гранулярности, что позволяет разделить все клеточные популяции лейкоцитов, а интенсивность флуоресценции – оценить экспрессию сразу нескольких маркеров на исследуемой популяции клеток. В своем исследовании иммунофенотипирование мононуклеарных клеток периферической крови и костного мозга проводили в пятицветном анализе на лазерном проточном цитофлуориметре «Cytomics FC 500» («Beckman Coulter», США) с использованием панели МКАТ («Beckman Coulter», США) к поверхностным дифференцировочным антигенам лимфоид-

ного ряда: CD45, CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD19, CD20, HLA-DR, CD38, CD79b, FMC7, CD22, CD23, CD5, конъюгированные с разными флуорохромами (FITC, PE, ECD, Pc-5, Pc-7).

Материалы и оборудование

- центрифуга лабораторная медицинская настольная с ротором ЦЛМН-Р10-01-«Элекон», ФЭР № гос. рег. 2008/02873 (ООО «Элекон», Россия);
- микроскоп биологический (лабораторный), ФС № гос. рег. 2005/314 (Leica Microsystems Weiziar GmbH, ФРГ);
- дозаторы пипеточные автоклавируемые с фиксированными и переменными объемами, ФС № гос. рег. 2007/01432 (ЗАО «Термофишер Сайентифик», Россия);
- наконечники полимерные к дозаторам пипеточным РП-«Термофишер Сайентифик», ФС № гос. рег. 2007/01431 (ЗАО «Термофишер Сайентифик», Россия);
- реагенты и расходные материалы для цитометрических исследований, ФС № гос. рег. 2005/1043 (Beckman Coulter Inc., Immunotech S.A.S., США, ФРГ, Франция);
- лазерный многоцветный проточный цитофлуориметр Cytomics FC 500 с принадлежностями, МЗ РФ № гос. рег. 2003/1665 («Beckman Coulter Inc.», США);
- станция пробоподготовки TQ-Prep для проточных цитофлуориметров, ФС № гос. рег. 2004/1010 («Beckman Coulter Inc.», США).

Методика

Для исследования использовали мононуклеарные клетки периферической крови и/или костного мозга (клетки костного мозга, полученного путем аспирационной биопсии, стабилизированного антикоагулянтом (гепарин, 25 Ед/мл), 2 раза отмывали фосфатно-солевым буфером в течение 10 мин при 1500 об/мин). В стандартные пластиковые пробирки объемом 5 мл для проточного цитометра вносили по 50 мкл клеточной взвеси периферической крови или костного мозга (по 50 мкл образцов цельной крови с антикоагулянтом). Туда же добавляли по 20 мкл МКАТ и инкубировали согласно прилагаемым к каждому реагенту инструкциям. Далее образцы подвергали лизису с помощью реагентов ImmunoPrep Reagent system, Beckman Coulter, США, используя автоматическую станцию пробоподготовки Beckman Coulter, США.

Исследование начинали с анализа данных распределения изучаемой клеточной популяции по каналам светорассеяния. Для корректного исключения из зоны анализа всех частиц, которые не соответствовали по размерам и гранулярности живым мононуклеарным клеткам, вводили необходимые логические ограничения в гистограммы распределения частиц по малоугловому, боковому светорассеянию. Выделение анализируемой кле-

точной популяции проводили под контролем экспрессии панлейкоцитарного антигена CD45, что позволяет максимально полно определить популяцию лимфоцитов и избежать захвата других клеток в анализируемую зону. Учет антиген-положительных клеток осуществляли, собирая не менее 10 000 событий в области мононуклеарных клеток.

Таким образом, можно констатировать, что верификация варианта злокачественной лимфомы требует проведения комплексной оценки опухолевой ткани различными методами, ни один из которых не может быть отвергнут только на основании того, что возможность его проведения отсутствует в лечебном/диагностическом центре. Создание референс-центра полного цикла для диагностики лимфоидных опухолей с включением лабораторий: морфологии, ИГХ, МИФПЦ, генетических и культуральных исследований позволит минимизировать возможность ошибки при установлении диагноза НХЛ. Окончательно сформированный второй этап алгоритма диагностики и лечения НХЛ «Определение варианта неходжкинской лимфомы» представлен ниже.

II этап – Определение варианта неходжкинской лимфомы

Цель: верификация морфологического варианта опухоли, определение иммунофенотипа опухолевой клетки, определение клональных и неспецифических повреждений генома.

Методы: цитологическое и гистологическое исследование опухолевого материала, полученного при биопсии лимфатического узла (пораженного органа или тканей), иммуногистохимические исследования, цитогенетические и молекулярно-генетические исследования, многоцветная иммунофлуоресцентная проточная цитофлуориметрия, культуральные исследования.

1.1.3 Определение стадии НХЛ (стадирование) – этап III

Определение распространенности опухолевого процесса в организме пациента является чрезвычайно важным для прогноза течения любого онкологического заболевания (в т.ч. злокачественных лимфом) и выбора метода терапии. Методы выявления пораженных опухолью органов и систем, последовательность их применения для определения стадии заболевания в соответствии с используемой стадирующей системой и составляют суть процесса стадирования. При НХЛ стадия заболевания является самостоятельным и достоверным ПФ течения лимфом, входящим в качестве важной составляющей при расчете ПИ для отдельных вариантов лимфоидных опухолей. Все это не исключает поиск новых ПФ и прогностических шкал, как в дополнение к общепризнанным стадирующим системам, так и в качестве альтернативы им [50].

Проведение стадирования при НХЛ включает в себя обязательное использование данных, полученных на I этапе алгоритма диагностики и лечения (объективный осмотр

пациента и лабораторные исследования), а также результатов основных (КТ/МРТ/ПЭТ-КТ, гистологическое исследование костного мозга) и дополнительных (цитологический анализ костного мозга и других биологических сред (спинномозговая, плевральная и асцитическая жидкость), ФЭГДС, ФКС, ультразвуковая диагностика, сцинтиграфия костей, биопсия тканей и органов) инструментальных методов выявления очагов опухолевого поражения, определение неспецифических опухолевых маркеров и ПФ.

Основой определения стадии НХЛ на сегодняшний день остается классификация Ann Arbor (1972 г.) в модификации Cotswold (1989 г.), представленная в виде таблицы ниже (таблица 1).

К I стадии относятся случаи с поражением одной группы лимфатических узлов (I) или локализованное поражение одного экстралимфатического органа (при отсутствии поражения лимфатических узлов (I_E)).

Стадия II характеризуется поражением двух или более групп лимфатических узлов по одну сторону от диафрагмы (II) или локализованным поражением одного экстралимфатического органа с поражением регионарных лимфатических узлов по ту же сторону от диафрагмы (II_E). Поражение других групп лимфатических узлов, в этом случае, необязательно, но если оно имеется, то они должны находиться по одну сторону от диафрагмы вместе с пораженным экстралимфатическим органом. Количество очагов поражения обозначается индексом, например, II₃.

Таблица 1 – Стадии злокачественных лимфом (*Ann Arbor'1972, Cotswold'1989*)

Стадия	Характеристика
I	Поражение одного региона лимфатических узлов или лимфоидной структуры (например, селезенка, тимус, лимфатическое глоточное кольцо Пирогова-Вальдейера)
II	Поражение двух или более регионов лимфатических узлов по одну сторону от диафрагмы
III	Поражение регионов лимфатических узлов или лимфоидных структур по обе стороны от диафрагмы
IV	Поражение экстранодального региона(-ов) не соответствующее условиям E, как указано ниже
<u>Для всех стадий</u> A B (достаточно одного признака)	Нет симптомов опухолевой интоксикации Лихорадка выше 38 °С не обусловленная другими причинами Профузные ночные поты со сменой постельного или нательного белья Потеря более 10% веса в течение 6 месяцев до постановки диагноза
<u>Для стадий I-III</u> E	Поражение одного экстранодального региона смежного («по контакту») или находящегося вблизи пораженного региона лимфатических узлов
X	Массивное (bulky) опухолевое поражение – очаг более 10 см в наибольшем размере или медиастинально-торакальный индекс более 1/3

При III стадии отмечается поражение лимфатических узлов по обе стороны от диафрагмы (III); локализованное поражение экстралимфатических органов по обе стороны от диафрагмы (без или с поражением лимфатических узлов) (III_E); поражение лимфатических узлов или локализованное поражение экстралимфатических органов по обе стороны от диафрагмы с одновременным поражением селезенки (III_S и III_{E,S} соответственно).

Стадия III может быть подразделена на III-1 (с или без поражения селезеночных, прикорневых, чревных или портальных лимфатических узлов) и III-2 (с поражением парааортальных, подвздошных, паховых или мезентериальных лимфатических узлов), что, в случае НХЛ, в отличие от лимфомы Ходжкина, не имеет прогностического значения.

Случаи диффузного или диссеминированного поражения одного или нескольких экстралимфатических органов с или без поражения лимфатических узлов (за исключением обозначаемых индексом E) или изолированного поражения экстралимфатического органа с поражением отдаленных (нерегионарных) лимфатических узлов относят к IV стадии.

Также как и поражение печени, костного мозга, плевры, ликвора и узелковое поражение легкого/легких – это всегда стадия IV.

Поражение лимфатических узлов на путях лимфотока от экстралимфатического органа должно рассматриваться как стадия II_E (например, лимфома вилочковой железы с поражением шейных лимфатических узлов).

Распространение поражения за пределы капсулы лимфатического узла с вовлечением прилежащего органа, также должно обозначаться индексом E, а не рассматриваться как стадия IV (например, поражение медиастинальных лимфатических узлов с прямым прорастанием в прилегающее легкое).

Сведения представленные в модификации позволяют однозначно трактовать отдельные клинические ситуации при НХЛ, которые не нашли своего отражения в первоначальном варианте стадирующей системы и содержатся, главным образом, в дополнениях и уточнениях.

1.1.3.1 Основные методы определения стадии НХЛ

Основными методами стадирования НХЛ служат:

рентгенологические методы:

- КТ с внутривенным и пероральным контрастированием;
- МРТ с внутривенным контрастированием;
- ПЭТ с ФДГ, совмещенная с КТ;

гистологическое исследование костного мозга на материале, полученном при трепанобиопсии подвздошной кости.

Подмена различных вариантов томографий методами ультразвуковой диагностики, рентгенографией, а так же определение поражения костного мозга на основании данных сцинтиграфии костей или цитологического анализа аспирата костного мозга недопустимы, т.к. приводят к системным ошибкам при определении стадии опухолевого процесса и результатов лечения, а, следовательно, способствуют выбору неправильного варианта терапии. Однако это не уменьшает значения дополнительных методов стадирования, которые при определенных локализациях поражения становятся в один ряд с основными.

Рентгенологические методы стадирования НХЛ

При постановке диагноза ни один из рентгенологических методов не имеет преимуществ по сравнению с двумя другими. Однако, каждый из методов имеет особенности своего применения в определенных клинических ситуациях и при различных локализациях опухолевого поражения. Так КТ имеет определенные преимущества при диагностике поражения костных структур и надпочечников, МРТ – при поражении центральной и периферической нервных систем. В тоже время нарушения функции почек и аллергические реакции на контрастные вещества ограничивают применение КТ, а наличие металла в организме пациента, что бывает не так редко, делает невозможным применение МРТ. ПЭТ-КТ не является методом выбора при диагностике даже в случаях типично накапливающих ФДГ вариантах НХЛ, однако, незаменим при сомнительной рентгенологической картине вовлечения в опухолевый процесс органов и тканей и невозможности проведения диагностической биопсии с гистологическим подтверждением лимфомного характера поражения.

В целом выбор рентгенологического метода остается за врачом, но для адекватного проведения стадирования НХЛ целесообразно придерживаться следующих принципов и правил проведения КТ/МРТ:

- «один пациент – один аппарат», что само по себе снижает риски, связанные с техническими особенностями различных моделей аппаратов;
- 4 области обследования: шея, грудь, живот, таз с определением верхней границы зоны сканирования по верхнему краю орбит, а нижней – по вершинам седалищных бугров;

- при подозрении на поражение нервной системы и отсутствии противопоказаний целесообразно проведение МРТ головы;
- толщина среза должна составлять не более 5 мм (для шеи оптимально – 3 мм);
- обязательное внутривенное, а в случае КТ и пероральное контрастирование;
- измерение всех групп увеличенных лимфатических узлов (2 наибольших взаимноперпендикулярных размера: длинная и короткая ось/диаметр) в соответствии с критериями *Cheson '1999 и '2007* (узлы более 1,5 см по длинной оси измерения или узлы более 1,0 см по короткой оси и фокальных (очаговых) поражений органов и тканей размерами более 1,0 см;
- определение размеров селезенки и печени;
- запись всего исследования на лазерный носитель (диск) для проведения экспертной оценки изображения, полученного при проведении КТ/МРТ/ПЭТ-КТ, в сложных случаях.

Методика проведения ПЭТ-КТ основана на совмещении двух методов: позитронно-эмиссионной и компьютерной томографий, когда анализируется визуальная картина аппаратного наложения двух изображений, соответствующих каждому методу исследования. В случае диагностированной НХЛ радиоизотопом служит ФДГ, а областью исследования – все тело. Использование ПЭТ-КТ предпочтительно лишь в случаях с вариантами НХЛ для которых характерен «захват» ФДГ, на сегодняшний день это ДВККЛ, МКЛ, ФЛ и Т-НХЛ. При других вариантах НХЛ метод ПЭТ-КТ с ФДГ может быть использован в клинических исследованиях с целью определения информативности метода.

Гистологическое исследование костного мозга для проведения стадирования НХЛ

Сама методика гистологического исследования костного мозга (световая микроскопия при окраске гематоксилин-эозином или азур-П-эозином, ИГХ анализ) для целей стадирования не отличается от таковой при диагностике НХЛ и описана выше (раздел 1.1.2.1). Необходимо отметить, что образец костного мозга получают при проведении, предпочтительно, билатеральной трепанобиопсии подвздошной кости (задне-верхняя ость крыла) [33]. Вовлечение в опухолевый процесс костного мозга определяется как IV стадия заболевания независимо от наличия других регионов поражения, что и определяет исключительную важность данной процедуры, существенно влияющей на выбор варианта терапии. Обычно заключение о наличии поражения костного мозга лимфомой основывается на данных световой микроскопии срезов препарата костного мозга, окрашенных гематоксилином-эозином/азур-П-эозином. Разрешение сомнительных случаев при наличии скопле-

ний лимфоидных элементов подозрительных на поражение лимфомой основывается на данных ИГХ исследования, проведение которого в этих ситуациях является обязательным.

Поражение костного мозга при индолентных НХЛ встречается у 2/3 пациентов уже на этапе первичной диагностики, в то время как при агрессивных – менее чем у 1/3 [5, 33]. При этом выделяют несколько типов поражения костного мозга НХЛ: фокальный, нодулярный, перитрабекулярный, интерстициальный, диффузный [33]. Тип поражения костного мозга при отдельных вариантах НХЛ может служить фактором прогноза. Обычно, диффузное поражение костного мозга НХЛ свидетельствует о неблагоприятном течении заболевания [5, 51].

1.1.3.2 Дополнительные методы определения стадии НХЛ

К дополнительным методам применяемым в процессе стадирования НХЛ относятся:

- цитологический анализ костного мозга (спинномозговой, плевральной и асцитической жидкостей) с использованием рутинных общеклинических методов и МИФПЦ с набором МКАТ, характеризующем первичный иммунофенотип лимфоидной опухоли;
- эндоскопические методы исследования ЖКТ – ФЭГДС, ФКС и бронхо-легочной системы – фибробронхоскопия с биопсией участка(-ов) подозрительных на лимфоидное поражение, бронхоальвеолярный лаваж;
- ультразвуковая диагностика, рентгенография, рентгеноскопия с биопсией тканей и органов под аппаратным контролем;
- другие, редко использующиеся методы.

Методика проведения цитологического исследования материала аспирационной биопсии костного мозга (миелограмма) при НХЛ не отличается от таковой при других нозологических формах заболеваний системы крови и костного мозга. Материал для цитологического анализа, как правило, получают в ходе проведения трепанобиопсии костного мозга (после ее завершения, для исключения «опустошения» костномозговых лакун) из задне-верхнего бугра крыльев подвздошных костей, реже, в качестве отдельной процедуры, при биопсии рукоятки или тела грудины (стерильная пункция) [33]. При трактовке результатов аспирационной биопсии костного мозга необходимо руководствоваться тем, что при отсутствии четко выраженной атипии лимфоидных элементов, признаком возможного поражения костного мозга лимфомой служит расширение лимфоидного ростка более 30%. Однако (повторяясь), стандартным методом диагностики вовлечения в опухо-

левый процесс костного мозга является гистологический с ИГХ исследованием (при сомнительных случаях) анализ трепанобиоптата. Исследование костного мозга методом МИФПЦ в совокупности с гистологическим и ИГХ анализом трепанобиоптата позволяет увеличить частоту выявления поражения костного мозга НХЛ и сформировать фенотип опухолевого клона (нередко отличного от фенотипа присутствующего в лимфатическом узле) для последующей оценки результата проведенного лечения и мониторинга МОБ.

Необходимость применения дополнительных эндоскопических методов стадирования определяется клинической симптоматикой (жалобы пациента и данные объективного осмотра), частотой экстранодальных поражений при отдельных вариантах НХЛ, а также наличием и локализацией очага(-ов) подозрительных на поражение лимфомой. При отсутствии клинической симптоматики дополнительные эндоскопические методы исследования обязательны при установлении стадии заболевания в случаях НХЛ, характеризующихся частотой экстранодальных поражений более 25% (например, поражение ЖКТ при МКЛ встречается более чем в 30%) [9], в остальных случаях проведение дополнительных исследований может носить рекомендательный характер. Обычно, эти исследования проводятся по общепринятым методикам с цитологическим и гистологическим (в т.ч. ИГХ) анализом опухолевой ткани, полученной при биопсии образования.

Обнаружение и верификация иммунофенотипа опухолевых клеток в спинномозговой, плевральной и асцитической жидкостях, а также жидкости бронхо-альвеолярного лаважа служит подтверждением поражения экстранодальных структур (ЦНС, плевры, брюшины, бронхов, соответственно). Являясь более точным методом, чем рутинное исследование физико-биохимических характеристик, изучаемых субстратов и их клеточного состава при световой микроскопии, МИФПЦ не отменяет проведение последних.

Ультразвуковая диагностика, рентгенологические и рентгеноскопические методы с повсеместным внедрением томографов с компьютерным анализом изображения все больше отходят на второй план и не заменяют такие методы как КТ, МРТ, ПЭТ-КТ на этапах стадирования НХЛ. Однако, они могут служить доступными методами мониторинга эффективности проводимой терапии, диагностики осложнений заболевания и сопутствующей патологии. Проведение биопсии тканей и органов под аппаратным контролем позволяют снизить радиологическую нагрузку, особенно при использовании аппаратов ультразвуковой диагностики. К редко использующимся дополнительным методам стадирования можно отнести сцинтиграфию костей скелета, диагностическую лапаротомию и торакоскопию, нижнюю прямую лимфографию и другие.

Таким образом, использование основных (обязательных) и дополнительных методов исследования в рамках стадирующей системы позволяют определить распространение

НХЛ в организме пациента в большинстве клинических случаев и ситуаций. Окончательно сформированный третий этап алгоритма диагностики и лечения НХЛ «Определение стадии неходжкинской лимфомы (стадирование)» представлен ниже.

III этап – Определение стадии неходжкинской лимфомы (стадирование)

Цель: определение распространения лимфомы в организме (стадии заболевания).

Методы: лучевая диагностика – компьютерная томография (магнитнорезонансная, позитронноэмиссионная, совмещенные позитронноэмиссионная и компьютерная); радионуклидные исследования, ультразвуковая томография, морфологическое и иммуногистохимическое исследования костного мозга (билатеральная трепанобиопсия, стеральная пункция, многоцветная иммунофлуоресцентная проточная цитофлуориметрия), люмбальная пункция.

1.1.4 Формирование окончательного диагноза НХЛ – этап IV

Окончательный диагноз НХЛ формируется на основании:

во-первых, данных комплекса гистологических исследований о варианте лимфоидной опухоли в соответствии с классификацией ВОЗ'2008, подтвержденных дополнительными методами верификации иммунофенотипа и генотипа опухоли;

во-вторых, данными стадирования в рамках стадирующей системы Ann Arbor (1972 г.) в модификации Cotswold (1989 г.).

Однако, на сегодняшний день признаками «хороших манер» при формировании окончательного диагноза служат:

- определение гистологического и генетического подтипа лимфомы;
- отражение клональных цито- и/или молекулярногенетических нарушений, в отдельных случаях определенных маркеров фенотипа опухолевой клетки;
- указание дополнительных (по отношению к стадии заболевания) индексов/факторов с доказанной прогностической ценностью (см. далее);
- данные риск-стратификации пациентов по различным лечебным группам (см. далее).

IV этап – ФОРМИРОВАНИЕ ОКОНЧАТЕЛЬНОГО ДИАГНОЗА НХЛ

Цель: окончательная диагностика варианта, стадии и прогноза неходжкинской лимфомы в соответствии с общепризнанными классифицирующими системами, и изложение информации о пациенте и его заболевании в максимально сжатой форме для создания преемственности между врачами различных специальностей.

Методы: анализ всей информации полученной на предыдущих этапах алгоритма.

1.2 ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ АЛГОРИТМА

1.2.1 Стратификация больных НХЛ – этап V

По нашему мнению, процесс стратификации пациентов на отдельные лечебные группы должен быть выделен в отдельный этап диагностического алгоритма НХЛ и следовать непосредственно за этапом формирования окончательного диагноза. При этом, информацию, связанную с прогнозом течения заболевания целесообразно отражать в формулировке самого диагноза. Стратификация пациентов формируется при построении прогностической модели течения НХЛ на основании общепринятых ПИ для различных вариантов лимфом и осуществляется до этапа определения цели лечения. Необходимые для стратификации и принятия решения о стратегии и тактике лечения пациента с НХЛ данные были получены на предшествующих этапах алгоритма (диагностическая часть). Основными факторами, помимо морфологического варианта НХЛ и стадии заболевания, влияющими на распределение больных в различные клинические группы обычно служат:

- возраст (I этап диагностического алгоритма);
- общесоматический статус (I этап);
- индекс коморбидности (I и II этапы);
- генетический подтип НХЛ, вне рамок общепринятой морфологической классификации (II этап);
- генетические аномалии;
- фенотип опухолевой клетки;
- ПИ и самостоятельные ПФ (I-V этапы).

Имеющиеся стратификационные системы достаточно четко разделяют пациентов с НХЛ на 2 большие группы: молодых (возраст менее 65 лет) и пожилых (возраст от 65 лет и старше). Однако, если при высокоагрессивных и агрессивных НХЛ возраст играет ведущую роль при планировании лечения и, в первую очередь, благодаря тому, что определяет возможность проведения аутологичной ТГСК, то при индолентных НХЛ возраст может иметь меньшее значение, чем общесоматический статус и индекс коморбидности. Морфологические подтипы отдельных видов НХЛ, прежде всего ДВККЛ, МКЛ и Т-НХЛ, позволяют включать в программы ХТ современные препараты с отличными от «классических» цитостатических средств механизмами действия и улучшающие результаты лечебного воздействия. Необходимо также отметить, что на современном этапе общий прогноз для В-клеточных НХЛ (В-НХЛ) благоприятнее, чем при возникновении у пациента лимфом из Т-клеточного и других ростков дифференцировки.

Эволюция данных, на которых строился прогноз течения НХЛ протекала в двух направлениях: во-первых, от отдельных факторов к ПИ (системам) и, во-вторых, от общих

ПФ и ПИ к специфическим, т.е. имеющим значение лишь при отдельных морфологических типах злокачественных лимфом. Все необходимые данные для завершения формирования прогностической модели течения того или иного морфологического варианта НХЛ могут быть получены не позднее III этапа диагностического алгоритма и, соответственно, должны быть включены в него, найдя отражение в структуре окончательного диагноза.

На современном этапе общепризнанными ПФ (исключая морфологический вариант и стадию заболевания) для большинства вариантов лимфом можно считать уровень в сыворотке крови общей ЛДГ, β -2-МГ, мочевой кислоты, альбумина и других биохимических маркеров, отражающих как общую опухолевую нагрузку, так и биологические свойства опухоли. Однако, большинство из перечисленных маркеров уступают в точности «предсказаний» ПИ, сформированным с их участием и имеющим общее (Международный прогностический индекс (PI)) и «узкоспециализированное» (PI для ФЛ (FLPI), PI для МКЛ (MIP) и др.) применение. ПИ и системы, построенные с использованием данных о возрасте больного, стадии заболевания, общесоматического статуса и дополненные одним или несколькими прогностическими маркерами нивелируют недостатки друг друга и повышают точность прогноза, особенно, применительно к отдельным вариантам НХЛ. В то же время, большинство генетических и иммунофенотипических факторов, отражающих генотипическую неоднородность морфологических вариантов лимфом, на сегодняшний день имеют преимущественно самостоятельное прогностическое значение.

Анализ использованных ПИ подтвердил их высокую прогностическую значимость для соответствующих морфологических вариантов НХЛ. Так ПИ PI, предложенный для ДВККЛ еще в 1993 г. остается актуальным и по настоящее время для большинства НХЛ не имеющих «своего» ПИ. Однако, значительные изменения результатов лечения связанные с введением в стандартные режимы ХТ МКАТ (ритуксимаб) заставили пересмотреть казавшиеся незыблемыми позиции.

Многолетний опыт использования ритуксимаба в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России для лечения В-НХЛ продемонстрировал увеличение ОВ. Так при агрессивных НХЛ 5-летняя ОВ в группе больных, лечившихся без ритуксимаба была ниже и составила 65% ($n = 34$), в группе с ритуксимабом – 81% ($n = 42$), однако на момент анализа различия статистически были недостоверны ($p = 0,33$). При этом медиана ОВ не достигнута в обеих группах (рис. 7а).

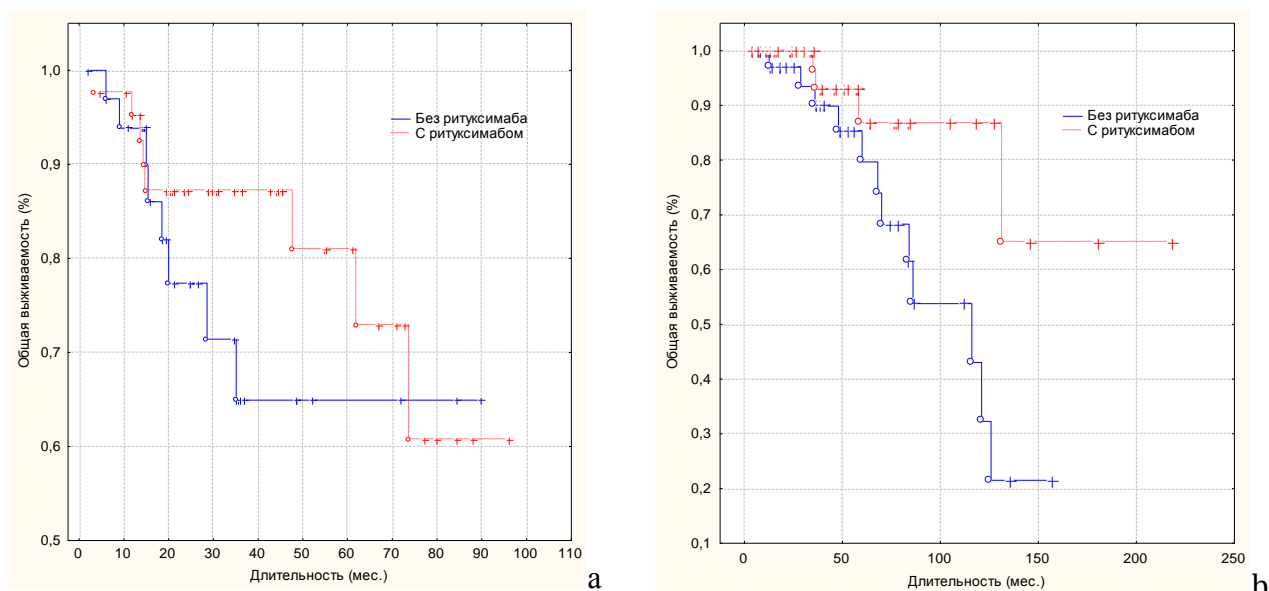


Рисунок 7 – Длительность ОВ больных НХЛ, получавших лечение с ритуксимабом и без: а – при агрессивных НХЛ; б – при индолентных НХЛ

При индолентных НХЛ различия в 10-летней ОВ носили статистически значимый характер между группами пациентов, лечившихся с ритуксимабами без него составил 86,7% (n = 48) (медиана ОВ не достигнута) и 43% (n = 38) (медиана ОВ – 116 мес.), соответственно (p = 0,02) (рис. 7b).

1.2.1.1 Прогностический индекс IP1

После внедрения в схему лечения пациентов с ДВККЛ комбинированной ХТ по программе СНОР результаты терапии улучшились. Однако, несмотря на это оставались пациенты, у которых эффект от лечения либо отсутствовал, либо был непродолжительным, что не соответствовало прогнозу, основанному на определении стадии заболевания. Эти обстоятельства послужили поводом для исследования различных факторов, влияющих на течение заболевания, приведших к тому, что в 1993 г. на основании данных о 2031 пациенте с ДВККЛ были определены ПФ и разработан ПИ – IP1, а для пациентов не старше 60 лет (1274 пациента) ПИ IP1 связанного с возрастом (aaIP1).

ПИ IP1 основан на ПФ, наличие каждого из которых оценивается в 1 балл:

- возраст старше 60 лет;
- стадия III-IV;
- общесоматический статус (ECOG) 2-4;
- уровень ЛДГ выше верхней границы нормы;
- количество экстранодальных областей поражений более 1.

Отсутствие фактора оценивается как 0 баллов. Сумма баллов определяет величину ПИ, результаты которого соотносятся с прогностическими данными представленными в таблице 2.

Таблица 2 – Прогностический индекс IPI (International Prognostic Index) [17]

Группа риска (количество баллов)	Частота встречаемости, %	ПР, %	2-летняя БПВ, мес	5-летняя БПВ, мес	2-летняя ОВ, мес	5-летняя ОВ, мес
Низкий риск (0-1)	35	87	79	70	84	73
Низкий промежуточный риск (2)	27	67	66	50	66	51
Высокий промежуточный риск (3)	22	55	59	49	54	43
Высокий риск (4-5)	16	44	58	40	34	26

В нашем исследовании определение IPI у 21 пациента с ДВККЛ выявило достоверное отличие от литературных данных лишь в случае группы пациентов низкого риска, что, вероятно, обусловлено поздней диагностикой заболевания:

- низкий риск (IPI 0-1) – 9,5% ($p < 0,05$);
- низкий промежуточный риск (IPI 2) – 28,6%;
- высокий промежуточный риск (IPI 3) – 33,3%;
- высокий риск (IPI 4-5) – 28,6%.

1.2.1.2 Прогностический индекс aaIPI

Большинство прогностических индексов неотъемлемым ПФ риска включают возраст пациента. Однако, существуют прогностические модели для строго определенных возрастных групп больных НХЛ. Так для больных ДВККЛ моложе 60 лет и являющихся кандидатами для проведения ТГСК нами был использован ПИ aaIPI связанный с возрастом пациента (60 лет и менее).

ПИ aaIPI основан на ПФ риска, наличие каждого из которых оценивается в 1 балл:

- стадия III-IV;
- общесоматический статус (ВОЗ) 2-4;
- уровень ЛДГ выше верхней границы нормы.

Отсутствие фактора оценивается как 0 баллов. Сумма баллов определяет величину прогностического индекса, результаты которого соотносятся с прогностическими данными представленными в таблице 3.

Таблица 3 –Прогностический индекс aaIPI (Age-Adjusted IPI) [17]

Группа риска (количество баллов)	Частота встречаемости, %	ПР, %	2-летняя БПВ, мес	5-летняя БПВ, мес	2-летняя ОВ, мес	5-летняя ОВ, мес
Низкий риск (0-1)	22	92	88	86	90	83
Низкий промежу-	32	78	74	66	79	69

точный риск (2)						
Высокий промежуточный риск (3)	32	57	62	53	59	46
Высокий риск (4-5)	14	46	61	58	37	32

1.2.1.3 Прогностический индекс пересмотренный IPI

В последние десятилетия результаты лечения пациентов с НХЛ улучшились. И, в первую очередь, это связано с включением в программы ХТ МКАТ. В связи с этим у больных изменился прогноз течения заболевания, что привело к исследованию новых ПФ течения заболевания и, соответственно, ПИ, так как предыдущие не соответствовали требованиям «эры»МКАТ.

Laurie H. Sehn с соав. проанализировали результаты лечения 365 пациентов с впервые диагностированной ДВККЛ по программе R-СНОР. Были оценены ОВ и беспрогрессивная выживаемость (БПВ). В результате был разработан новый ПИ пересмотренный IPI (R-IPI), выделяющий 3 группы пациентов: с очень хорошим, хорошим и плохим прогнозом. При этом ПФ, включенные в индекс, остались такими же, как для IPI.

ПИ R-IPI основан на ФР, наличие каждого из которых оценивается в 1 балл:

- возраст старше 60 лет;
- стадия III-IV;
- общесоматический статус (ВОЗ) 2-4;
- уровень ЛДГ выше верхней границы нормы;
- количество экстранодальных областей поражений более 1.

Отсутствие фактора оценивается как 0 баллов. Сумма баллов определяет величину прогностического индекса, результаты которого соотносятся с прогностическими данными представленными в таблице 4.

Таблица 4 – Прогностический индекс R-IPI (The revised IPI) [18]

Прогностическая группа (сумма баллов)	Частота встречаемости, %	4-летняя БПВ, мес	4-летняя ОВ, мес
Очень хороший прогноз (0)	10	94	94
Хороший прогноз (1-2)	45	80	79
Плохой прогноз (3-5)	45	53	55

Стратификация пациентов в соответствии с прогностическими группами шкалы R-IPI этих же пациентов с ДВККЛ (n = 21) дала следующие результаты:

- очень хороший прогноз (R-IPI 0) – 0%;
- хороший прогноз (R-IPI 1-2) – 38,1%;
- плохой прогноз (R-IPI 3-5) – 61,9%.

При этом одна часть пациентов с низким промежуточным риском (IPI 2) вошли в группу с хорошим прогнозом (R-IPI 1-2), а другая – в группу с плохим (R-IPI 3-5). В по-

следующем, результаты лечения пациентов с использованием ритуксимаба совпали с прогнозом, построенном на основе ПИ R-IPI.

1.2.1.4 Прогностический индекс FLIPI

Использование двух МПИ в случае индолентных ФЛ (FLIPI и FLIPI2) позволяет стратифицировать пациентов в соответствии с планируемым лечением – без или с ритуксимабом, соответственно, наглядно демонстрируя эволюцию ПИ, обусловленную появлением инновационных лекарственных препаратов.

ПИ FLIPI основан на ПФ риска, наличие каждого из которых оценивается в 1 балл:

- возраст старше 60 лет;
- стадия III-IV;
- уровень гемоглобина менее 120 г/л;
- уровень ЛДГ выше верхней границы нормы;
- количество нодальных областей поражения более 4.

Отсутствие фактора оценивается как 0 баллов. Сумма баллов определяет величину прогностического индекса, результаты которого соотносятся с прогностическими данными представленными в таблице 5.

Таблица 5 – Прогностический индекс FLIPI (Follicular Lymphoma IPI) [19]

Группа риска (количество баллов)	Частота встречаемости, %	5-летняя ОВ, мес
Низкий риск (0-1)	36	91
Промежуточный риск (2)	37	78
Высокий риск (3 и более)	27	52

Данные стратификации больных ФЛ в ФГБУ РосНИИГТФМБА России продемонстрировали, в очередной раз, свидетельства поздней диагностики заболевания, связанной прежде всего с поздней обращаемостью пациентов и отсутствием разработанных скрининговых процедур. Распределение по группам риска представлено ниже:

- низкий риск (FLIPI 0-1): 0.
- промежуточный риск (FLIPI 2): 10 (58,8%).
- высокий риск (FLIPI более 3): 7 (41,2%).

1.2.1.5 Прогностический индекс FLIPI2

На основании проспективного исследования, проведенного Massimo Federico, конечной точкой которого была оценка беспрогрессивной выживаемости 1093 больных с впервые диагностированной ФЛ были выявлены новые ПФ. Так в 2009 году на смену ПИ FLIPI был предложен – FLIPI2.

ПИ FLIPI2 основан на ПФ риска, наличие каждого из которых оценивается в 1 балл:

- возраст старше 60 лет;
- наличие поражения костного мозга;
- уровень гемоглобина менее 120 г/л;
- уровень β -2-микроглобулина выше верхней границы нормы;
- наличие лимфатического узла с диаметром более 6 см.

Отсутствие фактора оценивается как 0 баллов. Сумма баллов определяет величину прогностического индекса, результаты которого соотносятся с прогностическими данными представленными в таблице 6.

Таблица 6 – Прогностический индекс FLIPI2 (Follicular Lymphoma IPI 2) [20]

Группа риска (количество баллов)	Частота встречаемости (%)	3-летняя БПВ, мес	5-летняя БПВ, мес	3-летняя ОВ, мес	5-летняя ОВ, мес
Низкий риск (0-1)	20	91	79	99	98
Промежуточный риск (2)	53	69	51	96	88
Высокий риск (3 и более)	27	51	20	82	77

Определение FLIPI2 у 9 больных ФЛ, находящихся под наблюдением ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России и получавших лечение ритуксимабом, не выявило ни одного случая соответствующего критериям группы низкого риска. Распределение пациентов по остальным группам представлено ниже:

- промежуточный риск (FLIPI2 1-2): 66,7%;
- высокий риск (FLIPI2 более 3): 33,3%.

Один больной ФЛ, имевший высокий риск при оценке по шкале FLIPI2 мог быть стратифицирован в группу промежуточный риска (FLIPI), что могло послужить изменением стратегии его лечения. В остальных случаях ФЛ отмечено полное совпадение по группам риска.

1.2.1.6 Прогностический индекс MIPI

В связи с отсутствием ПИ для пациентов с МКЛ, группа авторов под руководством Eva Hoster, используя данные о 455 больных из 3 клинических исследований, рассмотрели прогностическую значимость IPI и FLIPI для этих пациентов и вывели новый ПИ для МКЛ – MIPI на данных об ОВ. IPI и FLIPI показали плохое разделение кривых выживаемости. Согласно MIPI, пациенты были разделены на группы низкого риска (44% пациентов, медиана ОВ не достигнута), промежуточного риска (35%, ОВ – 51 месяц) и группа высокого риска (21%, ОВ – 29 месяцев) на основе 4 независимых ПФ: возраст, общесоматический статус, уровень ЛДГ и количество лейкоцитов.

ПИ МІРІ полностью соответствовал требованиям для проведения стратификации пациентов в условиях использования инновационных лекарственных средств в лечении этого варианта агрессивной НХЛ. При этом, МІРІ требует наибольшего внимания и труда при его определении врачом, что, впрочем, оправдано целью. ПФ, вошедшие в систему ПИ МІРІ, и их рейтинговая оценка представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Значимость ПФ шкалы МІРІ (Mantle Cell Lymphoma IPI) [21]

Баллы	Возраст, лет	ЕСОG, баллы	Соотношение ЛДГ/верхняя граница нормы	Лейкоциты, 10 ⁹ /л
0	< 50	0-1	< 0,67	< 6,7
1	50-59	-	0,67-0,99	6,7-9,9
2	60-69	2-4	1,0-1,49	10,0-14,9
3	70 и старше	-	≥ 1,5	≥ 15,0

Сумма баллов определяет величину ПИ, результаты которого соотносятся с данными представленными в таблице 8.

Таблица 8 – Прогностический индекс МІРІ (Mantle Cell Lymphoma IPI) [21]

Группа риска (количество баллов)	Частота встречаемости, %	Медиана ОВ, мес.
Низкий риск (0-3)	44	Не достигнута
Промежуточный риск (4-5)	35	51
Высокий риск (>5)	21	29

Так же как и в случаях с другими МПИ проведенная нами стратификация 13 пациентов с МКЛ в соответствии с МІРІ продемонстрировала редкую встречаемость больных группы низкого риска, что обусловлено диагностикой большинства случаев НХЛ на поздних стадиях заболевания:

- низкий риск (МІРІ 0-3) – 15,4%;
- промежуточный риск (МІРІ 4-5) – 38,5%;
- высокий риск (МІРІ более 5) – 46,1%.

1.2.1.7 Прогностический индекс для Т-клеточных лимфом – РІТ

Т-НХЛ с периферическим фенотипом относится к агрессивным опухолям и составляют 7-10% от всех НХЛ. Несмотря на применение агрессивных программ терапии этот вариант лимфомы очень трудно поддается лечению. Группа итальянских ученых на основании анализа историй болезни 385 больных с Т-НХЛ получила данные о влиянии различных ПФ (возраст, общесоматический статус, наличие поражения костного мозга, уровень ЛДГ) на течение заболевания. Итогом работы стал ПИ для определения течения Т-НХЛ, дающий наиболее верный прогноз при Т-клеточной лимфоме с периферическим фенотипом.

ПИ РИТ основан на ПФ, наличие каждого из которых оценивается в 1 балл:

- возраст старше 60 лет;
- общесоматический статус (ECOG) 2-4;
- уровень ЛДГ выше верхней границы нормы;
- поражение костного мозга.

Отсутствие фактора оценивается как 0 баллов. Сумма баллов определяет величину прогностического индекса, результаты которого соотносятся с прогностическими данными представленными в таблице 9.

Таблица 9 – Прогностический индекс РИТ (Prognostic Index for T-cell lymphoma) [22]

Группа риска (количество баллов)	5-летняя ОВ, мес.	10-летняя ОВ, мес.
Группа 1 (0)	62,3	54,9
Группа 2 (1)	52,9	38,8
Группа 3 (2)	32,9	18,0
Группа 4 (3-4)	18,3	12,6

Стратифицированные по шкале РИТ 3 больных Т-НХЛ с периферическим фенотипом оказались во 2, 3 и 4 группах. Двум пациентам из 3 и 4 групп на основании неблагоприятного прогноза течения заболевания в качестве интенсифицирующей терапии была проведена аутологичная ТГСК, достигнута ПР и ЧР, соответственно. У пациентки 2 группы после индукционной терапии была достигнута ЧР, однако, в связи с возрастом старше 60 лет аутологичная ТГСК не проводилась. Безрецидивная выживаемость (БРВ) у пациентов после ТГСК составила 38 (случай не закончен) и 6 мес., соответственно, без ТГСК – 3 мес.

В случаях верификации других морфологических вариантов НХЛ для стратификации пациентов и построения прогноза до появления ПИ, соответствующего тому или иному варианту Т- или В-НХЛ, в качестве универсального может быть рекомендован ПИ IPI или R-IPI соответственно. Так, определение ПИ R-IPI продемонстрировало большую прогностическую ценность у 11 пациентов с индолентными В-НХЛ в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, чем IPI. При этом в группе пациентов с плохим прогнозом 4-летняя ОВ составила 50%, что соответствует литературным данным (55%) [9, 52].

Таким образом, современный алгоритм диагностики и лечения НХЛ предполагает на заключительном этапе диагностической и начальном этапе терапевтической частей алгоритма предоставление врачу результатов клинических и лабораторных исследований, морфологического варианта (или подтипа) лимфоидной опухоли, стадии заболевания, ПФ и ПИ, необходимых для стратификации пациента при дальнейшем планировании терапевтической стратегии и тактики и может быть представлен ниже.

V этап – Стратификация больных неходжкинскими лимфомами

Цель: определение прогноза течения неходжкинской лимфомы и распределение пациентов по группам риска неблагоприятного течения заболевания.

Методы: определение прогностических факторов имеющих самостоятельное значение, расчет универсальных и специфичных для определенных вариантов неходжкинских лимфом прогностических индексов.

1.2.2 Определение цели лечения НХЛ – этап VI

Переходя к части алгоритма, имеющего непосредственное отношение к лечению пациентов с НХЛ, хотелось бы заметить, что в современной онкологии существует несколько целей терапевтического этапа (последовательность представлена в соответствии с приоритетом):

- излечение (длительная, более 5-10 лет, БРВ, смерть от других причин), в случае НХЛ от 5 до 60 % при отдельных морфологических вариантах;
- увеличение ОВ;
- увеличение БРВ (БПВ) и/или улучшение качества жизни больного;
- избавление больного от симптомов связанных с заболеванием.

С точки зрения медицинской статистики (организации раковых регистров) рецидив онкологического заболевания, развившийся после временного интервала принятого в той или иной стране за длительную БРВ (в Российской Федерации это 5 лет) будет учтен как новый случай. При этом, излечение и увеличение ОВ, как правило, рассматриваются в виде единой цели лечения, объединенной общей терапевтической стратегией и тактикой.

Так же, по причине невозможности отдать приоритет той или иной цели в большинстве случаев онкологических заболеваний, единой стратегией и тактикой могут быть объединены и такие разные на первый взгляд параметры как БРВ и качество жизни больного. Один из них представляет объективную величину продолжительности ремиссии и абсолютно понятен клиницисту, а второй – интегральную субъективную оценку своего состояния больным – для большинства врачей употребляемый лишь в качестве термина, отражающего «виртуальную реальность». Учитывая, что качество жизни больного является одной из целей лечения, целесообразность вынесения его оценки в отдельный этап алгоритма по нашему мнению сомнителен, тем более, что в рамках надлежащей клинической практики заполнение опросника пациентом должно происходить вне контакта с врачом, а для трактовки результатов наличие медицинского образования и вовсе не обязательно. При этом, мы считаем необходимым проведение оценки качества жизни больных

НХЛ на этапах терапии, но специальными группами исследователей, в совершенстве владеющих данным методом, по согласованию с пациентом и его лечащим врачом.

При невозможности достижения охарактеризованных выше целей, единственной становится избавление больного от симптомов связанных с заболеванием. Эту задачу решает отдельное направление в лечении онкологических больных – паллиативная терапия.

Как и в жизни, достижение цели возможно различными средствами, так и в медицине максимальный терапевтический эффект может быть получен различными комбинациями и последовательностями применения основных методов лечения, к которым при НХЛ относятся:

- ХТ (лечение глюкокортикоидными гормонами, цитостатическими препаратами, МКАТ, таргетными препаратами с иным механизмом действия и др. биологическими препаратами);
- радиотерапия (дистанционная, брахитерапия, радиохирurgia, радиофармпрепаратами, др.);
- хирургическое лечение;
- биологическая терапия (вакцинация, генная терапия, адоптивная клеточная терапия).

Все эти методы могут быть использованы на различных этапах лечения, составляя уникальную для каждого пациента терапевтическую стратегию. Выбор же объема и варианта хирургического вмешательства, полей и доз облучения, комбинации химио- и био-препаратов, средств сопутствующего лечения определяет индивидуальную тактику лечения больного НХЛ. Тактические этапы лечения представлены вариантами терапий:

- индукционной;
- консолидирующей;
- интенсифицирующей, в т.ч. аутологичной ТГСК;
- поддерживающей.

Стратегия и тактика лечения могут и должны быть определены как для первичных случаев НХЛ (*de novo*), так и при развитии рефрактерных форм заболевания, возникновении рецидива или трансформации. Оценка результатов терапии на каждом лечебном этапе дает новые данные, позволяющие производить коррекцию стратегического планирования и тактики лечения, что приводит к началу новой линии терапии.

Линия терапии определяется как один или более цикл запланированной программы лечения в монорежиме, в виде комбинированной терапии или в виде последовательности запланированных вариантов лечения, не связанных с прогрессированием, рецидивом заболевания или токсичностью проводимой терапии. Например, запланированная индукцион-

ная терапия с последующей аутологичной ТГСК и проведением ПТ считается одной линией. Новая линия терапии начинается, когда запланированная программа терапии была модифицирована для использования других препаратов (одного или комбинации) вследствие прогрессирования/рецидива заболевания или в результате токсичности проводимой терапии. Новая линия терапии также начинается, когда заканчивается период наблюдения в связи с необходимостью начала дополнительного лечения заболевания [53].

Для наглядности и лучшего понимания используемых «военных» терминов позволим обратиться к трактовке Карла Клаузевица, по мнению которого ведение войны подразумевает два совершенно различных вида деятельности:

- организация отдельных боев и ведение их;
- увязка их с общей целью войны.

Первая называется тактикой, вторая — стратегией. Тактика нужна для того, чтобы выиграть битву. Стратегия нужна для того, чтобы выиграть войну, а лечение онкологического больного и есть не что иное, как война за жизнь.

Учитывая сложность и многообразие выбора целей, методов лечения и вариантов реализации каждого из них необходимо расширение количества этапов терапевтической части алгоритма для реализации принципа «простоты использования». Таким образом, VI этапом алгоритма является определение цели лечения больного НХЛ, который представлен ниже.

VI этап – Определение цели лечения НХЛ

Цель: определить достижимую цель лечения конкретного пациента с неходжкинской лимфомой на основании данных окончательного диагноза и стратификации, а также имеющихся терапевтических возможностей лечебного учреждения.

Методы: анализ клинической ситуации, данных о возможных результатах лечения и вероятности их достижения, предоставление полной информации, необходимой для принятия пациентом решения о цели его лечения на основании возможных рисков, связанных с ее достижением.

1.2.3 Стратегическое планирование лечения НХЛ – этап VII

Первичное стратегическое планирование лечения основывается на таких данных как:

- клиническая группа НХЛ, определяемая морфологическим вариантом опухоли;
- стадия заболевания, в т.ч. локализация экстранодальных поражений;
- возраст пациента;
- общесоматический статус и индекс коморбидности;

- самостоятельные ПФ риска;
- ПИ;
- доступность того или иного вида терапии;
- цель лечения.

В дальнейшем стратегия может быть скорректирована в любой момент на основании:

- данных обследования на каждом этапе лечения (полная или частичная ремиссия, рецидив/прогрессирование заболевания или рефрактерность к проводимому лечению);
- осложнений проводимой терапии;
- желания пациента продолжать следовать избранной стратегии лечения;
- появления новых методов лечения;
- других причин.

В любом случае первичное стратегическое планирование является «идеальной» моделью лечения, к реализации которой необходимо стремиться с максимальным приложением усилий, как со стороны медицинского персонала, так и пациента, а обоснованная коррекция лечебной стратегии приближает ее к «реальной» жизненной модели.

На основании диагностированного морфологического варианта НХЛ может быть отнесена к одной из клинических групп, не всегда соответствующей гистологической градации дифференцировки опухоли по классификации ВОЗ (2008 г.). Тактика лечения НХЛ, по-прежнему, основана на классификации REAL (Revised European American Lymphoma), в которой нозологические формы систематизированы в зависимости от степени агрессивности течения (длительности 5-летней ОВ) [2]. В классификации выделено 3 группы НХЛ: индолентные, агрессивные и высокоагрессивные.

В целом, стратегическое планирование лечения высокоагрессивных и агрессивных НХЛ строится на получении максимального результата на каждом тактическом этапе терапии – достижение полной ремиссии (ПР) заболевания, как шанс на излечение или увеличение ОВ. Меньший лечебный эффект (частичная ремиссия (ЧР), стабилизация заболевания (СЗ)) или его отсутствие требуют наращивания агрессии терапевтического режима вплоть до аутологичной и аллогенной ТГСК, пока не будут исчерпаны резервы медикаментозного воздействия или организма пациента. В противовес этому, целью лечения индолентных лимфом, большинство случаев которых отмечены у пациентов возрастной группы старше 65 лет и на поздних стадиях заболевания (поражение костного мозга у 70% пациентов), чаще всего является увеличение ОВ, иногда в ущерб достижению максимального промежуточного результата – ПР. Увеличение БРВ, времени до прогрессирования

заболевания и улучшение качества жизни остаются практически равноценными целями терапии таких больных при невозможности увеличения продолжительности ОВ.

Таким образом, стратегическое планирование всех клинических групп НХЛ схематично можно представить в виде последовательных терапевтических блоков (рис.8), которые для каждого морфологического варианта НХЛ и/или клинической группы будут различны по наполнению, т.е. по тактическим средствам достижения наиболее приемлемого эффекта на каждом этапе лечения (раздел 1.2.4) и могут быть подвергнуты коррекции после оценки эффективности терапии на любом из этапов.

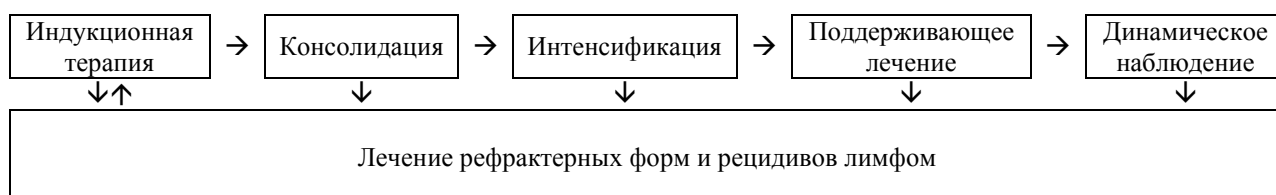


Рисунок 8 – Виды терапии (лечебные этапы) НХЛ

Окончательно сформированный седьмой этап алгоритма диагностики и лечения НХЛ «Стратегическое планирование лечения лимфомы» представлен ниже.

VII этап – Стратегическое планирование лечения НХЛ

Цель: определение последовательности использования различных методов терапии, соответствующих определенной и согласованной с пациентом цели лечения.

Методы: информирование пациента о достижимых целях лечения, консилиум под руководством врача-гематолога с привлечением при необходимости специалистов онкологического профиля (хирург-онколог, радиотерапевт и др.), консультации врачей иных специальностей (по показаниям).

1.2.4 Выбор варианта терапии НХЛ – этап VIII

На каждом тактическом этапе терапии могут быть использованы любые методы лечебного воздействия с доказанной максимальной эффективностью и минимальными рисками, подчиненные общей цели стратегического планирования. Для выбора метода лечения целесообразно придерживаться следующей схемы, где переход к каждому последующему этапу происходит только при отсутствии однозначных рекомендаций по варианту проводимой терапии на предшествующем (рис.9).

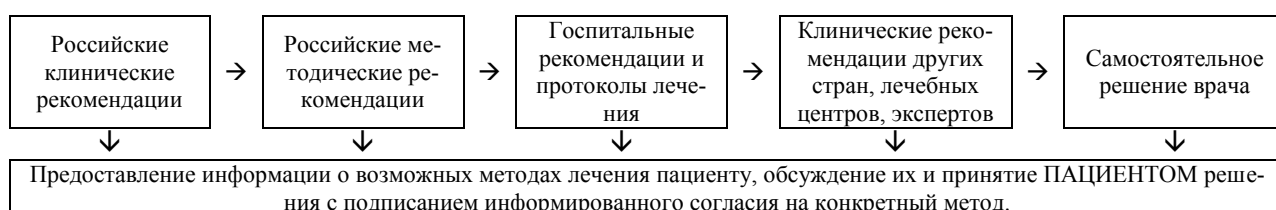


Рисунок 9 – Последовательность принятия решения о варианте терапии НХЛ

Вариант лечения пациента, принятый врачом на основании самостоятельного решения должен быть обоснован данными анализа имеющихся публикаций научных периодических изданий. Публикации, как потенциальные источники доказательств эффективности варианта терапии, должны соответствовать принципам доказательной медицины. При этом, уровень доказательности, присваиваемый публикации, при принятии решения должен стремиться к наивысшему (таблица 10).

1.2.4.1 Современные направления лекарственной терапии НХЛ

В данных методических рекомендациях подробно будут рассмотрены лишь варианты программ ХТ НХЛ с использованием современных лекарственных средств, а хирургические, радиологические и другие методы будут упомянуты в общем контексте лечения злокачественных лимфом.

Таблица 10 – Рейтинговые оценки уровня доказательности и силы рекомендаций

Уровень	Характеристика доказательств
I	Мета-анализы высокого качества, систематические обзоры рандомизированных контролируемых исследований (РКИ), или РКИ с очень низким риском систематических ошибок. Качественно проведенные мета-анализы, систематические обзоры или РКИ. Мета-анализы, систематические обзоры или РКИ с высоким риском систематических ошибок
II	Высококачественные систематические обзоры исследований «случай-контроль» или когортных исследований с отсутствием или очень низким риском эффектов смешивания, или систематических ошибок и высокой вероятностью причинной взаимосвязи.
III	Хорошо проведенные исследования «случай-контроль» или когортные исследования со средним риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи. Исследования «случай-контроль» или когортные исследования с высоким риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи.
IV	Не аналитические исследования (описания случаев, серий случаев).
V	Мнение экспертов.
Степень силы	Рекомендации основаны
A	По меньшей мере, на одном мета-анализе, систематическом обзоре или РКИ, оцененных как 1++, напрямую применимых к целевой популяции и демонстрирующих устойчивость результатов. или На группе доказательств, включающих результаты исследований, оцененных как 1+, напрямую применимых к целевой популяции, и демонстрирующих общую устойчивость результатов.
B	На группе доказательств, включающих результаты исследований, оцененных как 2++, напрямую применимых к целевой популяции и демонстрирующих общую устойчивость результатов. или На экстраполированных доказательствах из исследований, оцененных как 1++ или 1+
C	На группе доказательств, включающих результаты исследований, оцененных как 2+,

	напрямую применимых к целевой популяции и демонстрирующих общую устойчивость результатов. или На экстраполированных доказательствах из исследований, оцененных как 2++.
D	На доказательствах уровня 3 или 4 или На экстраполированных доказательствах из исследований, оцененных как 2+

Очевидно, что появление новых препаратов обусловлено неудовлетворенностью результатами терапии НХЛ и направлено на их улучшение. Современные тренды совершенствования программ медикаментозной терапии онкологических заболеваний включают:

- повышение эффективности терапии при использовании инновационных препаратов, их комбинаций между собой и со «стандартными» программами ХТ;
- уменьшение профиля токсичности отдельных препаратов и ХТ-режимов;
- новые пути доставки лекарственных средств в организм пациента и очаг поражения;
- широкое использование программ ХТ в рамках оказания амбулаторной помощи и стационар-замещающих технологий.

1.2.4.2 Инновационные лекарственные средства в терапии НХЛ

В своей практике мы использовали как хорошо знакомые препараты (ритуксимаб) в качестве лекарственного средства для современных стратегий лечения НХЛ, так и инновационные (бендамустин, бортезомиб, темсиролимус) препараты в варианте монотерапии и комбинаций между собой и с широко известными «классическими» цитостатиками.

1.2.4.3 Методика применения инновационных лекарственных средств

Методика применения бендамустина

Бендамустин (Bendamustinum, Ribomustin®) – противоопухолевый алкилирующий агент с уникальной химической структурой, содержащей бензимидазольное кольцо. Механизм действия бендамустина преимущественно связан с образованием перекрестных сшивок молекул одноцепочечной и двухцепочечной ДНК вследствие алкилирования. В результате этого нарушается матричная функция ДНК и её синтез. Существуют также данные о том, что бендамустин обладает дополнительными антиметаболическими свойствами (эффектом пуринового аналога).

Форма выпуска: порошок д/пригот. концентрата д/пригот. р-ра д/инф. 25 мг и 100 мг: фл.

Материалы и оборудование

- вытяжной шкаф типа ЛАБ-PRO ШВ 90.70(80).225 KG или «Медик-М-6 01.00»;
- спирт медицинский 70°;
- катетер периферический типа Vasofix® Certo 20G (1,1 x 33 мм) 61 мл/мин. или 22G (0,9 x 25 мм) 36 мл/мин;
- ондансетрон ампулы по 4 мг в 2 мл;
- дексаметазон 0,4% раствор в ампулах по 1 мл (4 мг);
- бендамустин флаконы по 100 мг;
- раствор натрия хлорида 0,9% – 500 мл;
- шприц одноразовый 20 мл с иглой для внутривенного введения;
- инфузионный насос типа Terufusion Pump TE-172 или Volumat MC Agilia;
- инфузионная система типа Интрафикс Праймлайн.

Методика

1. Осуществить постановку периферического венозного катетера для адекватного доступа к внутривенному введению.
2. За 30 минут до начала введения бендамустина (промежуточный риск эметогенной активности) последовательно для профилактики тошноты/рвоты внутривенно ввести: 8 мг ондансетрона и 12 мг дексаметазона.
3. В вытяжном шкафу содержимое каждого флакона бендамустина 100 мг развести в 40 мл воды для инъекций и встряхнуть до полного растворения. Экспозиция 5-10 минут. Полученный бесцветный прозрачный концентрат содержит 2,5 мг/мл бендамустина.
4. Необходимую (расчетную) дозу бендамустина растворить в 500 мл 0,9 % раствора натрия хлорида для инфузии. Полученный инфузионный раствор следует перемешать, переверачивая пластиковый контейнер для инфузий или флакон. Полученный раствор следует использовать в течение 8 ч (включая время инфузии 60 мин).
5. К пакету (флакону) с бендамустином подсоединить инфузионную систему и установить инфузионный насос.
6. С помощью прилагаемой к инфузионному насосу инструкции, выставить время введения бендамустина – 60 минут.
7. Проверить герметичность системы.
8. Соединить инфузионную систему с периферическим венозным катетером.
9. Произвести запуск инфузионного насоса.

10. После завершения инфузии отсоединить инфузионную систему от периферического катетера, продолжить выполнение назначений, связанных с внутривенным введением других препаратов.

Методика применения бортезомиба

Бортезомиб (Bortezomibum, Velcade®) – таргетный препарат, протеасомный ингибитор. Бортезомиб обратимо ингибирует химотрипсиноподобную активность протеасомы 26S, которая представляет собой крупный белковый комплекс, катализирующий расщепление основных белков и регулирующий их внутриклеточные концентрации. Так называемый «убиквитин-протеасомный путь» играет важную роль в регуляции уровня специфических белков, поддерживая таким образом гомеостаз внутри клеток млекопитающих. Ингибируя химотрипсиноподобное действие протеасомы 26S, бортезомиб вызывает торможение протеолиза, приводящего к сложному сигнальному каскаду внутри клетки, нарушение нормального клеточного гомеостаза и, возможно, апоптоз. Также бортезомиб подавляет ядерный фактор κB (NF-κB), за счет нарушения протеасомной деградации его ингибитора (I-κB), экспрессию циклина D1, нарушает функции белка p53.

Форма выпуска: порошок лиофил. д/пригот. р-ра 3,5 мг: фл.

Материалы и оборудование

- вытяжной шкаф типа ЛАБ-PRO ШВ 90.70(80).225 KG или «Медик-М-6 01.00»;
- спирт медицинский 70°;
- бортезомиб флаконы по 3,5 мг;
- шприц одноразовый 5 мл с иглой для внутривенного введения;
- шприц одноразовый 5 мл с иглой для подкожного введения.

Методика

Внутривенное введение

1. В вытяжном шкафу содержимое флакона бортезомиба 3,5 мг развести в 3,5 мл 0,9% раствора хлорида натрия и встряхнуть до полного растворения. Полученный концентрат содержит 1,0 мг/мл бортезомиба.
2. Набрать в шприц необходимое количество бортезомиба.
3. Ввести бортезомиб внутривенно болюсно.

Подкожное введение

1. В вытяжном шкафу содержимое флакона бортезомиба 3,5 мг развести в 1,4 мл 0,9% раствора хлорида натрия и встряхнуть до полного растворения. Полученный концентрат содержит 2,5 мг/мл бортезомиба;

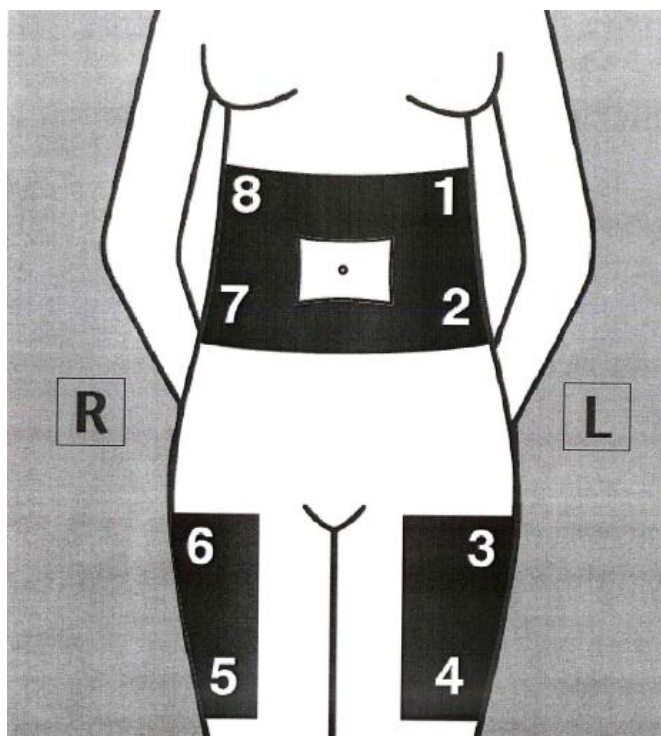


Рисунок 10 – Схема локализаций и порядок их использования для подкожного введения бортезомиба

2. Набрать в шприц с иглой для подкожного введения необходимое количество бортезомиба;
3. Ввести бортезомиб подкожно под углом 45-90° в область бедра (правое или левое) или живота (справа или слева), соблюдая последовательность мест введения препарата (рис.10).
4. Каждую последующую инъекцию бортезомиба следует вводить на расстоянии как минимум 2,5 см от места предыдущей инъекции. Нельзя вводить препарат в чувствительные области, поврежденные области (покраснения, синяки), а также в области, где введение иглы затруднено. В случае возникновения местных реакций в области п/к введения препарата можно использовать менее концентрированный раствор для п/к введения (1 мг/мл вместо 2,5 мг/мл – методика приготовления раствора аналогична при внутривенном введении).

Методика применения ритуксимаба

Ритуксимаб (Rituximab, MabThera®) – это синтетическое (генно-инженерное) химерное МКАТ мыши/человека, обладающее специфичностью к CD20 антигену, обнаруживаемому на поверхности нормальных и злокачественных В-лимфоцитов. По структуре ритуксимаб относится к иммуноглобулинам класса G1 (IgG1 каппа). Механизм антинеопластического действия ритуксимаба состоит в связывании его Fab-фрагмента с CD20-антигеном на лимфоцитах; в последующем, при участии Fc-домена, происходит инициация иммунологических реакций, опосредующих лизис В-клеток. Возможные механизмы клеточного лизиса включают комплементзависимую цитотоксичность и антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность. Показано также, что ритуксимаб индуцирует апоптоз в клетках линии DHL-4 человеческой В-клеточной лимфомы. Стандартным способом введения ритуксимаба является внутривенный в виде длительных инфузий в течение 4-6 часов.

Форма выпуска: раствор во флаконах по 100 мг/10 мл и 500 мг/50 мл.

Материалы и оборудование

- вытяжной шкаф типа ЛАБ-PRO ШВ 90.70(80).225 KG или «Медик-М-6 01.00»;
- спирт медицинский 70°;
- катетер периферический типа Vasofix® Certo 20G (1,1 x 33 мм) 61 мл/мин. или 22G (0,9 x 25 мм) 36 мл/мин;
- парацетамол таблетки 500 мг;
- дифенгидрамин 1% раствор в амп. по 1 мл (10 мг);
- омепразол флакон по 40 мг активного вещества;
- метилпреднизолон флакон по 250 мг;
- ритуксимаб флаконы по 500 и 100 мг;
- раствор натрия хлорида 0,9% – 500 мл;
- шприц одноразовый 20 мл с иглой для внутривенного введения;
- инфузионный насос типа Terufusion Pump TE-172 или Volumat MC Agilia;
- инфузионная система типа Интрафикс Праймлайн.

Методика

1. Осуществить постановку периферического венозного катетера для адекватного доступа к внутривенному введению.
2. За 1 час до начала введения ритуксимаба для профилактики реакций, связанных с введением препарата, дать пациенту принять внутрь 1000 мг (1 г) парацетамола.

3. За 30 минут до начала введения ритуксимаба последовательно для профилактики реакций, связанных с введением препарата, внутривенно ввести 30-50 мг (3-5 мл) раствора дифенгидрамина, 40 мг омепразола и 100 мг метилпреднизолона.
4. В вытяжном шкафу добавить необходимое количество ритуксимаба в пакет (флакон) 0,9 % раствора натрия хлорида для инфузии, до достижения концентрации препарата в диапазоне от 1 до 4 мг/мл.
5. Аккуратно перемешать содержимое пакета (флакона) путем переворачивания - не взбалтывать и не трясти. Полученный раствор следует использовать в течение 8 ч (включая время инфузии).
6. Проверить раствор на предмет наличия посторонних примесей или изменения окраски.
7. К пакету (флакону) с ритуксимабом подсоединить инфузионную систему и установить инфузионный насос.
8. С помощью прилагаемой к инфузионному насосу инструкции, выставить скорость введения ритуксимаба 50 мг/час.
9. Проверить герметичность системы.
10. Соединить инфузионную систему с периферическим венозным катетером.
11. Произвести запуск инфузионного насоса.
12. При отсутствии инфузионных осложнений повышать скорость введения на 50 мг/час каждые 30 минут до максимальной скорости 400 мг/час. При хорошей переносимости время повторного введения может быть сокращено до 2-3 часов.

Методика применения темсиролимуса

Темсиролимус (Temsirolimus, Torisel®) – противоопухолевый препарат, ингибитор протеинтирозинкиназы. Темсиролимус является селективным ингибитором фермента mTOR (mammalian Target of Rapamycin)-киназы. Темсиролимус связывается с внутриклеточным белком (FKBP-12), образуя комплекс белок-темсиролимус, который, связываясь с mTOR-киназой, подавляет активность этого фермента и опосредованно контролирует деление клеток. Ингибирование активности фермента mTOR приводит к прекращению роста в G1 фазе опухолевых клеток, в результате этого происходит селективное нарушение трансляции белков, регулирующих клеточный цикл, таких как циклины D-типа, с-Мyc и орнитиндекарбоксилаза. Темсиролимус проявляет свое действие в комплексе с белком FKBP-12 и mTOR-киназой. При связывании mTOR-киназы блокируется ее способность к фосфорилированию и контролю над активностью протеиновых факторов трансляции (4E-BP1 и S6K, оба "подчиняются" mTOR в P13-киназном/АКТ пути), контролирующих деле-

ние клетки. Помимо белков, регулирующих клеточный цикл, mTOR-киназа может регулировать трансляцию факторов, индуцируемых гипоксией (HIF): HIF-1 и HIF-2 альфа. Эти факторы транскрипции определяют способность опухолей адаптироваться к гипоксическим микросредам и продуцировать ангиогенный фактор сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF). Таким образом, противоопухолевый эффект темсиролимуса можно также объяснить его способностью снижать уровни HIF и VEGF в опухоли или опухолевой микросреде, что приводит к торможению развития кровеносных сосудов.

Форма выпуска: концентрат д/ин 25мг/мл 1.2мл, флаконы по 30 мг.

Материалы и оборудование

- вытяжной шкаф типа ЛАБ-PRO ШВ 90.70(80).225 KG или «Медик-М-6 01.00»;
- спирт медицинский 70°;
- катетер периферический типа Vasofix® Certo 20G (1,1 x 33 мм) 61 мл/мин. или 22G (0,9 x 25 мм) 36 мл/мин;
- темсиролимус флаконы по 30 мг;
- дифенгидрамин 1% раствор в амп. по 1 мл (10 мг);
- раствор натрия хлорида 0,9% – 250 мл;
- шприц одноразовый 20 мл с иглой для внутривенного введения;
- инфузионный насос типа Terufusion Pump TE-172 или Volumat MC Agilia;
- инфузионная система типа Интрафикс Праймлайн.

Методика

1. Осуществить постановку периферического венозного катетера для адекватного доступа к внутривенному введению.
2. За 30 минут до начала введения темсиролимуса для профилактики реакций, связанных с введением препарата, внутривенно ввести 30 мг (3 мл) раствора дифенгидрамина.
3. Все содержимое флакона темсиролимуса с растворителем (1,8 мл) добавить во флакон с концентратом (30 мг/1,2 мл). Концентрация темсиролимуса в полученном растворе составляет 10 мг/1 мл.
4. Флакон следует осторожно перевернуть (не встряхивать!), до получения гомогенного раствора без пузырьков воздуха. Раствор должен быть прозрачным или слегка мутноватым, бесцветным, светло-желтым или желтым, свободным от видимых механических включений.
5. Необходимый объем исходного раствора препарата, а именно 2,5 мл (25 мг темсиролимуса), следует добавить к 250 мл 0,9% раствора натрия хлорида.

6. Полученный инфузионный раствор следует перемешать, переворачивая пластиковый контейнер для инфузий или флакон, избегая чрезмерного встряхивания, т.к. это может вызвать образование пузырьков. Полученный раствор следует использовать в течение 6 ч (включая время инфузии 30-60 мин.).
7. К пакету (флакону) с темсиролимусом подсоединить инфузионную систему и установить инфузионный насос.
8. С помощью прилагаемой к инфузионному насосу инструкции, выставить время введения темсиролимуса – 60 минут (при повторном введении и хорошей переносимости время введения может быть сокращено до 30 мин.).
9. Проверить герметичность системы.
10. Соединить инфузионную систему с периферическим венозным катетером.
11. Произвести запуск инфузионного насоса.
12. После завершения инфузии отсоединить инфузионную систему от периферического катетера, продолжить выполнение назначений, связанных с внутривенным введением других препаратов.

1.2.4.4 Современные программы химиотерапии НХЛ

В ходе выполнения НИР нами были внедрены в практику клинического отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России инновационные методы лекарственного воздействия, отражающие все современные направления медикаментозной терапии и этапы стратегического планирования лечения НХЛ:

- монотерапия бендамустином индолентных НХЛ рефрактерных к ритуксимабу;
- комбинированная (бендамустин, ритуксимаб) индукционная терапия (1 линия) ФЛ и ЛМЛ;
- комбинированная (бендамустин, бортезомиб, ритуксимаб) индукционная терапия (2-3 линии) МКЛ;
- комбинированная (темсиролимус, ритуксимаб) индукционная терапия (2-3 линии) МКЛ;
- подкожное введение бортезомиба в рамках комбинированных программ ХТ с его использованием;
- поддерживающая терапия ритуксимабом при индолентных и агрессивных НХЛ.

Монотерапия бендамустином

Учитывая результаты исследования, в котором была доказана только частичная перекрестная резистентность бендамустина и других алкилирующих препаратов [54], его

применение в лечении рецидивирующих/рефрактерных индолентных НХЛ стало вполне обоснованным. Это предположение нашло свое подтверждение в нескольких исследованиях. Так Heider и др. при лечении пациентов, рефрактерных к ритуксимабу, достигли ПР у 11% пациентов, ЧР – 62%, СЗ – 10%. Длительность ответа сохранялась в течение 16 мес. Медиана ОВ составила 36 мес. [55].

В другом исследовании Bremer сообщил о лечении 62 пациентов с индолентными НХЛ. Частота общего ответа (ОО) составила 82%, средняя длительность ответа – 39 мес.

Jonathan W. Friedberg и др. доказали эффективность бендамустина в лечении ритуксимаб-рефрактерных (около 10% от всех НХЛ) индолентных и трансформированных лимфом. Частота ОО была 77%: ПР – 15%, неподтвержденная ПР – 19%, ЧР – 43% [56].

Эти исследования продемонстрировали высокую эффективность бендамустина в лечении рефрактерных/рецидивирующих индолентных НХЛ. Также была отмечена хорошая переносимость бендамустина и низкий профиль токсичности, что особенно важно при лечении пожилых пациентов.

В ФГБУ РосНИИГТФМБА России монотерапию бендамустином получили 2 пациента с индолентными НХЛ рефрактерными к ритуксимабу. Из них у первого констатирована ПР заболевания, сохраняющаяся в течение 2-х лет, а у второго – СЗ после 3 циклов (лечение продолжено).

Бендамустин 120 мг/м², внутривенно, в 1-й и 2-й дни цикла.

Длительность цикла 28 дней.

Всего проводится 6 (8) циклов.

В зависимости от токсичности доза бендамустина может редуцироваться до 90 мг/м² или 60 мг/м².

Протокол химиотерапии RB (ритуксимаб, бендамустин)

Стандартом лечения пациентов с ФЛ является применение ритуксимаб-содержащих программ. Наиболее часто используются программы R-CHOP, R-CVP, R-FCM. Эффективность этих программ продемонстрирована в многочисленных исследованиях [15, 57, 58].

Недавно M.J. Rummel и др. продемонстрировали преимущества ХТ по программе RB по сравнению с R-CHOP. Медиана БПВ была значительно выше в группе RB по сравнению с R-CHOP – 69,5 мес. против – 31,2 мес., соответственно.

Ритуксимаб 375 мг/м², внутривенно, в 1-й день цикла.

Бендамустин 90 мг/м², внутривенно, в 1-й и 2-й дни цикла.

Длительность цикла 28 дней.

Всего проводится 6 (8) циклов.

В зависимости от токсичности доза бендамустина может редуцироваться до 70 мг/м² или 50 мг/м².

Частота нейтропений, инфекционных осложнений, алопеций была статистически значимо выше в группе R-СНОР [16]. Это исследование продемонстрировало эффективность бендамустина и его низкий профиль токсичности.

По программе комбинированной ХТ RB в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России проведено индукционное лечение (1 линия) 3 пациентам с ФЛ (гистологический подтип 1 и 2). После завершения полной программы индукции у 2 пациентов констатирована ремиссия заболевания (ПР – 1, ЧР – 1). У 1 пациента ЧР достигнута после 4 циклов ХТ, лечение продолжено. Профиль токсичности соответствовал литературным данным.

Протокол химиотерапии RBV (ритуксимаб, бендамустин, бортезомиб)

Несмотря на то, что индолентные лимфомы имеют относительно благоприятное течение и медиану выживаемости приблизительно 7-10 лет, они остаются неизлечимыми и более чем у 50% пациентов рецидивируют в течение первых 5 лет. МКЛ, несмотря на зрелоклеточный характер опухоли, имеет агрессивное течение с медианой ОВ около 4 лет и 50% вероятностью развития рецидива в течение 2 лет после достижения ремиссии [9, 21]. Основная цель лечения пациентов с индолентными НХЛ состоит в увеличении продолжительности ОВ. Также, учитывая, что средний возраст пациентов страдающих данными формами НХЛ превышает 65 лет, проведение высокодозной ХТ и ТГСК связано с массой возможных ограничений (сопутствующие заболевания, риск развития осложнений выше предполагаемой пользы и т.п.). Таким образом, выбор программы лечения для пациентов с рецидивом индолентных лимфомы МКЛ остается весьма сложным и требует поиска новых решений.

Одним из таких решений является применение ингибитора протеасом бортезомиба, который доказал свою эффективность в монотерапии ФЛ и МКЛ [59-61]. Другим препаратом, успешно применяемым при лечении рецидивирующих/рефрактерных ФЛ, является бендамустин [56]. В ряде исследований было сообщено об эффективности комбинации бортезомиба или бендамустина с ритуксимабом при лечении индолентных НХЛ и МКЛ [62-65].

Ритуксимаб 375 мг/м², внутривенно, в 1-й день цикла.

Бендамустин 90 мг/м², внутривенно, в 1-й и 2-й дни цикла.

Бортезомиб $1,3 \text{ мг/м}^2$, внутривенно/подкожно – 1, 4, 8, и 11 дни цикла.

Длительность цикла 28 дней.

Всего проводится 6 (8) циклов.

В зависимости от токсичности доза бендамустина может редуцироваться до 70 мг/м^2 или 50 мг/м^2 .

Основываясь на результатах этих исследований N. Fowler с соавт. разработали программу ХТ с включением ритуксимаба, бендамустина и бортезомиба (RBB). В исследование было включено 63 пациента. Частота ОО составила 88% (ПР – 53%). Медиана БРВ составила 11,7 мес., медиана БПВ – 14,9 мес. [12].

По данной программе ХТ (RBB) нами проведена индукционная терапия (2-3 линии) 8 пациентам с рефрактерными формами и рецидивами НХЛ (МКЛ – 5 пациентов, ЛМЗ – 2 и ФЛ – 1). Частота ОО составила 75% (ПР достигнута у 2 пациентов, ЧР – 3, СЗ – 1), у 2 пациентов лечебный эффект достигнут не был. Достигнутый у 6 пациентов эффект сохраняется от 6 до 36 мес.

Протокол химиотерапии RT (ритуксимаб, темсиrolимус)

Еще одним новым препаратом для лечения рецидивирующих/рефрактерных МКЛ является темсиrolимус. Темсиrolимус является селективным ингибитором фермента mTOR-киназы (mammalian Target of Rapamycin), продемонстрировавшим свою эффективность в монорежиме в различных исследованиях [66-68].

Общий ответ при лечении рецидивов МКЛ ритуксимабом в монорежиме составлял 20-38% [69-71].

S.M. Ansell с соавт. сообщили о применении программы с включением ритуксимаба и темсиrolимуса для лечения рецидивирующих/рефрактерных МКЛ. В исследование был включен 71 пациент. Частота ОО составила 59,4% (ПР – 18,8%, ЧР – 40,6%). Частота ОО для ритуксимаб-чувствительных пациентов была 62,5%, а для ритуксимаб-рефрактерных – 52,4% [72].

Ритуксимаб 375 мг/м^2 , внутривенно, еженедельно, всего 8 введений с 1-го дня цикла.

Темсиrolимус 25 мг, внутривенно, еженедельно.

Длительность цикла 28 дней.

Плановое контрольное обследование после завершения 6 циклов лечения.

При достижении ЧР и более глубокого ответа планируемое количество циклов – 12.

Двум пациентам с рецидивирующими формами МКЛ проведено лечение комбинацией ритуксимаба и темсиролимуса в 3 и 4 линии терапии. У обоих достигнута ЧР, сохраняющаяся в течение 2 и 18 месяцев.

Поддерживающая терапия ритуксимабом

Несмотря на достаточно оптимистичные результаты терапии индолентных НХЛ, рано или поздно развивается прогрессирование/рецидив заболевания, поэтому наряду с основной целью лечения таких больных – увеличение ОВ идет борьба и за увеличение БПВ. В связи с этим были проведены многочисленные исследования для определения необходимости ПТ [73-75]. Во всех этих исследованиях была продемонстрирована эффективность и безопасность ПТ ритуксимабом.

Что касается вопроса о необходимости проведения ПТ пациентам с агрессивными лимфомами, то здесь до сих пор нет однозначного ответа. Тем не менее, появляется все больше сообщений, говорящих о ее преимуществе в различных прогностических группах больных [76-79].

Поддерживающая терапия при В-НХЛ в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России проводилась в варианте монотерапии ритуксимабом в дозе 375 мг/м² каждые 8 недель в течение 2 лет и более, через 4-12 недель после завершения индукционной терапии, консолидирующего лечения или интенсификации. В отдельных случаях ПТ использовался режим еженедельного (4-кратного) введения ритуксимаба в течение 1 месяца каждого квартала. Нами не было отмечено преимуществ ни одного из режимов. Так же не отмечен рост случаев неблагоприятных эффектов, связанных с введением препарата и, прежде всего, инфекционных осложнений и случаев вирусных инфекций.

Стратегия ПТ у больных НХЛ строилась на имеющихся убедительных данных необходимости ее проведения больным с ФЛ и МКЛ [80-82]. Показаниями для назначения ПТ пациентам с ДВККЛ служили возраст больных (старше 65 лет), невозможность проведения аутологичной ТГСК при развитии РЗ и неблагоприятный прогноз при проведении стратификации по шкале R-IP1 или IP1 (3-5 баллов). Все пациенты с индолентными лимфомами получали ПТ при достижении ПР или ЧР, за исключением группы МОБ-негативных пациентов с ПР. Выявление при мониторинге в последней группе пациентов МОБ в течение 1-го года динамического наблюдения служило показанием к началу ПТ.

ПТ ритуксимабом получали 63 пациента с НХЛ, находившиеся под наблюдением ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. Из них индолентные лимфомы были представлены 33 случаями заболевания (ФЛ – 18, ЛМЛ – 4, ЛМЗ – 11); агрессивные – 30 (МКЛ – 14, ДВККЛ – 16). Пятилетняя ОВ в группах больных индолентными НХЛ и агрессивными

НХЛ практически не различалась и составила 90,7% и 92,8%, соответственно, что позволяет считать целесообразным проведение ПТ у больных В-НХЛ (рис. 11а).

Анализ кривых ОВ показал преимущества стратегии лечения В-НХЛ с включением ПТ ритуксимабом (рис. 11б). Так 5-летняя ОВ при агрессивных В-клеточных лимфомах у пациентов, получавших ПТ ритуксимабом составила 93,2% против 70,8% в группе – без ПТ ($p = 0,03$). Аналогичные результаты 10-летней ОВ получены у пациентов с индолентными В-НХЛ – 90,7% и 43,9%, соответственно ($p = 0,06$).

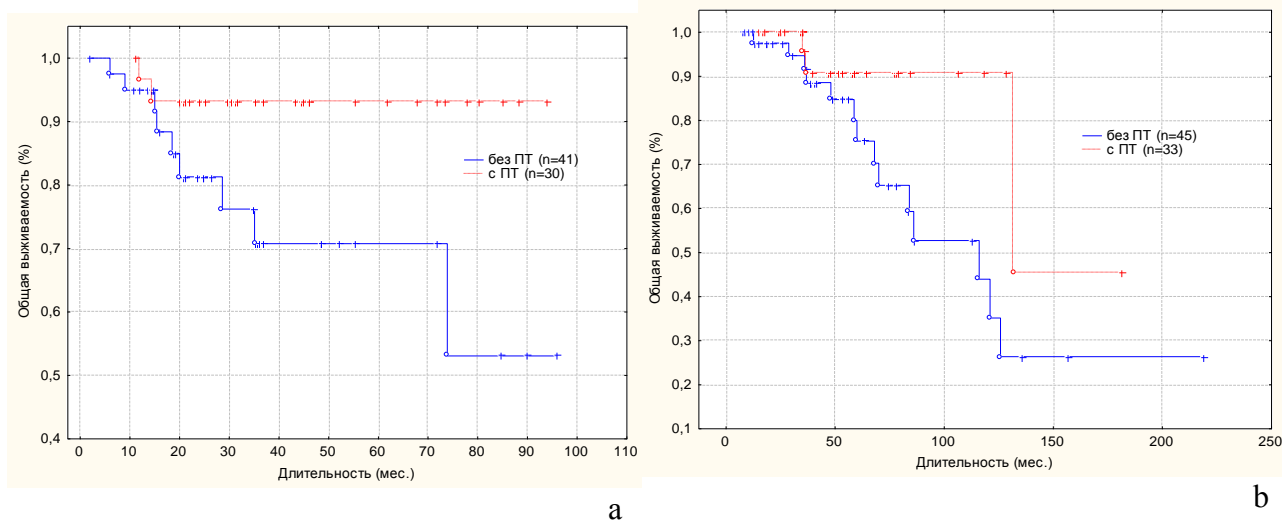


Рисунок 11 – Длительность ОВ больных В-НХЛ, получавших ПТ ритуксимабом и нет
а – при агрессивных НХЛ; б – при индолентных НХЛ

Таким образом, применение инновационных лекарственных препаратов, различных способов доставки средств терапии в очаг поражения, современных программ химиотерапии и построения стратегий терапии, без возрастания числа побочных эффектов позволяет улучшить результаты лечения НХЛ формируя VIII этап алгоритма «Выбор варианта терапии НХЛ».

VIII этап – Выбор варианта терапии НХЛ

Цель: определение метода лечения, отвечающего критериям получения максимальной эффективности с минимальными токсическими проявлениями и одобренного информированным согласием пациента.

Методы: информирование пациента о возможных вариантах лечения в рамках клинической практики определенной рекомендациями различного уровня; участие в клинических исследованиях.

1.2.5 Оценка эффективности терапии НХЛ – этап IX

Одним из «краеугольных камней» стратегии лечения НХЛ является оценка ответа на проведенное лечение. В литературе имеются данные о прогностическом значении эф-

фекта противоопухолевой ХТ, достигнутого после проведения 50% циклов индукционной ХТ (обычно 3-4 цикла). Однако, как представляется, значительно более важным является оценка достигнутого эффекта после всей программы индукции ремиссии (независимо от линии терапии) для решения вопроса о проведении консолидирующего лечения, ПТ или интенсификации, в т.ч. с проведением аутологичной ТГСК [9]. Обычно, для оценки эффективности ХТ применяют КТ/МРТ, при этом роль рутинных клинических исследований и более современных методов визуализации ПЭТ-КТ до конца не определена, а их использование не структурировано. С нашей точки зрения, использование схемы оценки эффективности лечения больных НХЛ, представленной ниже, оправдано и соответствует современным требованиям (рис. 12).

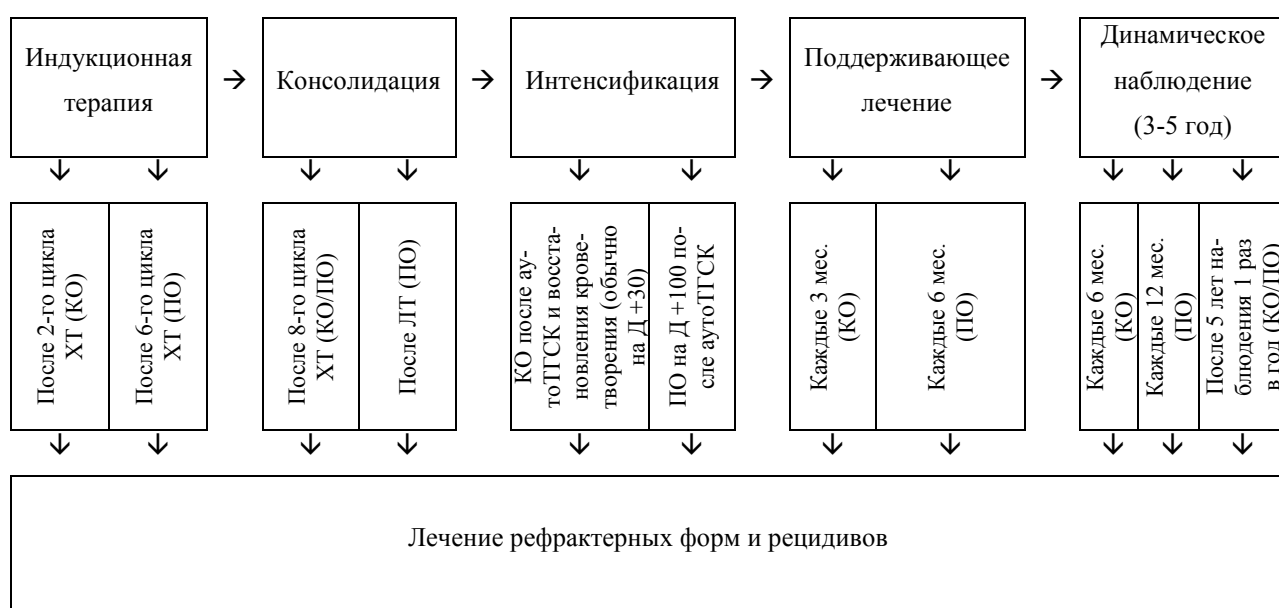


Рисунок 12 – Контрольные точки определения эффективности лечения НХЛ

1.2.5.1 Объем обследования больного НХЛ для определения эффективности терапии

Объем обследований для клинической оценки эффективности (КОЭ) терапии практически полностью соответствует I этапу диагностической части алгоритма касающейся первичного осмотра больного и включает в себя:

- физикальное обследование;
- клинические анализы крови и мочи;
- биохимические исследования крови (аланинаминотрансфераза, альбумин, аспаратаминотрансфераза, билирубин, гамма-глутаматтранспептидаза, глюкоза, калий, кальций, креатинин, мочевая кислота, натрий, общий азот мочевины, общий белок, щелочная фосфатаза, фибриноген, фосфор, хлориды, холестерин, CO₂);

- определение уровня системных опухолевых маркеров (β -2-МГ, ЛДГ и др.);
- рентгенография органов грудной клетки;
- ультразвуковое исследование брюшной полости, периферических лимфатических узлов;
- другие исследования по показаниям.

Обследование для полной оценки эффективности (ПОЭ) после проведенного лечения дополнительно к тем, которые используются на этапе КОЭ включает:

- рентгенологические методы (КТ, МРТ, ПЭТ, ПЭТ-КТ);
- гистологическое исследование костного мозга у пациентов с выявленным поражением на долечebном этапе;
- ИГХ исследование костного мозга при сомнительных результатах гистологического анализа для определения наличия лимфоидной инфильтрации;
- дополнительные методы, при которых были выявлены очаги лимфоидного поражения на III этапе диагностической части алгоритма «Стадирование неходжкинской лимфомы».

1.2.5.2 Сроки проведения контрольных исследований

Сроки проведения контрольных исследований определяются лечебной стратегией, избранной для исполнения врачом и пациентом, обычно, совпадают с лечебными этапами и служат основой для коррекции терапии. В рамках используемой рутинной клинической практики, в большинстве онкологических центров, КОЭ индукционной (противорецидивной) программы ХТ оценивают после 2 циклов и при отсутствии явных признаков прогрессии заболевания следующую оценку проводят после 3-4 циклов в объеме ПОЭ. Однако, несмотря на ценность получаемых при этом данных они, как правило, не вносят изменений в стратегию лечения при сохраняющейся клинической эффективности [9]. Поэтому, с клинических и экономических (стоимость рентгенологических и ИГХ методов по-прежнему высока) позиций 1-ю ПОЭ ХТ целесообразно проводить после завершения индукционного лечения, обычно это 6 циклов. По тем же соображениям, 2-ю и последующие ПОЭ проводят после завершения консолидирующего этапа терапии (2 дополнительных цикла ХТ по той же программе и/или лучевая терапия) и интенсификации (Д +100 после аутологичной ТГСК). При этом, КОЭ проводится после каждого метода терапии, используемого на этапе консолидации и на Д +30 после проведения аутологичной ТГСК. На фоне ПТ КОЭ проводится не реже 1 раза в 3 месяца и, как правило, совпадает с визитами пациента для проведения лечения, а ПОЭ – не реже 1 раза в полгода.

Необходимо отметить, что интервал между завершением предшествующего этапа лечения и началом следующего должен составлять не менее 4 недель, а начало консолидирующего этапа терапии и ПТ не должно выходить за рамки 8 недель от проведенной на предшествующем этапе ПОЭ терапии.

1.2.5.3 Критерии лечебных эффектов при НХЛ

Возможные варианты достигнутого лечебного эффекта при НХЛ определяются критериями, предложенными *Cheson* и соавт. в 1999 году [42] и модифицированными ими же с учетом возможности использования данных ПЭТ-КТ в 2007 г. [43]. В соответствии с имеющимися на сегодняшний день рекомендациями проведение ПЭТ-КТ целесообразно в следующих клинических ситуациях:

- оценка эффекта терапии проводится при вариантах НХЛ для которых характерно накопление ФДГ (ДВККЛ, Т-НХЛ, МКЛ, ФЛ);
- оценка эффекта терапии проводится больным НХЛ, стадирование которых на этапе первичной диагностики было проведено на основании данных ПЭТ-КТ.

При этом, на этапе обследования до лечения проводить ПЭТ или ПЭТ-КТ необязательно, даже при лимфомах для которых накопление ФДГ характерно. Однако, считается целесообразным использование одинаковых методов исследования у больных на протяжении всего периода наблюдения [43].

1.2.5.4 Оценка рентгенографического изображения

Для проведения оценки результатов рентгенологических исследований (КТ, МРТ, ПЭТ-КТ) необходимо использовать заключение специалиста по соответствующему диагностическому методу и ход самого исследования, записанный на цифровом диске в стандартном формате для консультаций с экспертами в сложных и неопределенных случаях.

КТ шеи, грудной и брюшной полости, таза (от верхнего края орбит до верхушек седалищных бугров) должна быть проведена с внутривенным и пероральным контрастированием. У пациентов, которые не переносят внутривенный контраст для КТ, сканирование может проводиться только с пероральным контрастом. Для проведения ПЭТ или ПЭТ-КТ всего тела используется ФДГ. КТ и ПЭТ предпочтительно выполнять при использовании комбинированного/двойного сканера ПЭТ-КТ.

Другие локализации заболевания могут оцениваться с применением радиологической визуализации, осмотра или других процедур (на всем протяжении исследования у пациента необходимо использовать один и тот же метод оценки).

Для оценки локализаций заболевания, не поддающихся адекватной визуализации с применением КТ, допустимо использование МРТ. В случаях, когда предпочтительна

МРТ, ее необходимо провести при исходной и всех последующих оценках. МРТ головного мозга и люмбальная пункция проводятся только при наличии клинических показаний, часто после консультации невропатолога.

1.2.5.5 Определение лимфатических узлов и пораженных областей подлежащих измерению и оценке

Для оценки эффективности терапии необходимо иметь как минимум 1 измеряемый, в соответствии с критериями *Cheson '1999, '2007*, очаг поражения, оцененный на этапе стадирования [42, 43]. Измерения выполняются в ходе радиологических исследований, а выбор очагов контрольной группы производится по данным исследования на этапе стадирования, т.е. до лечения. Отсутствие измеряемых очагов поражения (любым доступным методом исследования) делает оценку эффективности лечения, в соответствии с предложенными критериями, сомнительной.

Измеряемые очаги представлены лимфоузлами или экстранодальными (внеузловыми) лимфоидными поражениями. Измерение очагов поражения должно проводиться по двум перпендикулярным осям. По каждой оси выбирается максимальное значение – длинного и короткого измерений. Каждый измеряемый очаг должен превышать 1,5 см по длинной (продольной) оси или 1,0 см по короткой (поперечной) оси, и хорошо визуализироваться в 2 перпендикулярных проекциях. Экстранодальными очагами поражения считаются очаги более 1,0 см в длинном измерении. Другие очаги поражения принято считать подлежащими оценке, но неизмеряемыми.

Для адекватной оценки необходимы до 6 измеряемых очагов (контрольная группа) поражения (при отсутствии 6, оценивают все имеющиеся очаги). При большем, чем 6 очагов поражения выбор падает на наибольшие из разных анатомических областей. Причем, в эту группу обязательно должны быть включены внутриполостные лимфатические узлы (медиастинальные, мезентериальные, парааортальные). Также, целесообразно использовать измеряемые очаги поражения, расположенные вне лимфатических узлов (печень, селезенка, легкие и др.). Считается обоснованным включение в оценку всех измеряемых очагов.

Для каждого из выбранных измеряемых очагов определяется произведение диаметров (длинного и короткого), которые при сложении значений формируют сумму произведений диаметров (СПД) всех измеряемых очагов, избранных для оценки.

Неизмеряемыми очагами предположительно лимфоидного поражения являются объективные признаки заболевания, выявленные с помощью рентгенографического исследования, физикального исследования или других процедур (по показаниям), к которым относят: поражение костей, слизистой ЖКТ, выпот (плеврит, асцит, др.), утолщение плев-

ры или брюшины, стенки кишки, поражение костного мозга и группы лимфоузлов, оценка которых не может быть проведена по объективным причинам (не соответствуют критериям увеличенных узлов, не могут быть измерены).

1.2.5.6 Критерии ответа на терапию при НХЛ

В основе оценки эффективности терапии лежат критерии ответа на лечение неходжкинских лимфом, стандартизированные в ходе Международных совещаний и представленные ниже [43].

Полная ремиссия

Полное исчезновение всех выявляемых клинических и рентгенологических признаков заболевания и относящихся к заболеванию симптомов. Нормализация биохимических нарушений, имеющих отношение к лимфоме (например, ЛДГ, β -2-МГ и др.) и выявленных до начала терапии в настоящее время не является критерием, но несет ценную информацию для клинициста и может быть использована [42]. Нормальные размеры селезенки и печени и отсутствие в них патологических очагов. При этом, в ходе физикального обследования не целесообразно пальпировать селезенку и/или печень, если, согласно результатам КТ или физикального обследования, проведенных до начала терапии, органы считались увеличенными в размерах из-за поражения лимфомой. Другие органы, увеличение размера которых было выявлено до начала терапии (например, почки), также должны уменьшиться до нормальных размеров. Отсутствие признаков поражения костного мозга по данным гистологического и ИГХ исследований. Так же необходимо полное исчезновение всех других экстранодальных очагов заболевания.

При лимфомах, для которых характерно накопление ФДГ могут быть выявлены остаточные (резидуальные)очаги любых размеров, но они должны быть ПЭТ-негативны, т.е. не накапливать радиоизотоп.

При лимфомах, для которых не характерно накопление ФДГ, должна быть констатирована нормализация размеров лимфатических узлов по данным КТ:

- если до терапии лимфоузлы были более 1,5 см в длинном измерении, то должны стать 1,5 см и менее;
- если до терапии лимфоузлы были в длинном измерении 1,1-1,5 см и более 1 см в коротком, то должны стать 1 см и менее в коротком измерении.

В случае обнаружения лимфоидной инфильтрации костного мозга, невыявленной или неадекватно оцененной до лечения, необходимо подтвердить наличие поражения лимфомой на основании ретроспективного анализа аспирата и трепанобиоптата костного мозга.

Частичная ремиссия

Уменьшение СПД 6 выбранных контрольных очагов поражения не менее чем на 50% (остаточные массы могут быть ПЭТ-позитивными).

Отсутствие увеличения других лимфатических узлов, которые соответствуют критериям РЗ или ПЗ, размеров селезенки, печени других органов, связанных с прогрессированием лимфомы.

Регресс очагов поражения в селезенке и печени не менее чем на 50%.

Отсутствие новых очагов поражения.

При констатации ЧР состояние костного мозга не имеет значения. Пациенты относятся к достигшим ЧР в случае вовлечения в процесс костного мозга до начала терапии и достижения ПР (по данным рентгенологических исследований), но без проведенного исследования (гистологического и, при необходимости, ИГХ) для оценки состояния костного мозга после лечения.

Стабилизация заболевания

Стабилизация заболевания определяется как не достижение ЧР или ПР и отсутствие признаков РЗ/ПЗ (см. ниже).

Прогрессирование/рецидив заболевания (прогрессирование – после констатации ЧР и СЗ или рецидив – после ПР)

Неудачи в лечении всегда болезненны для восприятия пациента и врача, приводят к пересмотру терапевтической стратегии и тактики, но дают новую надежду. При этом важно иметь веские основания для констатации факта рецидива или прогрессии, а не руководствоваться эмоциями. Верификация ПЗ/РЗ основывается на признаках перечисленных ниже, причем достаточно наличия только одного из них:

- появление новых увеличенных лимфатических узлов более 1,5 см в любом измерении (повышение уровня накопления ФДГ в ранее не пораженных областях не должно рассматриваться как рецидив или прогрессирование без подтверждения другими методами);
- не менее чем 50% увеличение от надира (наименьшего значения) СПД ранее пораженных лимфатических узлов, одного узла или других очагов поражения (в селезенке, печени, других органах);
- не менее чем 50% увеличение длинного размера ранее определяемого лимфатического узла, который был более 1 см в коротком измерении;
- новые очаги должны быть ПЭТ-позитивны при лимфомах, для которых характерно накопление ФДГ, или если они были ПЭТ-позитивны до лечения, кроме очагов малого размера (менее 1,5 см).

Оценка экстранодальных поражений должна проводиться в соответствии с вышеописанными принципами оценки нодальных очагов. Если проведение ПЭТ-КТ невозможно, то оценка проводится по данным КТ. Следует помнить, что в данной шкале оценки отсутствует критерий «неподтвержденная ПР».

1.2.5.7 Вновь появившиеся очаги поражения

Вновь появившиеся лимфатические узлы (с минимального уровня 0 см x 0 см), измеряемые или не поддающиеся измерению; лимфоузлы, которые вновь увеличились до размеров более 1,5 x 1,0 см; явное повторное появление экстранодальных очагов (независимо от размера и возможности измерения) поражения следует расценивать как РЗ/ПЗ.

1.2.5.8 Определение положительного результата позитронно-эмиссионной томографии

Оценка результатов ПЭТ/ПЭТ-КТ основана на опубликованных критериях Juweid (2007 г.) [43]. Для определения, положителен ли результат, считается достаточным визуальной оценки, применение стандартизированных величин захвата не требуется. Положительный скан определяется как очаговый или диффузный захват ФДГ выше фонового уровня в участке, не сопоставимом с нормальной анатомической или физиологической структурой. Определенное стандартное пороговое значение захвата не задано. Необходимо исключить другие ложноположительные результаты сканирования. К исключениям относятся слабое и диффузное увеличение захвата ФДГ в проекциях объемных образований среднего и большого размера, интенсивность которых ниже или сопоставима со средостенным пулом крови, узлы в селезенке или печени размером 1,5 см с захватом ФДГ ниже, чем в окружающей ткани селезенки/печени, а также диффузное увеличение захвата ФДГ костным мозгом в течение нескольких недель после терапии.

1.2.5.9 Оценка костного мозга

Оценку костного мозга (трепанобиопсия и аспирационная биопсия) необходимо проводить до начала лечения. У пациентов с вовлечением костного мозга в опухолевый процесс необходимо повторять оценку во время ПР (предпочтительно в течение 30 дней после первоначальной констатации ПР и далее каждый год при сохраняющемся эффекте). Адекватная оценка костного мозга должна включать морфологическое исследование, а также ИГХ анализ, если он необходим для подтверждения наличия или отсутствия лимфоидного поражения. Если поражение костного мозга может быть подтверждено по данным оценки морфологической картины, проведение ИГХ не требуется. Определение опухолевого клонкостного мозга методом МИФПЦ на сегодняшний день не является доказа-

тельством его поражения. Однако, данные этого исследования помогают принять решение о необходимости и варианте постиндукционного лечения больных НХЛ [9, 10].

Таким образом, для оценки эффективности терапии целесообразно использовать систему *Cheson'2007* при всех НХЛ, стадированных с применением метода ПЭТ-КТ и обязательно в случаях лимфом характерно накапливающих ФДГ, а отсутствие возможности проведения ПЭТ-исследования в лечебном учреждении или регионе у этой категории пациентов не является веским основанием для оценки терапевтического эффекта по критериям *Cheson'1999*.

IX этап – Оценка эффективности терапии НХЛ

Цель: определение редукции опухоли для оценки достигнутого лечебного эффекта и коррекции терапевтических стратегии и тактики.

Методы: клинические, лабораторные и инструментальные в объеме необходимом для оценки очагов поражения, выявленных при первичной диагностике неходжкинской лимфомы, компьютерная (магнитнорезонансная) томография шеи, груди, живота, таза или позитронно-эмиссионная томография всего тела совмещенная с компьютерной для вариантов лимфом типично накапливающих 18-фтордезоксиглюкозу, трепанобиопсия и многоцветная иммунофлуоресцентная проточная цитометрия костного мозга в случае его поражении при первичной диагностике.

Допустимо использование критериев *Cheson'1999* для вариантов лимфом нетипично накапливающих ФДГ, независимо от рентгенологического метода примененного на этапе стадирования. При этом, необходимо заметить, что проведение совмещенного исследования ПЭТ-КТ экономически и клинически оправданнее, чем проведение двух исследований – КТ (МРТ) и ПЭТ. А окончательно сформированный девятый этап алгоритма диагностики и лечения НХЛ «Оценка эффективности терапии НХЛ» выглядит так, как представлено выше.

1.2.6 Оценка токсичности химиотерапевтического режима при НХЛ – этап X

Проведение ХТ у пациентов с НХЛ отражается не только в виде ответной реакции самой опухоли, но и в виде нежелательных побочных эффектов, отражающих токсическое влияние терапии на органы и системы, а также весь организм. Очевидно, что важен не только достигнутый противоопухолевый эффект, а и то, какой ценой он достигнут. Вообще, принятие решений о стратегии и тактике лечения онкологического больного основывается на оценке того, какие преимущества дает тот или иной метод терапии, и какие риски с этим связаны.

Оценка токсичности ХТ предполагает ее проведение перед каждым циклом и в межцикловой период в соответствии со сроками наступления максимальных токсических проявлений, определяемых фармакодинамикой и спектром токсичности используемых лекарственных препаратов (обычно на 11-22 дни цикла). Необходимый объем обследования определяется врачом на основании клинических, лабораторных и инструментальных данных, а также представлений о больном. Полученные данные соотносятся с Критериями токсичности по шкале NCI-CTCAE, в действующей на сегодняшний день версии 4.0 [83], для проведения редукции доз лекарственных средств вплоть до отмены препарата и/или изменения сроков поведения очередного цикла ХТ.

Для ряда токсических проявлений ХТ (например, тошнота и рвота, повышение уровня трансаминаз и билирубина, нейтропения) существуют режимы профилактики (противорвотные препараты) и лечения (гепатопротекторы, колоние-стимулирующие факторы), формирующие направление, так называемой, сопроводительной терапии. В большинстве случаев, использование арсенала средств сопроводительной и симптоматической терапии у больных НХЛ позволяет скорректировать негативные влияния ХТ на качество жизни больного и улучшить переносимость лечения.

Таким образом, для оценки эффективности терапии НХЛ важно знать не только уровень ответа со стороны злокачественной опухоли, но и цену, которую платит организм пациента за дальнейшую жизнь, что определяется на очередном этапе алгоритма «Оценка токсичности химиотерапевтического режима».

Х этап – Оценка токсичности химиотерапевтического режима при НХЛ

Цель: прогноз, оценка и мониторинг безопасности химиотерапии для пациента, коррекция стратегии и выбор тактики дальнейшего лечения злокачественной лимфомы.

Методы: клинические, лабораторные и инструментальные для оценки неблагоприятных эффектов химиотерапии в соответствии с Критериями токсичности по шкале NCI-CTCAE.

1.2.7 Динамическое наблюдение при НХЛ – этап XI

Достигнутый лечебный эффект настолько ценен для пациента и врача, что требует проведения постоянного динамического наблюдения и контроля (рис. 12). Учитывая цели данного этапа и закономерности течения НХЛ, признано целесообразным проведение КОЭ в первые 2 года наблюдения за пациентом после завершения программы лечения или на фоне ПТ не реже 1 раза в 3 месяца, ПОЭ – 1 раза в 6 месяцев. При этом, для часто рецидивирующих лимфом (например, МКЛ) или пациентов с высоким риском рецидива и плохим прогнозом при лимфоме Беркитта режим ПОЭ может быть сокращен до 1 раза в 3-4 месяца.

В течение 3-х последующих лет интервал между КОЭ составляет полгода, а ПОЭ – 1 год. Наблюдение после пяти лет регламентировано не так строго, и ПОЭ может проводиться по показаниям или, как и КОЭ 1 раз в год, но в любом случае, должно учитываться пожелание пациента.

Завершающий этап алгоритма «Динамическое наблюдение при НХЛ» представлен ниже и составляет важную и неотъемлемую часть лечения и наблюдения за больным НХЛ.

XI этап – Динамическое наблюдение при НХЛ

Цель: профилактика и раннее выявление рецидива/прогрессии заболевания, коррекция стратегии и выбор тактики дальнейшего лечения больных неходжкинскими лимфомами.

Методы: клинические, лабораторные и инструментальные в объеме необходимом для первичной диагностики лимфомы, в т.ч. повторная биопсия лимфатического узла (пораженного органа или ткани) – по показаниям.

Таким образом, на основании литературных и собственных данных, нами предложен алгоритм использования современных методов диагностики, позволяющий исключить риски, связанные с неадекватной и несвоевременной диагностикой неходжкинских лимфом, а также применения инновационных лекарственных препаратов при лимфоидных опухолях, дающий возможность значительно улучшить результаты лечения на основе прогностических шкал, методов интенсифицирующей, консолидирующей и поддерживающей терапии, динамического наблюдения за пациентами, следуя четким критериям оценки достигнутого лечебного эффекта.

Библиография

- [1] S.H. Swerdlow, E. Campo, N. Harris et al. WHO Classification of tumors. Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Pathology and Genetics. – Lyon: Lyon IARC Press, 2008. – 311 p.
- [2] A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project // *Blood*. – 1997. – Vol. 89. – P. 3909-3918.
- [3] Report of the committee on Hodgkin's disease staging classification / P. Carbone, H.S. Kaplan, K. Mushoff et al. // *Cancer Res*. – 1971. – Vol. 31. – P. 1860.
- [4] Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting / T.A. Lister, D. Crowther, S.B. Sutcliffe et al. // *J Clin Oncol*. – 1989. – Vol. 7. – P. 1630-1636.
- [5] Мельниченко В.Я. Неходжкинские лимфомы (клинико-лабораторные особенности, прогностические факторы, лечение): дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2003. – 318 с.
- [6] Современные представления об этиологии, патогенезе, диагностике и методах лечения первичной диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы центральной нервной системы / С.В. Волошин, Ю.А. Криволапов, А.В. Шмидт и др. // *Онкогематология*. – 2013. – Т. 2. – С. 8-21.
- [7] Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin 's lymphoma / R.I. Fisher, E.R. Gaynor, S. Dahlberg et al. // *N Engl J Med*. – 1993. – Vol. 328. – P. 1002-1006.
- [8] High-dose therapy improves progression-free survival and survival in relapsed follicular non-Hodgkin's lymphoma: results from the randomized European CUP trial / H.C. Schouten, W. Qian, S. Kvaloy et al. // *J Clin Oncol*. – 2003. – Vol. 21, N 21. – P. 3918-3927.
- [9] R. Marcus, J.W. Sweetenham, M.E. Williams. Lymphoma: pathology, diagnosis, and treatment. Second edition. – Cambridge: Cambridge medicine, 2014. – 312 p.
- [10] R. Hoffman, E.J. Benz, S.J. Shatil et al. Hematology: basis principles and practice. Fifth edition. – Philadelphia: Churchill Livingstone, 2009. – 2523 p.
- [11] V.T. DeVita, T.S. Lawrence, S.A. Rosenberg. Cancer: principles & practice of oncology. Eighth edition. Vol. 2. – Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008. – 1697 p.
- [12] Bortezomib, Bendamustine, and Rituximab in Patients with Relapsed or Refractory Follicular Lymphoma: The Phase II VERTICAL Study / Nathan Fowler, Brad S. Kahl, Peter Lee et al. // *J Clin Oncol*. – 2011. – Vol. 29. – P. 3389-3395.

[13] Lenalidomide can be safely combined with R-CHOP (R2CHOP) in the initial chemotherapy for aggressive B-cell lymphomas: phase I study / G.S. Nowakowski, B. Laplant, T.M. Habermann et al. // *Leukemia*. – 2011. – Vol. 25, N 12. – P. 1877-1881.

[14] CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma / B. Coiffier, E. Lepage, J. Briere et al. // *N Engl J Med*. – 2002. – Vol. 346. – P. 235-242.

[15] The addition of rituximab to a combination of fludarabine, cyclophosphamide, mitoxantrone (FCM) significantly increases the response rate and prolongs survival as compared with FCM alone in patients with relapsed and refractory follicular and mantle cell lymphomas: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group / R. Forstpointner, M. Dreyling, R. Repp et al. // *Blood*. – 2004. – Vol. 104, N 10. – P. 3064-3071.

[16] Bendamustine plus rituximab (B-R) versus CHOP plus rituximab (CHOP-R) as first-line treatment in patients with indolent and mantle cell lymphomas (MCL): Updated results from the StiL NHL1 study / M.J. Rummel, N. Niederle, G. Maschmeyer et al. // *J Clin Oncol*. – 2012. – Vol. 30. (suppl; abstr 3).

[17] A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project // *N Engl J Med*. – 1993. – Vol. 329, N 14. – P. 987-994.

[18] The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP / L.H. Sehn, B. Berry, M. Chhanabhai et al. // *Blood*. – 2007. – Vol. 109, N 5. – P. 1857-1861.

[19] Follicular Lymphoma International Prognostic Index / P. Solal-Céligny, P. Roy, P. Colombat et al. // *Blood*. – 2004, Sep 1. – Vol. 104, N 5. – P. 1258-1265.

[20] Follicular Lymphoma International Prognostic Index 2: A New Prognostic Index for Follicular Lymphoma Developed by the International Follicular Lymphoma Prognostic Factor Project / Massimo Federico, Monica Bellei, Luigi Marcheselli et al. // *JCO*. – 2009. – Vol. 27, N 27. – P. 4555-4562.

[21] A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma / E. Hoster, M. Dreyling, W. Klapper et al. // *Blood*. – 2008. – Vol. 111, N 2. – P. 558-565.

[22] Peripheral T-cell lymphoma unspecified (PTCL-U): a new prognostic model from a retrospective multicentric clinical study / A. Gallamini, C. Stelitano, R. Calvi et al. // *Intergruppo Italiano Linfomi. Blood*. – 2004. – Vol. 103, N 7. – P. 2474-2479.

- [23] Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray / C.P. Hans, D.D. Weisenburger, T.C. Greiner et al. // *Blood*. – 2004. – Vol. 103, N 1. – P. 275-282.
- [24] A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy / W. Choi, D.D. Weisenburger, T.C. Greiner et al. // *Clin Cancer Res*. – 2009. – Vol. 15. – P. 5494-5502.
- [25] Lossos I.S. Molecular pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma / I.S. Lossos // *Clin Oncol*. – 2005. – Vol. 23. – P. 6351-6357.
- [26] Interim report of phase II study of bortezomib plus CHOP every 2 weeks in patients with disseminated stage diffuse large B-cell lymphoma / J.E. Kim, D.H. Lee, S.I. Lee et al. // *Blood*. – 2009. – Vol. 114. (abstract 2688).
- [27] Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma / K. Dunleavy, S. Pittaluga, M.S. Czuczman et al. // *Blood*. – 2009. – Vol. 113, N 24. – P. 6069-6076.
- [28] Rapid prospective identification of non-germinal center B cell-like (GCB) diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) patients for targeted trials: early results from PYRAMID, a phase 2 randomized study of R-CHOP ± bortezomib in newly diagnosed non-GCB DLBCL / K. Doner, I.W. Flinn, B.K. Ulrich, et al. // *Blood*. – 2010. – Vol. 116. (abstract 1792).
- [29] Гематология: Новейший справочник / Под общ. ред. К.М. Абдулкадырова. – СПб.: Изд-во Сова, 2004. – 928 с.
- [30] Клиническая гематология: Руководство для врачей / Под ред. А.Н. Богданова и В.И. Мазурова. – СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2008. – 488 с.
- [31] М.А. Волкова. Клиническая онкогематология: Руководство для врачей. – М.: Медицина, 2001. – 587 с.
- [32] Gorczyca W. Cytogenetics, FISH and molecular testing in hematologic malignancies. – New York: Informa UK Ltd, 2008. – 334 p.
- [33] Криволапов Ю.А., Леенман Е.Е. Морфологическая диагностика лимфом – СПб.: КОСТА, 2006. – 208 с.
- [34] Wu D., Wood B.L., Fromm J. Flow cytometry for non-Hodgkin and classical Hodgkin lymphoma // *Methods Mol Biol*. – 2013. – Vol. 971. – P. 27-47.
- [35] Bulian P., Feruglio C. Non-Hodgkin Lymphomas: Advanced Diagnostics & Personalized Therapies // *Future Medicine Ltd*. – 2013. – P. 82-94.
- [36] Pre-transplant 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-based survival model in patients with aggressive lymphoma undergoing high-dose chemotherapy and au-

tologous SCT / S. Akhtar, A.S. Al-Sugair, M. Abouzied et al. // Bone Marrow Transplantation. – 2013. – Vol. 48. – P. 551-556.

[37] Hauptrock B., Hess B. Rituximab in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma // *Biologics: Targets & Therapy*. – 2008. – Vol. 2, N 4. – P. 619-633.

[38] How I treat CNS lymphomas / J.L. Rubenstein, N.K. Gupta, G.N. Mannis et al. // *Blood*. – 2013. – Vol. 122, N 14. – P. 2310-2330.

[39] CyberKnife Radiosurgery for the Treatment of Intraocular and Periocular Lymphoma / C. Bianciotto, C.L. Shields, S.E. Lally et al. // *Ophthalmol*. – 2010. – Vol. 128, N 12. – P. 1561-1567.

[40] TNM classification system for primary cutaneous lymphomas other than mycosis fungoides and Sézary syndrome: A proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the Cutaneous Lymphoma Task Force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC) / Y.H. Kim, R. Willemze, N. Pimpinell et al. // *Blood*. – 2007. – Vol. 110. – P. 479-484.

[41] R. Hoffman, E.J. Benz, S.J. Shatil et al. *Hematology: basis principles and practice*. Fifth edition. – Philadelphia: Churchill Livingstone, 2009. – 2523 p.

[42] Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group / B.D. Cheson, S.J. Horning, B. Coiffier et al. // *J Clin Oncol*. – 1999. – Vol. 17, N 4. – P. 1244.

[43] Bruce D. Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma // *Journal of Clinical Oncology*. – 2007. – Vol 25, N 5. – P. 579-586.

[44] The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma / A. Rosenwald, G. Wright, W.C. Chan et al. // *N Engl J Med*. – 2002. – Vol. 346, N 25. – P. 1937-1947.

[45] Seabright M. A rapid banding technique for human chromosome // *Lancet*. – 1971. – Vol. 2. – P. 970-975.

[46] Shaffer L.G. *ISCN: 2009: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*. Birth Defects: Orig. Articl. Ser, 2009.

[47] BCL-1 gene rearrangements in B-cell lymphoma / C. Ince, M. Blick, M. Lee et al. // *Leukemia*. – 1988. – Vol. 2. – P. 343-346.

[48] Cytogenetic Findings in Mantle Cell Lymphoma / M. Onciu, E. Schlette, L.J. Medeiros et al. // *Am J Clin Pathol*. – 2001. – Vol. 116. – P. 886-892.

[49] Double-hit B-cell lymphomas / S.M. Aukema, R. Siebert, E. Schuurin et al. // *Blood*. – 2011. – Vol. 117, N 8. – P. 762-765.

- [50] International Staging System for Multiple Myeloma / P.R. Greipp, J.S. Miguel, G.M. Durie et al. // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23, N 15. – P. 3412-3420.
- [51] Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1 / S.V. Rajkumar, J.L. Harousseau, B. Durie et al. // *Blood.* – 2011. – Vol. 117, N 18. – P. 4691-4695.
- [52] Bain B.J. Bone marrow trephine biopsy // *Clin Pathol.* – 2001. – Vol. 54. – P. 737–742.
- [53] Hainsword J.D. Maximising therapeutic benefit or rituximab: maintenance therapy versus re-treatment at progression in patients with indolent non-Hodgkin's lymphoma: phase II trial of the Minnie Pearl Cancer Research Network // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 1088-1095.
- [54] Bendamustine hydrochloride activity against doxorubicin-resistant human breast carcinoma cell lines / D. Strumberg, A. Harstrick, K. Doll et al. // *Anticancer Drugs.* – 1996. – Vol. 7. – P. 415-421.
- [55] Heider A., Niederle A. Efficacy and toxicity of bendamustine in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphomas // *Anticancer Drugs.* – 2001. – Vol. 12. – P. 725-729.
- [56] Bendamustine in Patients With Rituximab-Refractory Indolent and Transformed Non-Hodgkin's Lymphoma: Results From a Phase II Multicenter, Single-Agent Study / J.W. Friedberg, P. Cohen, L. Chen et al. // *J Clin Oncol.* – 2008. – Vol. 26. – P. 204-210.
- [57] Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group / W. Hidde-
mann, M. Kneba, M. Dreyling et al. // *Blood.* – 2005. – Vol. 106, N 12. – P. 3725-3732.
- [58] Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma / R. Marcus, K. Imrie, P. Solal-Celigny et al. // *J Clin Oncol.* – 2008. – Vol. 26, N 28. – P. 4579-4586.
- [59] VELCADE (bortezomib) for injection: Prescribing information. Millennium Pharmaceuticals, Cambridge, MA, December 2009.
- [60] Phase II study of proteasome inhibitor bortezomib in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma / A. Goy, A. Younes, P. McLaughlin et al. // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 667-675.

- [61] Phase II clinical experience with the novel proteasome inhibitor bortezomib in patients with indolent non-Hodgkin's lymphoma and mantle cell lymphoma / O.A. O'Connor, J. Wright, C. Moskowitz et al. // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 676-684.
- [62] A phase II trial of induction plus maintenance rituximab and bortezomib in patients with relapsed/refractory mantle cell (MCL) and follicular (FL) non-Hodgkin's lymphoma / K.A. Blum, R.A. Baiocchi, L. Alinari et al. // *Blood.* – 2008. – Vol. 112. (abstr 3053).
- [63] Multicenter randomized phase II study of weekly or twice-weekly bortezomib plus rituximab in patients with relapsed or refractory follicular or marginal-zone B-cell lymphoma / S. de Vos, A. Goy, S.R. Dakhil et al. // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – P. 5023-5030.
- [64] A phase 3 trial comparing bortezomib plus rituximab with rituximab alone in patients with relapsed, rituximabnaive or -sensitive, follicular lymphoma / B. Coiffier, E. Osmanov, X. Hong et al. // *Blood.* – 2010. – Vol. 116. – P. 373a-374a. (abstr 857).
- [65] Efficacy and safety of bendamustine and rituximab in the treatment of indolent and mantle cell lymphomas in older patients / M.J. Rummel, K. Heine, H. Bodenstein et al. // *J Clin Oncol.* – 2008. – Vol. 26. – P. 472. (suppl; abstr 8572)).
- [66] Phase II trial of single-agent temsirolimus (CCI-779) for relapsed mantle cell lymphoma / T.E. Witzig, S.M. Geyer, I. Ghobrial et al. // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 5347-5356.
- [67] Low-dose, single-agent temsirolimus for relapsed mantle cell lymphoma: a phase 2 trial in the North Central Cancer Treatment Group / S.M. Ansell, D.J. Inwards, K.M. Rowland et al. // *Cancer.* – 2008. – Vol. 113. – P. 508-514.
- [68] Phase III study to evaluate temsirolimus compared with investigator's choice therapy for the treatment of relapsed or refractory mantle cell lymphoma / G. Hess, R. Herbrecht, J. Romaguera et al. // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – P. 3822-3829.
- [69] European phase II study of rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) for patients with newly diagnosed mantle-cell lymphoma and previously treated mantle-cell lymphoma, immunocytoma, and small B-cell lymphocytic lymphoma / J.M. Foran, A.Z. Rohatiner, D. Cunningham et al. // *J Clin Oncol.* – 2000. – Vol. 18. – P. 317-324.
- [70] Effect of single-agent rituximab given at the standard schedule or as prolonged treatment in patients with mantle cell lymphoma: a study of the Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK) / M. Ghilmini, S.F. Schmitz, S. Cogliatti et al. // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 705-711.
- [71] Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma: a multicenter phase II study / B. Coiffier, C. Haioun, N. Ketterer et al. // *Blood.* – 1998. – Vol. 92. – P. 1927-1932.

[72] Temsirolimus and rituximab in patients with relapsed or refractory mantle cell lymphoma: a phase 2 study / S.M. Ansell, H. Tang, P.J. Kurtin et al. // *Lancet Oncol.* – 2011. – Vol. 12, N 4. – P. 361-368.

[73] Maintenance rituximab after cyclophosphamide, vincristine, and prednisone prolongs progression-free survival in advanced indolent lymphoma: results of the randomized phase III ECOG1496 Study / H. Hochster, E. Weller, R.D. Gascoyne et al. // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – P. 1607-1614.

[74] Front-Line Therapy with Rituximab, Cyclophosphamide, Vincristine, and Prednisone (R-CVP) Followed by 2 Years of Rituximab Maintenance for Follicular Lymphoma (FL) Is Associated with Excellent Outcomes and Improved Progression-Free Survival (PFS) In Comparison to No Maintenance / I. Moccia, R. Klasa, K. Savage et al. // *Blood (Meeting abstracts).* – 2010. – Vol. 116. – P. 1803.

[75] Bendamustine Plus Rituximab vs Fludarabine Plus Rituximab In Patients with Relapsed Follicular, Indolent and Mantle Cell Lymphomas – Final Results of the Randomized Phase III Study NHL 2-2003 on Behalf of the StiL (Study Group Indolent Lymphomas, Germany) / M.J. Rummel, C. Balsler, M.B. Stauch, et al. // *Blood (Meeting abstracts).* – 2010. – Vol. 116. – P. 856.

[76] Rituximab-CHOP Versus CHOP Alone or With Maintenance Rituximab in Older Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma / T.M. Habermann, E.A. Weller, V.A. Morrison et al. // *J Clin Oncol.* – 2006. – Vol. 24, N 19. – P. 3121-3127.

[77] R-ICE versus R-DHAP in relapsed patients with CD20 diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) followed by stem cell transplantation and maintenance treatment with rituximab or not: first interim analysis on 200 patients / C. Giesselbrecht, N. Schmitz, N. Mounier et al. // *CORAL study. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts).* – 2007. – Vol. 110. – P. 517.

[78] Maintenance rituximab versus observation after R-CHOP or R-EPOCH in patients with untreated poor-prognosis diffuse large B-cell lymphoma and grade III follicular lymphoma / Y. Li, Z. Xia, S. Li et al. // *J Clin Oncol.* – 2010. – Vol. 28 (Suppl 15s, Abstract 8084).

[79] Rituximab Maintenance Significantly Prolongs Event Free (EFS) and Progression Free Survival (PFS) In Male Patients With Aggressive B-Cell Lymphoma In The NHL13 Study/ U. Jaeger, M. Trneny, H. Melzer et al. // *Blood.* – 2013. – Vol. 122, N 21. (abstract 851).

[80] Rituximab maintenance treatment of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin's lymphoma: long-term outcome of the EORTC 20981 phase III randomized intergroup study / M.H. van Oers, M. van Glabbeke, L. Giurgea et al. // *J Clin Oncol.* – 2010. – Vol. 28. – P. 2853-2858.

[81] Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumor burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomized controlled trial / G. Salles, J.F. Seymour, F.Offner et al. // *Lancet*. – 2011. – Vol. 377. – P. 42-51.

[82] Maintenance therapy with rituximab leads to a significant prolongation of response duration after salvage therapy with a combination of rituximab, fludarabine, cyclophosphamide and mitoxantrone (R-FCM) in patients with relapsed and refractory follicular and mantle cell lymphomas - results of a prospective randomized study of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG) / R. Forstpointner, M. Unterhalt, M. Dreyling et al. // *Blood*. – 2006. – Vol. 108. – P. 4003-4008.

[83] Common terminology criteria for adverse events. Version 4.0. National Cancer Institute, 2009. – 194 p.