

ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ МІЄЛОЇДНУ ЛЕЙКЕМІЮ

I.P. Гартовська¹, С.А. Гусєва²

¹Київський обласний онкологічний диспансер

²Київська медична академія післядипломної освіти

Резюме. В статті наведені літературні дані та власні результати по застосуванню інтерферону альфа в лікуванні хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію.

Ключові слова: хронічна мієлоїдна лейкемія, імунотерапія, інтерферон.

ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ МИЕЛОИДНОЙ ЛЕЙКЕМИЕЙ

I.P. Гартовская, С.А. Гусева

Резюме. В статье приведены литературные данные и собственные результаты по использованию интерферона альфа в лечении больных хронической миелоидной лейкемией.

Ключевые слова: хроническая миелоидная лейкемия, иммунотерапия, интерферон.

TREATMENT OF THE PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKAEMIA

I.R. Gartovska, S.A. Guseva

Summary. In the article the review of the literature and our results on application of interferon alpha in treatment chronic myeloid leukaemia is submitted.

Key words: a chronic myeloid leukaemia, immunotherapy, interferon.

Адреса для листування: Гартовська Ірина Радомирівна
030107, м. Київ, вул. Багговутівська, 1 Київський обласний онкологічний диспансер.
Гусєва Світлана Анатоліївна 030107, м. Київ, вул. Багговутівська, 1,
Кафедра гематології і трансфузіології КМАПО ім. П.Л. Шупика

Хронічну мієлоїдну лейкемію (ХМЛ) відносять до групи мієлопроліферативних захворювань. Це перший вид лейкозів, що був описаний мікроскопічно в 1839 р. французьким патологоанатомом Донніє, при якому був виявлений специфічний хромосомний маркер — філадельфійська хромосома (Ph'-хромосома, транслокація t (9; 22)).

За поширеністю ХМЛ займає п'яте місце в структурі гемобластозів. Щорічна захворюваність складає 1,0–1,7 випадку на 100 000 населення. Найчастіше хворіють особи віком від 40 до 50 років [1]. У людей молодого віку ХМЛ зустрічалася раніше досить рідко. Однак, в останні 10 років ХМЛ усе частіше виявляють у хворих віком від 25 до 40 років. Унікальність пухлинного клону при ХМЛ полягає в тому, що він виникає в пулі самих ранніх клітин-попередників гемопоєзу (на рівні поліпотентної стовбурної клітини) і у 90% хворих має специфічний хромосомний маркер — філадельфійську хромосому (Ph') — результат транслокації t (9;22) (q34;q11).

Транслокація t(9;22) (q34;q11), у результаті якої з'являється маркерна Ph'-хромосома (22q-), являє собою реципроктний обмін ділянками гену bcr, що локалізується на 22 qll хромосомі, і протоонкогена c-abl, який локалізується на хромосомі 9 q34. Підсумком такого обміну стає химерний bcr-abl ген на хромосомі 22q- і ген abl-bcr на хромосомі 9q+ [1]. Цей химерний bcr-abl ген керує синтезом комплексу 210 кД фосфопротейнінази, якому більшість дослідників постулюють відповідальність за пухлинну трансформацію [13]. Описаний типовий (або класичний) варіант обміну має місце в 85% хворих із вперше встановленим діагнозом ХМЛ.

У 5% хворих на ХМЛ в транслокації беруть участь 3 і більше хромосоми за обов'язкової участі 9-ї та 22-ї. У таких випадках Ph'-хромосому буває важко виявити і тому її називають «замаскованою» Ph'-хромосомою [15]. У 10% хворих на ХМЛ Ph'-хромосому не вдається виявити за допомогою конвенційних цитогенетичних методів. Однак, приблизно в половині випадків Ph'-негативної ХМЛ можна виявити химерний bcr-abl ген методом флуоресцентної гібридизації *in situ* (FISH), полімеразної ланцюгової реакції (PCR) та ін. У більшості цих випадків (Ph'-/bcr-abl+) не відбувається реципроктна транслокація з 22-ї на 9-ту хромосому, але 3'ABL секвенція з 9-ї впроваджується в нормальну 22-гу хромосому. В той же час у частини хворих на ХМЛ виявлена протилежна ситуація з локалізацією bcr-abl гена на 9-й хромосомі — транслокація 5'BCR секвенції на 9-ту хромосому [13]. Не виявляють bcr-abl химерний ген (Ph'-/bcr-abl-) не більш ніж у 5% хворих на Ph'-негативну ХМЛ. Молекулярний механізм таких випадків залишається не встановленим. Можливо, що цей варіант не відповідає ХМЛ [15].

Результати клінічних та експериментальних досліджень дозволяють віднести bcr-abl ген до класу онкогенів, проте конкретні механізми пухлинної трансформації за участю цього химерного гену і на сьогодні достеменно не встановлені.

Є припущення, що bcr-abl ген, який в своєму складі має домени SH2 і SH3, тирозинові залишки та багаті проліном послідовності, володіє здатністю до протеїн-протеїнової взаємодії. Встановлено, що bcr-abl ген зв'язує та спричинює фосфорилювання більш як 20 білків — від структурних протеїнів до сигнальних транс-

дукторів. Рецепторні тирозинкінази приймають участь в активації Fas-опосередкованого апоптозу. Такими ж можливостями володіє і ген *bcr-abl* [14].

Для розуміння сутності пухлинного росту при ХМЛ виявилися плідними дослідження кінетики стовбурових клітин та кількісна оцінка клоногенної здатності гемопоетичних попередників. За результатами цих досліджень зроблені висновки про те, що у випадку ХМЛ *bcr-abl* співвідношення Ph^+ -пула примітивних гемопоетичних клітин і нормальних клітин-попередників зрушено на користь останніх [14]. Цей фактор здавалося б суперечить укоріненій думці про експансію лейкемічного клону при ХМЛ у гранулоцитарному, еритроїдному, мегакаріоцитарному паростках кровотворення. Однак більш знижена, чим у нормі, проліферативна активність пухлинних клітин, чутливість лейкемічних клітин до індукторів апоптозу частково пояснюють розходження численності нормальних і лейкемічних клітин у хворих на ХМЛ [14].

Наявні докази існування нормальних клоногенних клітин у хворих на ХМЛ, що перевершують за чисельністю лейкемічний *bcr-abl* Ph^+ -пул, а також постійне удосконалення методів сортиру і сепарації колонієутворюючих клітин, методів їх консервування, аутотрансплантації, на думку В. Петухова та І. Строжа, можуть наблизити гематологів, як дослідників так і практиків, до здійснення кінцевої мети терапії хворих на ХМЛ — відновлення нормального гемопоєзу [9].

На прикладі ХМЛ можна простежити своєрідність плину лейкемії, що наочно демонструє два принципово різних періоди пухлинного росту: доброякісний (хронічна фаза) і злоякісний (фаза акселерації та бластної трансформації). Саме тому ХМЛ — перший з гемобластозів, за наявності якого стали застосовувати сучасні терапевтичні технології. Це дало можливість перебороти відому «мієлосанову» межу виживання хворих на ХМЛ (50–55 міс), що проіснувала (з моменту появи мієлосану в 1953 р.) близько 50 років.

В перебігу ХМЛ виділяють три фази:

- хронічна фаза (медіана виживання складає 3–5 років);
- прогресуюча фаза або фаза акселерації (медіана виживання — близько 12 міс);
- фаза бластного кризу (БК) (медіана виживання — не більше 6 міс).

З огляду на ці фактори, стратегія лікування пацієнтів з ХМЛ полягає в ефективній терапії саме хронічної фази захворювання. І якщо раніш задача лікування обмежувалась утриманням рівня лейкоцитів, то сьогодні гематолог прагне домогтися цитогенетичної відповіді і редукції Ph^+ -позитивного клону. Стандартна терапія хворих на ХМЛ — це призначення монохіміотерапії із застосуванням похідних дисульфових кислот (бусульфан, мієлосан, мілеран) і нітрозосечовини (гідроксисечовина, гідроксиуреа, гідреа). Більш ніж 40 років мієлосан (мілеран) вважали «лідером»

серед цитостатичних препаратів для лікування пацієнтів з ХМЛ. Справді, початок «мієлосанової ери» знаменувався різким збільшенням середньої тривалості життя пацієнтів — від декількох місяців до 3,5–4 років. І тільки останнім часом препаратом вибору для монохіміотерапії хворих на ХМЛ стає гідроксисечовина [23].

Цитостатична дія мієлосану здійснюється шляхом впливу на ДНК клітини. У дослідях на тваринах було доведено, що найбільш чутливими до мієлосану є повільно проліферуючі клітини мієлоїдного походження. Саме тому мієлосан стали широко використовувати для лікування хворих на хронічну фазу ХМЛ, хоча і дотепер немає задовільного і достовірного пояснення виняткової дії препарату на мієлоїдні клітини. Монотерапія мієлосаном дозволяє домогтися нормалізації рівня показників гемограми, значної редукції клітинності кісткового мозку (КМ), зменшенню, а іноді і нормалізації, розмірів селезінки та печінки і, таким чином, домогтися повної або часткової клініко-гематологічної ремісії (КГР). Однак, тривала терапія мієлосаном може спричиняти розвиток цілого ряду побічних ефектів, що змушує шукати альтернативні варіанти терапії. По-перше, існує небезпека розвитку мієлосанової аплазії, що може стати причиною невиправданої загибелі пацієнта. По-друге, мієлосан володіє вираженим мутагенним ефектом за рахунок тропності до ДНК і утворення в ній міжниткових «зшивок». Третім небажаним ускладненням мієлосанотерапії є розвиток легеневого та/або кісткомозкового фіброзу. І нарешті, четверта незручність при його використанні — затримка як мінімум удвічі (у порівнянні з гідроксисечовиною та іншими S-фазоспецифічними препаратами) його цитопенічного ефекту. У фазі акселерації ХМЛ ця затримка може бути і більш тривалою, що, до речі, і призводить до передозування препарату. Саме тому застосування мієлосану обмежене рамками хронічної фази перебігу ХМЛ.

Як альтернатива мієлосану близько 20 років тому на фармацевтичному ринку з'явилися похідні нітрозосечовин, які, на відміну від мієлосану, є фазоспецифічними цитостатичними препаратами, що діють селективно у S-фазу клітинного циклу. Більш гнучка схема дозування і значно менша токсичність відразу вивели похідні нітрозосечовини в препарати вибору для лікування хворих на ХМЛ.

У 1993 р. Німецька науково-дослідна група з вивчення ХМЛ опублікувала результати рандомізованих досліджень ефективності мієлосану і гідроксисечовини в лікуванні хворих на ХМЛ [1]. Результати оцінювали за медіаною виживання в двох вибірках: хворі однієї групи одержували тільки мієлосан, іншої — тільки гідроксисечовину. Медіана виживання пацієнтів, що отримували мієлосан, була 45 міс; пацієнтів, що отримували гідроксисечовину — 58 міс, розходження досто-

вірне ($p=0,008$). Гідроксисечовина може застосовуватись в стандартних дозах (0,5–2 г/доба) або в режимі пульс-терапії (2500–3200 мг/м²).

Проте, за думкою деяких авторів, висновок Німецької групи про перевагу гідроксисечовини не зовсім коректний, оскільки порівнювали 2 препарати, які діють на різні категорії пухлинних клітин: мієлосан переважно діє на рівні примітивних клітин-попередників («стовбур» пухлини), тоді як дія гідроксисечовини спрямована на уніпотентні (з морфологічними ознаками) клітини пухлинного пулу [9].

Однак, застосування похідних нітрозосечовини також спричинює розвиток побічних ефектів. Найбільш значущими з них є різні зміни з боку травного тракту (діарея, блювота, засічи). Абсолютним протипоказанням до призначення гідроксисечовини є наявність у хворого виразкової хвороби у фазі загострення [1].

Монотерапія мієлосаном і гідроксисечовиною з успіхом конкурують, але зберігають свою актуальність за рахунок високої ефективності у відношенні пухлинного клону при ХМЛ. Простота застосування, зручність дозування, відносна дешевизна, можливість використання в амбулаторних умовах за високої якості життя пацієнтів дозволяють широко застосовувати ці препарати для монохіміотерапії хворих на ХМЛ.

Хоча монохіміотерапія дозволяє досить швидко домогтися КГР, тільки у 5% випадків вдається одержати цитогенетичну ремісію (ЦР). Використання сполучення мієлосану і гідроксисечовини з антрациклінами і цитозин-арабінозидом не підвищило медіану виживання пацієнтів із ХМЛ за рахунок збільшення кількості випадків аплазії і різкого погіршення якості життя пацієнтів. Тому комбінована хіміотерапія (ХТ) не знайшла широкого застосування в лікуванні хворих хронічною фазою ХМЛ і зараз використовується тільки за наявності фази БК.

Терапією вибору хворих на ХМЛ є трансплантація кісткового мозку (ТКМ). Багато дослідників вважають цей метод єдиним, який здатний цілком або на тривалий час знищити Ph⁺-позитивний клон клітин [21]. За результатами дослідницького ракового центру Ф. Гатчинсона, 5–10-літній безрецидивний плин захворювання відзначений у 60–70% хворих, які перенесли ТКМ у хронічну фазу ХМЛ. В останні роки все частіше як джерело гемопоетичних стовбурних клітин використовують периферичну кров (ПК), що технічно значно полегшує проведення цього методу лікування. Однак, труднощі, а іноді і неможливість, підбору гістосумісного донора, наявність суворих протипоказань при добірї хворих значно звузило спектр пацієнтів, яким можна провести ТКМ.

Все це спонукало до пошуку альтернативних методів лікування хворих на ХМЛ, що змогли б призвести до ЦР. І таким препаратом став інтерферон альфа (ІФН-альфа) [5].

Інтерферони (ІФН) відносять до групи цитокінів. Всі ІФН володіють противірусним, імуномодуючим та антипроліферативним ефектом, беруть участь в регуляції клітинної диференціації та фенотиповій реверсії пухлинних клітин, інгібіції онкогенів і потенціюванні дії цитостатичних препаратів [4]. Механізм антинеопластичних властивостей ІФН і дотепер залишається не зовсім встановленим і інтенсивно вивчається. Відповідно до сучасних уявлень, вплив ІФН на пухлинні клітини здійснюється як безпосередньо — шляхом цитотоксичної, цитостатичної та антипроліферативної дії, так і опосередковано — шляхом підвищення імунного захисту організму. На думку ряду авторів, JAK-STAT (медіаторно-сигнальна) система відповідає за антипроліферативну активність ІФН шляхом блокування дії ростових факторів, які стимулюють вступ клітин в мітотичний цикл [4]. Блокада мітотичного циклу, за звичаєм, проходить у G₁ фазу, хоча може мати місце блокада і в інших (G₂ та S) фазах циклу.

Дія ІФН на імунну систему багатоплункова, тому що вона торкається майже всіх елементів клітинного та гуморального імунітету, регуляції гемопоезу, синтезу та продукції різних цитокінів [4]. Імуномодуюча дія ІФН здійснюється за рахунок посилення активності природних кілерних клітин (ПКК) і моноцитів. Крім того, ІФН збільшують експресію головного комплексу гістосумісності 1-го класу й асоційованих з пухлиною антигенів на злоякісних клітинах, що підсилює ефективність специфічних цитотоксичних Т-лімфоцитів і чутливість клітин-мішеней до дії багатьох протипухлинних цитостатичних препаратів [17]. ІФН-альфа змінює транскрипцію більш як 30 ядерних білків, зменшує активність синтезу ДНК, в результаті чого пригнічується клітинний цикл з переходом пухлинної клітини в фазу відносного спокою [4]. Істотне місце у вивченні протипухлинного ефекту ІФН-альфа займає з'ясування його дії на проліферацію і диференціацію злоякісних клітин. Очевидно, його вплив на клітинну диференціацію полягає в стимулюванні пухлинних клітин до визрівання, а також у відновленні стримуючого контролю за процесом проліферації, що існує в здоровому організмі [7].

N. Tanaka та співавтори вважають, що ІФН, які активуються ростовими факторами та вірусами, здійснюють функцію інгібіторів клітинної проліферації за механізмом зворотнього зв'язку [7]. Доведено, що фактори інтерференової регуляції (interferon regulatory factors (IRF-1 та IRF-2)) є внутрішньоклітинними ДНК-асоційованими протеїнами, які контролюють експресію генів ІФН [9]. Фактори IRF-1 та IRF-2 схожі за своєю структурою, проте вони мають функціональні розбіжності: IRF-1 функціонує як активатор IRF-індукуючих генів, тоді як IRF-2 гальмує дію IRF-1. Фактор інтерференової регуляції IRF-2 відрізняється більшою стабіль-

ністю, ніж IRF-1: після стимуляції ІФН кількість IRF-1 збільшується, тоді як відповідно кількість IRF-2 зменшується, що підтверджує наявність балансу між цими факторами, які стримують клітинну проліферацію.

Можливо, одним з шляхів реалізації антилейкемічної дії ІФН-альфа є реставрація порушеної β -інтегринзалежної адгезії стовбурових клітин з елементами стромы КМ [17]. Протипухлинна дія ІФН-альфа реалізується ще й за рахунок інгібіції ангиогенезу, тобто порушення необхідного для росту пухлини процесу судиноутворення.

Вже доведений синергізм протипухлинного ефекту ІФН-альфа та цитостатичних засобів при комбінованому їх використанні, проте головна частина протипухлинної дії ІФН-альфа полягає в його здатності активізувати Fas/АПО-1-залежний апоптоз в пухлинних клітинах [23, 17].

Результати досліджень, які наведені С. Selleri, показали, що антилейкемічний ефект ІФН-альфа пов'язаний з його моделюючою дією на Fas-R/Fas-L систему гемопоетичних CD34+ клітин-попередників [7]. Все це дозволило ІФН-альфа зайняти гідне місце в сучасній онкогематології і, зокрема, в лікуванні хворих на ХМЛ [23].

На ранньому етапі розвитку імунотерапії хворих на ХМЛ використовували ІФН-збагачену плазму, а потім і очищений лейкоцитарний ІФН, отриманий шляхом активації лейкоцитів вірусом. Хоча цей вид виробництва ІФН має значення і дотепер, основними способами одержання ІФН стали генно-інженерний метод і метод активації культури клітин лімфоми Беркіта. На даний час 52 фірми у світі виробляють різні ІФН, що відрізняються один від одного варіантами підтипів. Найбільше практичне значення одержали генно-інженерні і лімфобластодні способи виробництва ІФН.

Перше повідомлення про ефективність ІФН-альфа в лікуванні хворих на ХМЛ було зроблено М. Talpaz і співавторами у 1983 р. За результатами його призначення 21 пацієнту з хронічною фазою ХМЛ, у більш як половини пацієнтів отримали позитивну цитогенетичну відповідь, 4 пацієнти виявилися резистентними до терапії, в інших хворих результати лікування були сумнівними [16]. Настільки вражаючі результати стали підставою для продовження досліджень, оскільки вперше стало реальним досягнення ЦР.

Паралельно з цим група вчених Андерсонського ракового центру Техаського університету (МДАСС) в період з 1982 по 1990 р. проводила дослідження ефективності ІФН-терапії у 274 хворих на ХМЛ. ІФН-альфа вводили під шкіру в дозі 5 млн МО/м² на добу, яку корегувались за наявності проявів токсичності II ступеня або повністю відміняли у випадку III–IV ступеня токсичності. Після нормалізації загального стану пацієнта препарат призначали знову. Оцінку результатів терапії проводили з урахуванням гематологічної та цитогенетичної відповіді. Повну

гематологічну ремісію (ПГР) реєстрували у випадку нормалізації ПК та зникненні усіх ознак та симптомів захворювання. Ступінь цитогенетичної відповіді оцінювали за наявності наступних критеріїв:

- повна — відсутні Ph-позитивні клітини;
- часткова — наявність 10–65% Ph-позитивних клітин;
- мінімальна — наявність більш як 65% Ph-позитивних клітин.

Аналіз отриманих групою МДАСС результатів дослідження свідчив про наявність повної гематологічної відповіді у 80% хворих; великої цитогенетичної відповіді — у 38% хворих (повної — у 26% і часткової — у 12%). Медіана виживання в середньому склала 85,3 міс, що значно більше, ніж при застосуванні стандартної ХТ. Крім того, цією групою дослідників була доведена залежність медіани виживання від таких прогностичних чинників, як вік, розміри селезінки, рівень тромбоцитів, рівень бластоу в ПК та КМ.

Грунтуючись на цих результатах, Італійською кооперативною групою в період з 1986 по 1988 р. було проведено перше фундаментальне вивчення ефективності ІФН в лікуванні 322 хворих на ХМЛ в 46 гематологічних центрах [16]. Завданням дослідження було вивчення ефективності лікування ІФН-альфа в порівнянні зі стандартною терапією бусульфаною або гідроксисечовиною: 104 пацієнта одержували стандартну ХТ, а 218 — ІФН у дозі 9 млн МО/доба. У групі хворих, що одержували ІФН, ЦР різного ступеня вираженості отримали в 31,5% випадків, тоді як у групі хворих, що одержували ХТ, цитогенетичну відповідь отримали лише в 5% випадків. Необхідно відзначити, що повної цитогенетичної ремісії на тлі традиційної ХТ не одержали в жодного хворого.

Аналогічні результати були отримані Німецькою кооперативною групою (German CML Study Group) в дослідженнях, що проводили з 1986 по 1994 р. [7]. Під наглядом знаходились 513 хворих, які були поділені на 3 групи. Хворим 1-ї групи вводили ІФН-альфа в дозі 5 млн МО/м² під шкіру, пацієнтам 2-ї групи призначали бусульфан в дозі 0,1 мг/кг, а лікування 3-ї групи хворих проводили за допомогою гідроксисечовини у дозі 40 мг/кг на добу. В результаті проведеного лікування ПГР була зареєстрована у 31% хворих 1-ї групи, у 23% — 2-ї та у 39% — 3-ї. Цитогенетичну відповідь (повну або часткову) отримали у 9% хворих на фоні лікування ІФН-альфа, у 2% — на фоні терапії гідроксисечовиною і лише у 1 хворого на фоні прийому бусульфану. Медіана виживання дорівнювала 66 міс після терапії ІФН, 56 міс — після терапії гідроксисечовиною та 45 міс — після лікування бусульфаною.

До рандомізованого дослідження, яке проводила Британська багатоцентрова група з вивчення ефективності лікування Ph⁺-ХМЛ, було залучено 587 хворих, яких поділили на 2 групи. Пацієнтам 1-ї групи вводили під шкіру ІФН-

альфа в дозі 3 млн МО/доба після проведення індукційної терапії бусульфамом (або бусульфамом з гідроксисечовиною, або тіогуаніном). Хворим 2-ї групи проводили тільки ХТ. За результатами аналізу терапії у хворих 1-ї групи ПГР зареєстрували у 39% випадків, повну ЦР — у 9%, часткову — у 8%. В групі пацієнтів, які отримували тільки ХТ, часткову цитогенетичну відповідь спостерігали у 3 пацієнтів. Медіана виживання на фоні лікування ІФН становила 61 міс, тобто як на фоні монохіміотерапії — 41 міс [1].

Метою рандомізованого дослідження японських вчених (Koneishe Leukemia Study Group, 1995) було вивчення впливу ІФН-альфа (n=80) та бусульфаму (n=79) на тривалість хронічної фази ХМЛ і виживання. ІФН-альфа призначали в дозі 3 млн МО/доба на протязі перших 3 діб, в подальшому — у дозі 9 млн МО/доба на протязі 4 тиж і у дозі 18 млн МО/доба — в наступні 4 тиж. ПГР була досягнута у 38% хворих, які отримували ІФН-альфа, і у 55% хворих, які приймали бусульфам. Повна ЦР на тлі прийому ІФН-альфа була зареєстрована у 9%, часткова — у 8%, а після лікування бусульфамом — лише у 3% хворих. П'ятирічне виживання в групі хворих, які отримували ІФН-альфа, становило 54%, тоді як на тлі застосування бусульфаму — лише 32%.

Міжнародна група з вивчення ХМЛ (CML Trialists Collaborative Group, Oxford, UK) в 1997 р. надрукувала повідомлення, в якому підведено підсумок досліджень 7 країн. Експерти цієї групи зробили висновок, що включення ІФН-альфа до протоколу терапії хворих на Ph⁺-ХМЛ значно збільшує відсоток 5-річного виживання в порівнянні зі стандартною терапією.

Порівняльний аналіз ефективності лікування ХМЛ ІФН-альфа в малих дозах (3 млн МО/доба, 5 днів на тиждень) і гідроксисечовини в стандартних дозах (контрольна група) (Benelux CML Study Group, 1998) довів, що ПГР у хворих, які отримували ІФН-альфа, досягалась набагато частіше, ніж у хворих контрольної групи. Тривалість хронічної фази (53 міс проти 44 міс) та медіана виживання (64 міс проти 68 міс) не мали достеменних розбіжностей. Ефективність ІФН-альфа в малих дозах була підтверджена і результатами інших аналогічних досліджень [7].

Результати наведених рандомізованих досліджень довели необхідність проведення подальших пошуків в області імунотерапії хворих на ХМЛ.

Однак, недостатньо вражаючий, на думку ряду авторів, результат лікування ІФН хворих на ХМЛ змусив шукати можливі модифікації його застосування. Так, у дослідженнях *in vitro*, було доведено, що ІФН має потенціюючу дію і синергізм стосовно цілого ряду цитостатичних препаратів. Це поклало початок створенню протокольної терапії хворих на ХМЛ на базі ІФН в сполученні його з гідроксисечовиною, цитозин-арабінозидом, бусульфамом [11]. Першими таку схему лікування пацієнтів з ХМЛ, у якій введення

ІФН-альфа в зростаючих дозах проводили на тлі гідроксисечовини, запропонувала Італійська кооперативна група в 1991р. Французькою кооперативною групою в 1992 р. був запропонований протокол лікування хворих на ХМЛ, що включає ІФН-альфа, гідроксисечовину і цитозин-арабінозид у малих дозах. В результаті лікування у 83% хворих отримали ЦР, у тому числі, у 23% — повну, тривалість якої склала 2–8 років [10].

Практично у всіх протоколах лікування хворих на ХМЛ ІФН призначають по 5 млн МО/м² щодня або у максимально стерпній дозі. За звичаєм, добова доза не перевищує 9 млн МО, але можуть бути використані і більш високі дози — до 12 млн МО на добу [23]. Однак, застосування великих доз ІФН сполучене з розвитком токсичних ефектів різного ступеня тяжкості. Найбільш часто при лікуванні препаратами ІФН розвивається грипоподібний синдром (лихоманка, слабкість, летучі болі в кістках та м'язах), що ліквідується прийомом парацетамолу, а згодом, зникає зовсім. Іноді на тлі тривалого застосування ІФН розвивається депресія, гепатотоксична реакція, гіпотиреозидизм, патологічні зміни сполучної тканини та ін. Але самим грізним ускладненням є розвиток імунних цитопеній (тромбоцитопенія, лейкопенія, нейтропенія, анемія), поява яких є показанням до зниження дози, а іноді, і до повної відміни препарату. Відновляють призначення ІФН-альфа при рівні нейтрофілів понад 1000 у 1 мкл і рівні тромбоцитів — понад 50 000 у 1 мкл.

В різних дослідженнях цитозин-арабінозид призначали в межах так званих «малих доз» — від 10 до 20 мг/м² на добу. Аналіз ефективності різних режимів введення цитозин-арабінозиду на тлі постійного прийому ІФН-альфа показав клінічно порівнянні результати [9]. Так, у групі пацієнтів, що отримували постійно цитозин-арабінозид у дозі 10 мг/м² на добу повну ЦР отримали у 31% випадків, часткову ЦР — у 19%; однак медіана виживання склала тільки 42 міс. У групі хворих, що отримували цитозин-арабінозид у дозі 20 мг/м² протягом 10 днів кожного місяця, повну ЦР отримали у 20% випадків, часткову ЦР — у 18%, а медіана виживання склала 52 міс [9]. Повну ЦР верифікують на підставі відсутності Ph'-позитивних метафаз при цитогенетичному обстеженні хворих. Частковою ЦР вважають за наявності менш 35% Ph'-позитивних метафаз. Таким чином, постійний прийом малих доз цитозин-арабінозиду збільшує кількість хворих з ЦР у порівнянні з інтермітуючим режимом його введення, однак зменшує медіану виживання пацієнтів. Це пов'язано з розвитком глибокої, часто не зворотної, мієлосупресії, що посилюється дією ІФН-альфа.

Французька група з вивчення ХМЛ провела рандомізоване дослідження для визначення ефективності комбінованого лікування ІФН і цитозин-арабінозидом хворих на ХМЛ в хронічну фазу [7]. Дослідження проводили за 2 протокола-

ми CML-88 та CML-91, які відрізнялись величиною дози цитозин-арабінозиду. За протоколом CML-88 усі хворі ($n=237$) в індукційну фазу під шкіру отримували ІФН-альфа у дозі 5 млн МО/доба в комбінації з гідроксисечовиною у дозі 50 мг/кг на добу до досягнення стабільної ПГР. Через 3 міс після досягнення ремісії терапію гідроксисечовиною припиняли і хворих переводили на підтримуючу терапію. У залежності від виду терапії хворих поділили на 2 групи: хворим 1-ї групи призначали тільки ІФН-альфа (5 млн МО/м² на добу), пацієнти 2-ї групи отримували ІФН-альфа в тій же дозі в комбінації з цитозин-арабінозидом у дозі 10 мг/м² на добу підшкірно). Лікування припиняли у разі можливості проведення ТКМ, розвитку тяжких побічних явищ, а також за відсутності ПГР в період індукційної терапії.

За результатами підсумкового аналізу лікування, проведеного у 1994 р., встановили, що медіана виживання хворих, які отримували ІФН-альфа в комбінації з цитозин-арабінозидом, склала 83 міс, тоді як хворих, що одержували тільки ІФН-альфа — 65 міс ($p<0,05$). Повну ЦР у 2-й групі хворих зареєстрували в 23% випадків, в 1-й — в 15%. Крім того, встановлена пряма залежність між цитогенетичною відповіддю і медіаною виживання хворих.

Аналогічні результати були отримані Московською дослідною групою (МДГ). На протязі 15 років (з 1997 р.) ця група спостерігала за 254 хворими на ХМЛ, середній вік яких складав 43,6 року. Терапію цих хворих у ранню хронічну фазу недуги здійснювали за протоколом, в якому використовували 2 режими введення ІФН-альфа: у вигляді монотерапії (гідроксисечовину додавали зрідка, за показаннями — коротким курсом) і в сполученні з щомісячним призначенням малих доз (20 мг/м²) цитозин-арабінозиду протягом 10–15 днів. Гематологічну і цитогенетичну ефективність у цьому дослідженні оцінювали за критеріями, запропонованими М. Talpaz з співавторами [9].

Результати проведеного дослідження показали перевагу комбінованої терапії (ІФН-альфа+ХТ) [9]. Так, 3-річне виживання після застосування комбінованої терапії склало 92%, тоді як при застосуванні тільки цитостатичних препаратів — 75%. Проте, під час спостереження за хворими виявили наявність суттєвої розбіжності в тривалості життя в групах хворих з різним ризиком прогресування ХМЛ. Так, медіана лікування в групі хворих з низьким ризиком складала 50 міс, а медіана життя — 60 міс (за критеріями J. Socral) [9]. На підставі отриманих даних автори зробили висновок про те, що пацієнти з низьким ризиком прогресування ХМЛ не мають потреби в інтенсифікації лікування на ранніх етапах спостереження.

У хворих з проміжним і високим ризиком прогресування ХМЛ, які одержували монохіміо-

терапію, тривалість лікування була меншою, ніж у пацієнтів, що отримували ХТ (медіана виживання 48 і 56 міс відповідно). За даними дослідників, застосування комбінованої терапії (ІФН-альфа+монохіміотерапія) достеменно призводило до збільшення тривалості хронічної фази ХМЛ [10].

Аналіз ступеня пригнічення Ph⁺-клону клітин в залежності від дози ІФН-альфа показав, що призначення ІФН-альфа в малих дозах в комбінації з монохіміотерапією в ранній період хронічної фази ХМЛ (<12 міс від моменту встановлення діагнозу) сприяє розвитку повної гематологічної ремісії в 77% хворих. В результаті лікування ІФН-альфа в малих дозах хворих з низьким, проміжним і високим ризиком прогресування ХМЛ була отримана ПГР в 93, 82 і 55% випадків, відповідно [9].

Результати повторного дослідження показали, що при підвищенні добової дози, тобто при застосуванні стандартної дози ІФН-альфа (протокол МІГ-97), ПГР отримали у 95% випадків; цитогенетичну відповідь — у 80%, повну ЦР — у 36,7% [10], причому в більшості хворих (у 80%) велику цитогенетичну відповідь отримали протягом перших 6–12 міс лікування ІФН-альфа. При динамічному спостереженні впродовж 6–48 міс за 33 хворими, у яких досягли великої цитогенетичної відповіді, встановили її збереження в 25 хворих, на тлі подальшого лікування у 14 з цих пацієнтів продовжувала знижуватись кількість Ph⁺-клітин [10].

Пошук нових, більш ефективних, методів лікування хворих на ХМЛ призвів до створення нового напрямку в терапії — комбінації ХТ, аlogenної трансплантації та імунотерапії у хворих у хронічну фазу захворювання. Схема протоколу «ICE», розроблена А.М. Carella, включає ідарубіцин, середні дози цитозин-арабінозиду та етопозид. Проведення цього курсу ХТ викликало розвиток аплазії кровотворення, при виході з якої проводили збір нормальних, Ph⁺-негативних, гемопоетичних клітин ПК. Саме в цей короткий проміжок часу їх вдавалося зібрати в максимально можливій кількості для наступної аутоотрансплантації. На 8-й день після трансплантації хворим вводили колонієстимулюючий фактор до відновлення рівня нейтрофілів у периферичній крові більш 1×10^9 /л. Після відновлення кількості лейкоцитів призначали підтримуючу терапію ІФН-альфа. В усіх 23 пацієнтів, яким виконали повністю протокол лікування, відзначали гарне приживлення трансплантату, зникнення Ph⁺-позитивного клону клітин, що зберігалось від 2 до 45 міс [16]. Ці дані були підтверджені і результатами інших аналогічних досліджень [23].

Дотепер в літературі продовжуються дискусії що до можливості несприятливих наслідків інтерферонотерапії, яка передуює ТКМ (ретикілюновий фіброз КМ, аутоімунні ускладнення).

Порівняльний аналіз 2 режимів ТКМ (з попередньою терапією ІФН-альфа і без неї)

показав відсутність негативного впливу ІФН-альфа на ефективність ТКМ [21]. При порівнянні таких показників, як виживання хворих, тривалість безрецидивного періоду і настання рецидиву ХМЛ протягом 5-річного терміну після трансплантації, виявили, що у разі пересадження HLA-ідентичного КМ від сіблінга ці показники склали 50–70, 30–60 і 15–30%, а при використанні стовбурових клітин від безпосереднього донора — 40–60, 30–50 і 5–25%, відповідно.

Підсумовуючи результати досліджень багатьох центрів з вивчення ХМЛ, можна зробити висновок, що застосування ІФН-альфа для лікування хворих на ХМЛ дає можливість одержати повну ЦР значно частіше, ніж застосування цитостатичних препаратів. Ця ремісія є відносно більш стабільною і тривалою.

Наявний міжнародний досвід ІФН-терапії дозволив В. Петухову і І. Строжа виявити деякі закономірності [9]:

- антипроліферативний ефект ІФН-альфа виявляється досить повільно — настання ремісії слід чекати не раніше 3–6 міс від початку терапії;
- відсоток повних ремісій залежить від дози ІФН-альфа. Оптимальною вважають дозу 5 млн МО/м² на добу. Збільшення добової дози вище зазначеної не збільшує ефективність терапії;
- повну гематологічну (у тому числі цитогенетичну) ремісію у хворих на ХМЛ вдається отримувати, головним чином, за наявності низького і проміжного ступеня ризику прогресування захворювання;
- появу ЦР варто очікувати через 3–12 міс від початку лікування (у середньому — 11 міс), її подальший розвиток — протягом 2–3 або 4 років;
- терапія ІФН-альфа менш ефективна в пізній період хронічної стадії ХМЛ (більше року від моменту встановлення діагнозу);
- існує прямий зв'язок між цитогенетичною відповіддю і тривалістю виживання хворих на ХМЛ: ЦР може служити ознакою сприятливого прогнозу виживання.

Механізм дії ІФН-альфа при ХМЛ дотепер остаточно не з'ясований, але окремі аспекти дії цього цитокіну вивчені досить детально. Лікувальний ефект ІФН-альфа у хворих на ХМЛ пов'язують з його здатністю підсилювати імунний захист пацієнтів: у хворих, що досягли повної ЦР, відзначено статистично достовірне збільшення в крові абсолютної кількості CD19⁺- та CD56⁺-клітин у порівнянні з пацієнтами, у яких цитогенетична відповідь була відсутня [18]. Протипухлинний ефект ІФН-альфа спричинений його прямою антипроліферативною дією на стовбурні клітини: у разі довготривалої підтримки культур стовбурних клітин хворих на ХМЛ, що реагують і не реагують на терапію ІФН-альфа, цитогенетичні зміни були однаковими, але в першому випадку

автори спостерігали значне гальмування росту колонії стовбурних кровотворних клітин [18].

Інгібуючий ефект ІФН-альфа *in vitro* стосовно грануломоноцитарних попередників (GFU-GM) більш виражений при ХМЛ і в меншій мірі — у відношенні нормальних GFU-GM попередників, однак вибірковість дії ІФН-альфа стосовно лейкемічних клітин визнається не усіма дослідниками [4, 18].

Крім блокади мітотичного циклу в G₁-фазу та пригнічення клітинної проліферації за механізмом зворотного зв'язку, терапевтичний ефект ІФН-альфа залежить від співвідношення IRF-1 і IRF-2, яке змінюється під дією ІФН-альфа (збільшується внутрішньоклітинний вміст IRF-1 або знижується кількість IRF-2) [9]. До родини IRF належить і фактор регресії транскрипції (ICSBP — interferon consensus sequence binding protein), що недостатньо експресується на зрілих В-клітинах хворих на ХМЛ. Під дією ІФН-альфа відбувається збільшення цього транскрипту, що дає підставу думати про вплив фактора ICSBP на лейкозогенез [7].

Іншим механізмом протипухлинної дії ІФН-альфа у хворих на ХМЛ є реставрація інтегрин-залежної адгезії стовбурових клітин до елементів стромы КМ [4]. Встановлено, що при ХМЛ порушений контакт CD34⁺-клітин [17]. Саме ця обставина лежить в основі експансії лейкемічного клону при ХМЛ. Інтегрин регулює взаємодію між кровотворними клітинами-попередниками і мікрооточенням КМ. Ці автори довели, що ІФН-альфа здатен активізувати Fas-R-експресію на CD34⁺-клітинах при ХМЛ, причому ІФН впливає на ефект утворення анти-Fas-Ат в культурах КМ.

Для доведення індукційної здатності ІФН-альфа на Fas-R-експресію на CD34⁺-клітках при ХМЛ очищену суспензію CD34⁺-клітин культивували в присутності ІФН-альфа (при цьому концентрація останнього відповідала такій у крові хворих при проведенні терапії ІФН-альфа). Це призвело до приросту м-РНК Fas-рецептора. Індукція Fas-експресії на CD34⁺-клітинах при додаванні ІФН-альфа була також підтверджена даними кількісної флуориметрії і носила дозозалежний характер [21].

На даний час переконливо доведено, що продукт транскрипції гена *bcr/abl* є головним етіопатогенетичним моментом розвитку Ph-позитивного ХМЛ. Виявлений виражений анти-апоптозний ефект у протеїна BCR/ABL. Показано, що схильність CD34⁺-клітин до Fas-опосередкованого апоптозу залежить саме від рівня BCR/ABL-протеїну [17]. Встановлено, що CD34⁺-клітини хворих на ХМЛ, у яких терапія ІФН-альфа виявилася найбільш успішною, були чутливими до індукції Fas-опосередкованого апоптозу, тоді як ті ж клітини пацієнтів з рефрактерністю до ІФН-альфа такою чутливістю не володіли.

З 2000 р. в гематологічному відділенні Київського обласного онкологічного диспансеру

проводять цитогенетичну діагностику ХМЛ за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Висока чутливість цього методу дозволяє не тільки виявляти Ph'-хромосому у первинних хворих, але і підтверджувати наявність ЦР. Дослідження проводять в Інституті молекулярної біології АМН України. За цей час обстежено 29 хворих з первинно встановленим діагнозом ХМЛ. Серед цих хворих тільки у 1 (3,5%) пацієнта виявили Ph'-негативну ХМЛ. Після верифікації діагнозу хворим призначали комбіновану терапію: гідроксисечовина у дозі 50 мг/кг та ІФН-альфа у дозі 6 млн МО/доба щоденно під шкіру. Корекцію дози гідроксисечовини проводили в залежності від рівня лейкоцитів в ПК. У разі нормалізації показників гемограми та розмірів селезінки (в середньому через 3 міс від початку лікування) ХТ припиняли і продовжували монотерапію ІФН-альфа. При зниженні рівня показників крові нижче критичного (кількість лейкоцитів менше $3 \times 10^9/\text{л}$ та тромбоцитів менше $100 \times 10^9/\text{л}$) хворих переводили на підтримувальний режим імунотерапії: ІФН-альфа у дозі 3 млн МО 3 рази на тиждень. У 10 (35,7%) хворих через 6–8 міс лікування отримали ЦР. У решти пацієнтів на тлі подальшого лікування ІФН-альфа продовжувалось зниження рівня Ph'-позитивних клітин в ПК та КМ. Отримані результати підтверджують високу ефективність лікування хворих на ХМЛ ІФН-альфа у середніх та малих дозах. Застосування малих доз імунотерапевтичного препарату дозволило уникнути можливих тяжких побічних явищ.

Таким чином, результати наведених та власних досліджень свідчать про високу ефективність ІФН-альфа при лікуванні хворих на ХМЛ. Можливість одержання цитогенетичної ремісії робить імунотерапію перспективним методом лікування таких пацієнтів.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Абдулкадыров К.М., Бессмельцев С.С., Рукавицын О.А. (1999) Лечение хронического миелолейкоза. ЛЕКА, СПб., 151 с.
2. Абдулкадыров К.М., Рукавицын О.А., Удалева В.Ю., Бессмельцев С.С. (1999) Влияние терапии препаратами альфа-интерферона в сниженных дозах на длительность хронической фазы и выживаемость больных хроническим миелолейкозом. Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім. П.Л. Шупіка, 8(1): 10–13.
3. Абдулкадыров К.М., Удалева В.Ю., Рукавицын О.А., Бессмельцев С.С. (2000) Малые дозы препаратов β -интерферона в лечении больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) препаратами интерферона-альфа. В кн.: Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии. Материалы научно-практ. конф., СПб., с. 93–94.
4. Ветра Я.Я., Иванова Л.В., Крейле И.Э. (2000) Цитокины. Гематология и трансфузиология, 45(4): 45.
5. Волкова С.А., Евдокимова Н.М., Самойлова О.С. и др. (2000) Результаты лечения взрослых больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) препаратами интерферона-альфа. В кн.: Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии. Материалы научно-практ. конф., СПб., с. 93–94.
6. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Надгорная В.А., Абраменко И.В. (2001) Классификация Всемирной Организации Здравоохранения опухолевых заболеваний кроветворной и лимфоидной ткани. Семинары по гематологии. Киев, вып. 8.
7. Гусева С.А., Телегеев Г.Д., Топольницкий В.С. (2002) Реальдирон (альфа-интерферон): возможности применения в гематологической и инфекционной клинике. Логос, Киев, 278 с.
8. Мачулайтене Е.Р., Сологуб Г.Н., Михайлова И.А., Павлова В.А. (2000) Использование малых доз рекомбинантного интерферона-альфа (реальдирона) в терапии Ph-позитивного хронического миелолейкоза (ХМЛ). В кн.: Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии. Материалы научно-практ. конф., СПб., с. 118.
9. Петухов В.И., Строща И.Ф. (2001) Альфа-интерферон в онкогематологии. Мадрис, Рига, 143 с.
10. Рукавицын О.А., Удалева В.Ю. (2000) Эффективность изолированного и сочетанного использования сниженных доз альфа-интерферона в лечении хронического миелолейкоза (ХМЛ). В кн.: Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии. Материалы научно-практ. конф., СПб., с. 137.
11. Хорошко Н.Д., Туркина А.Г., Кузнецов С.В. и др. (2001) Хронический миелолейкоз: успехи современного лечения и перспективы. Гематол. и трансфузиол., 4: 3–8.
12. Хорошко Н.Д., Цветаева Н.В., Туркина А.Г. и др. (2001) Новые тенденции в лечении хронических миелопротопролиферативных заболеваний, протекающих с экстремальным тромбоцитозом. Гематология и трансфузиология. Проблемы гематологии и переливания крови. Объединенный номер: 35–38.
13. Albano C., Buquicchio V., Liso G. et al. (2002) Extensive genomic sequences are deleted on the third derivative chromosome in variant t(9;22) of chronic myeloid leukemia. In: Annals of hematology EHA 2002, Florence, p. 546.
14. Barbui G., Hagberg A., Olsson-Stromberg U. et al. (2000) Manifold-assisted reverse transcription PCR with real time detection for measurement of the BCR-ABL fusion transcript in chronic myeloid leukemia patients. Clin. Chemother., 16: 913–920.
15. Branford S., Hughes T. P., Rudzki Z. (1999) Monitoring chronic myeloid leukemia therapy by real-time quantitative PCR in blood is reliable alternative to bone marrow cytogenetics. Br. J. Haematol., 107: 587–599.
16. De Vivo A.D.V., Bassi S., Bonifazi F., Trabacchi E., Bonifazi F. et al. (2002) The Italian cooperative study group on chronic myeloid leukemia: experience on a2b interferon and oral low dose arabinosyl cytosine in chronic myeloid leukemia. In: Annals of hematology EHA–2002, Florence, p. 993.
17. Giordano M. (2000) Apoptosis in chronic leukemia. Medicina, 60(1, 2): 12–16.
18. Fabiola Attie de Castro F.A.C., Patricia V.B. Palma, Fabiana F.R.M., Moraes R., Sebastiao S.J. et al. (2002) Immunological effects of interferon-alpha in chronic myelogenous leukemia. In: Annals of hematology EHA–2002, Florence, p. 1030.
19. Huntly J.P., Bench A.J., Delabesse E., Reid A.G., Li J. et al. (2002) Derivative chromosome 9 deletions in chronic myeloid leukaemia: poor prognosis is not associated with loss of ABL-BCR expression, elevated BCR-ABL levels or karyotypic instability. In: Annals of hematology EHA–2002, Florence, p. 619.
20. Harris N. L., Jaffe E. S., Diebold J. et al. (1999) World Health organization on classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissue: report of the Clinical Advisory Committee Meeting. Airlie House, Virginia, Clin. Oncol., 17: 3835–3849.
21. Hochhaus A., Weisser A., La Rosse P. et al. (2000) Detection and quantification of residual disease in chronic myelogenous leukemia. Leukemia, 14(6): 998–1005.
22. Olavarria E., Kanfer E., Szydlo R. et al. (2001) Early detection of BCR-ABL transcripts by quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction predicts outcome after allogeneic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia. Blood, 97(66): 1560–1565.
23. Verfaillie C.M. (1999) Chronic myelogenous leukemia: from pathogenesis to therapy. J. Hemother., 8: 3.