

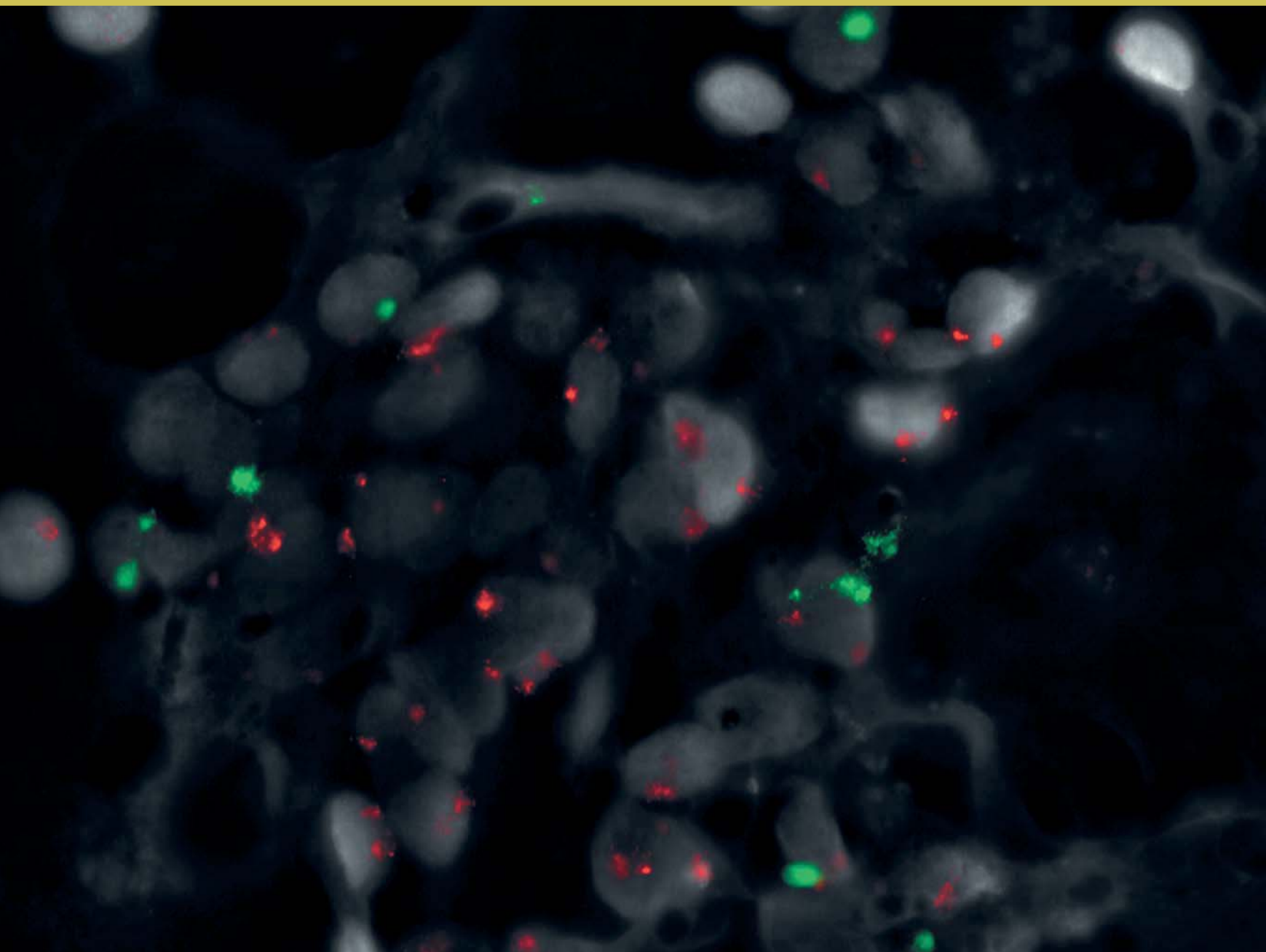
ISSN (Print) 0234-5730
ISSN (Online) 2411-3042

ФГБУ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ГЕМАТОЛОГИИ
МИНЗДРАВА РОССИИ
НАЦИОНАЛЬНОЕ
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

64.3. 2019

RUSSIAN JOURNAL
OF HEMATOLOGY AND
TRANSFUSIOLOGY
(GEMATOLOGIYA I TRANSFUSIOLOGIYA)



II КОНГРЕСС ТРАНСФУЗИОЛОГОВ РОССИИ

26 – 27 НОЯБРЯ 2020 ГОДА, МОСКВА

Глубокоуважаемые коллеги!

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ
СОВЕТ НГО ПО ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

ПРОВОДЯТ 26–27 НОЯБРЯ 2020 ГОДА В МОСКВЕ II КОНГРЕСС ТРАНСФУЗИОЛОГОВ РОССИИ

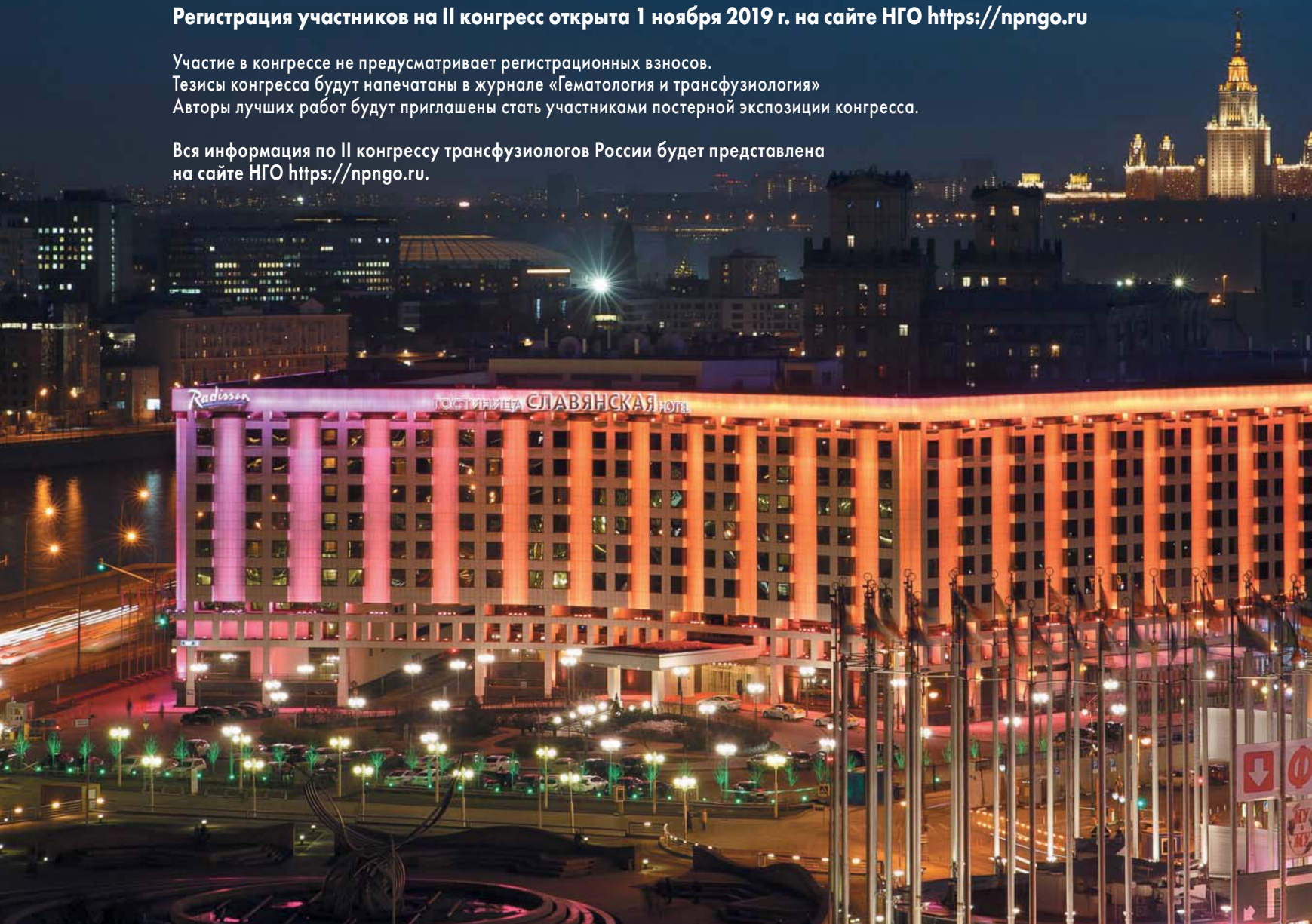
В конгрессе примут участие ведущие российские и зарубежные специалисты в области трансфузиологии, гематологии, трансплантации костного мозга, реаниматологии, клинической лабораторной диагностики, фундаментальных исследований.

**Конгресс будет проходить по адресу: г. Москва, площадь Европы, д. 2;
Деловой центр гостиницы «Рэдиссон Славянская».
Научная программа конгресса будет аккредитована по системе НМО.**

Регистрация участников на II конгресс открыта 1 ноября 2019 г. на сайте НГО <https://npngo.ru>

Участие в конгрессе не предусматривает регистрационных взносов.
Тезисы конгресса будут напечатаны в журнале «Гематология и трансфузиология»
Авторы лучших работ будут приглашены стать участниками постерной экспозиции конгресса.

Вся информация по II конгрессу трансфузиологов России будет представлена на сайте НГО <https://npngo.ru>.



Первый таргетный препарат в своем классе, рекомендованный Российским обществом онкогематологов с первой линии терапии пациентов с ХЛЛ^{7,9}

ИМБРУВИКА — ОПЫТ, КОТОРОМУ ВЫ ДОВЕРЯЕТЕ¹⁻³

>135 000 пациентов в мире⁸



Высокая эффективность и длительная безопасность при терапии ХЛЛ, доказанные временем²

Общая выживаемость в первой линии — 75% через 7 лет²



Увеличивает общую выживаемость пациентов с рецидивом МЛ с большим преимуществом в 1-ом рецидиве⁶



Быстрый, долгосрочный ответ и длительная эффективность у пациентов с рецидивом МВ⁵

Одобен к применению с первой линии МВ¹



Длительная ремиссия и благоприятный профиль безопасности у пациентов с рецидивом ЛМЗ⁷

имбрувика
(ибрутиниб) капсулы

Краткая инструкция препарата ИМБРУВИКА. Регистрационный номер: ЛП-002811. Торговое название препарата: Имбрувика. МНН: ибрутиниб. Лекарственная форма: капсулы. Фармакотерапевтическая группа: противоопухолевые препараты, ингибиторы протеинкиназы. Показания к применению: препарат Имбрувика показан для лечения взрослых пациентов с рецидивирующей или рефрактерной мантийноклеточной лимфомой; показан для лечения взрослых пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом; показан для лечения взрослых пациентов с макроглобулинемией Вальденстрема; показан для лечения пациентов с лимфомой маргинальной зоны, которым требуется системная терапия и которые получили, по крайней мере, один курс анти-CD20-направленной терапии. Противопоказания: известная гиперчувствительность (например, с анафилактическими и анафилактикоидными реакциями) на ибрутиниб или вспомогательные компоненты, содержащиеся в лекарственной форме; беременность и период грудного вскармливания; детский возраст до 18 лет (эффективность и безопасность не подтверждены); тяжелые нарушения функции почек; тяжелые нарушения функции печени (класс С по Чайлд-Пью); пациенты на диализе; совместное применение с мощными индукторами и ингибиторами CYP3A (например, с карбамазепином, рифампином, фенитоином и препаратами, содержащими экстракт зверобоя продырявленного (Hypericum perforatum)); совместное применение с варфарином, другими антагонистами витамина К, рыбьим жиром и препаратами витамина Е. С осторожностью: Препарат Имбрувика должен применяться с осторожностью у пациентов, которым требуется назначение антикоагулянтов (кроме варфарина и других антагонистов витамина К, совместный прием с которыми должен быть исключен) или препаратов, ингибирующих функцию тромбоцитов. Препарат Имбрувика должен применяться с осторожностью в случае совместного применения с мощными и умеренными ингибиторами изофермента CYP3A. Применение при беременности и лактации: Препарат Имбрувика не следует использовать во время беременности. Следует прекра-

тить грудное вскармливание во время терапии препаратом Имбрувика. Способ применения и дозы: Внутрь. Препарат Имбрувика следует принимать 1 раз в сутки, запивая стаканом воды, примерно в одно и то же время каждый день. Капсулы необходимо глотать целиком, запивая водой. Запрещается открывать, разламывать или разжевывать капсулы. Препарат Имбрувика не допускается запивать грейпфрутовым соком. Рекомендуемая доза препарата Имбрувика для терапии пациентов с рецидивирующей или рефрактерной мантийноклеточной лимфомой или пациентов с лимфомой маргинальной зоны, которым требуется системная терапия, составляет 560 мг (четыре капсулы по 140 мг) 1 раз в сутки до прогрессирования заболевания или до тех пор, пока пациент не сможет больше переносить терапию. Рекомендуемая доза препарата Имбрувика для лечения хронического лимфоцитарного лейкоза (в качестве монотерапии или в комбинации с бендамустином и ритуксимабом) и макроглобулинемии Вальденстрема (в монотерапии или в комбинации с ритуксимабом) составляет 420 мг (три капсулы по 140 мг) 1 раз в сутки до прогрессирования заболевания или до тех пор, пока пациент не сможет больше переносить терапию. Побочное действие: наиболее часто наблюдавшимися побочными эффектами являются: диарея, нейтропения, кровотечения (например, кровоотекти), скелетно-мышечная боль, рвота, сыпь и лихорадка. Наиболее часто наблюдавшимися побочными эффектами степени 3 и 4 являются: нейтропения, пневмония, тромбоцитопения и фебрильная нейтропения. Передозировка: Специфичный антидот для препарата Имбрувика отсутствует. Необходимо тщательное наблюдение за состоянием пациентов, принявших дозу выше рекомендуемой, а также проведение надлежащей поддерживающей терапии. Особые указания: Имеются сообщения о геморрагических осложнениях у пациентов, получавших препарат Имбрувика, с тромбоцитопенией и без нее. Терапию препаратом Имбрувика следует приостановить на срок от 3 до 7 дней до и после хирургического вмешательства в зависимости от типа операции и риска возникновения кровотечения. Необходимо рассмотреть проведение

профилактики инфекций в соответствии со стандартами терапии у пациентов с повышенным риском возникновения оппортунистических инфекций. Необходимо проводить наблюдение на предмет появления у пациентов легочных симптомов, характерных для ИЗЛ. В случае персистирования симптомов ИЗЛ необходимо оценить пользу и риски терапии препаратом Имбрувика и следовать указаниями по коррекции его дозы. Фибрилляция и трепетание предсердий, а также случаи желудочковых тахикардий (некоторые из них являлись фатальными) отмечались у пациентов, принимавших препарат Имбрувика, в особенности у пациентов с острыми инфекциями, с наличием факторов риска возникновения кардиологических явлений, с артериальной гипертензией и с сердечными аритмиями в анамнезе. В случае продолжающейся сердечной аритмии необходимо оценить соотношение польза/риск терапии препаратом Имбрувика, и при необходимости провести коррекцию дозы. При рассмотрении возможности назначения ибрутинива пациентам с риском более выраженного укорочения интервала QTc необходимо руководствоваться результатами клинической оценки состояния здоровья пациентов. Риск возникновения синдрома лизиса опухоли присутствует у пациентов, имевших большую опухолевую нагрузку до начала терапии. Необходимо тщательно наблюдать за состоянием пациентов и предпринимать соответствующие меры предосторожности. У пациентов, получающих терапию препаратом Имбрувика, отмечались нежелательные злокачественные новообразования кожи. Необходимо тщательно наблюдать за пациентами на предмет возникновения нежелательных злокачественных новообразований кожи. Влияние на вождение автомобиля и работу с механизмами: у пациентов, принимающих препарат Имбрувика, отмечались усталость, головокружение и астения. Это должно приниматься во внимание при оценке способности пациента к управлению транспортными средствами и механизмами. Условия хранения: Хранить при температуре не выше +25 °C в защищенном от света месте. Хранить в недоступном для детей месте. Рецептный статус: По рецепту.

Препарат ИМБРУВИКА разработан совместно с компанией Pharmacyclics. ООО «Джонсон & Джонсон» является владельцем регистрационного удостоверения и несет ответственность за внесение редакционных правок в настоящий материал

ХЛЛ — хронический лимфоцитарный лейкоз
МВ — макроглобулинемия Вальденстрёма
МЛ — мантийноклеточная лимфома
ЛМЗ — лимфома маргинальной зоны⁷

pharmacyclics
An AbbVie Company

janssen
PHARMACEUTICAL COMPANIES
of Johnson & Johnson

Литература:

1. Инструкция по медицинскому применению препарата Имбрувика от 06.03.2019 года
2. Byrd JC, et al. Up to 7 years follow-up of single-agent ibrutinib in the phase 1b/2 PCYC-1102 trial of first line and relapsed/refractory patients with chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. Abstract presented at the 60th ASH Annual Meeting & Exposition; 1-4 December 2018; San Diego, CA, USA.
3. Woyach JA, et al. Ibrutinib regimens versus chemoimmunotherapy in older patients with untreated CLL. N Engl J Med 2018;379(26):2517-2528.
4. Treon S, et al. Ibrutinib shows prolonged progression-free survival in symptomatic, previously treated patients with MYD88 mutated Waldenström's macroglobulinemia: Long-term follow-up of pivotal trial (NCT01614821). Poster presented at the 23rd congress of the European Hematology Association (EHA); 14-17 June 2018; Stockholm, Sweden.

5. Rule S, et al. Ibrutinib for the treatment of relapsed/refractory mantle cell lymphoma: Extended 3.5-year follow-up from a pooled analysis. Haematologica 2018. doi:10.3324/haematol.2018.205229. [Epub ahead of print].
6. Noy A, et al. Blood. 2017 Apr 20;129(16):2224-2232
7. Davis MS, et al. Future Oncol. 2014 May;10(6):957-67
8. Janssen Press Release: Data presented at ASH 2018 provide evidence of first-line treatment benefits with IMBRUVICA® (ibrutinib)-based therapy across all patient populations in CLL. https://www.janssen.com/emea/sites/www/_janssen_com_emea/files/janssen_emea_imbruvica_ash_press_release_2018_12_05_final.pdf. Accessed January 2019.
9. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. Под руководством профессора И. В. Поддубной, профессора В. Г. Савченко. 2018

ООО «Джонсон & Джонсон»
Россия, 121614, Москва, ул. Крылатская, 17/2
Тел./факс: (495) 755-83-57/758
www.jnj.ru

Для получения информации о способе применения Имбрувика, дозах, нежелательных явлениях и противопоказаниях обратиться к полной инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата.

Перед назначением ознакомьтесь с полной версией инструкции по медицинскому применению. Материал предназначен для специалистов здравоохранения.

Журнал представлен
в международной базе данных Scopus
(Gematologiya i Transfuziologiya) и в российской базе
РИНЦ (Российский индекс научного цитирования)

Импакт-фактор (РИНЦ) — 0,898

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК)
Министерства образования и науки РФ журнал
«Гематология и трансфузиология» включен в перечень
ведущих научных рецензируемых журналов, в которых
должны быть опубликованы основные научные
результаты диссертаций на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук
и ученой степени доктора медицинских наук

УЧРЕДИТЕЛИ:

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр гематологии»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4

Некоммерческое партнерство содействия развитию
гематологии и трансплантации костного мозга
«Национальное гематологическое общество»

Периодичность издания: 4 номера в год
Префикс DOI: 10.35754

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр гематологии» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Телефоны: 89268163887, 89166812291
e-mail: o.levchenko@htjournal.ru

Научный редактор Галстян Г. М.
Корректоры Пигулевская И. С., Зелексон Л. А.
Верстка Чоренький С. И.

Дизайн Чулкова И. Г.

Формат 230x297 мм
Тираж 1500 экз.

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре РФ.
Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-72666
от 16 апреля 2018 года

Издательство: ООО «НЭИКОН ИСП»,
115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5, офис 2.4
тел./факс: +7(499)754-99-94
<https://neicon.ru/>

Объединенный каталог
«Пресса России»: индекс 41284

Подписка через интернет: www.ppressa-rf.ru
Подписка на электронную версию журнала: elibrary.ru
Журнал открыт для ознакомления на сайте
<https://www.htjournal.ru/>

ISSN 0234-5730 (Print)
ISSN 2411-3042 (Online)

Гематология и трансфузиология.
Russian Journal of Hematology and Transfusiology
(Gematologiya i Transfuziologiya)
2019. Т. 64. №3, 239–374

© Федеральное государственное бюджетное учре-
ждение «Национальный медицинский исследова-
тельский центр гематологии» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Контент доступен под лицензией Creative Commons
Attribution 4.0 License.

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1956 ГОДУ

Цели и задачи журнала

Обобщение научных и практических достижений в области гематологии и трансфузиологии, повышение квалификации врачей различных специальностей.

Международный журнал «Гематология и трансфузиология» публикует оригинальные и фундаментальные исследования, лекции, обзоры и клинические наблюдения, касающиеся различных разделов гематологии, гемостазиологии и трансфузиологии: физиологии и патофизиологии кроветворения, миелопоза, иммуногематологии, состояний и заболеваний, обусловленных нарушениями функции и количества тромбоцитов, врожденных и приобретенных нарушений коагуляции и фибринолиза, тромбозов, тромбофилий, вопросов терапии антикоагулянтами и дезагрегантами, вопросов онкогематологии, трансплантации гемопозитических стволовых клеток, генной терапии, экспериментальной биологии и экспериментальной терапии, эпидемиологических исследований, интенсивной терапии критических состояний, возникающих при заболеваниях системы крови, вопросов производственной трансфузиологии, а именно получения и тестирования компонентов крови, их клинического применения при различных заболеваниях.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР ЖУРНАЛА

Савченко Валерий Григорьевич

главный внештатный специалист-гематолог МЗ РФ, академик РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор
ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Галстян Геннадий Мартинович

д.м.н., заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Троицкая Вера Витальевна

к.м.н., заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ЗАВЕДУЮЩАЯ РЕДАКЦИЕЙ

Левченко Ольга Константиновна

к.м.н., старший научный сотрудник отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Афанасьев Борис Владимирович, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, директор НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, заведующий кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Буланов Андрей Юльевич, д.м.н., главный внештатный специалист-трансфузиолог Департамента здравоохранения г. Москвы, руководитель консультативной трансфузиологической бригады ГБУЗ «ГКБ № 52 ДЗ г. Москвы» (Москва, Россия)

Гапонова Татьяна Владимировна, к.м.н., главный внештатный специалист-трансфузиолог МЗ РФ, заместитель генерального директора по трансфузиологии — заведующая отделом трансфузиологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гудков Андрей Владимирович, д.б.н., профессор, директор Института рака Розвелла Парка (Баффало, США)

Звонков Евгений Евгеньевич, д.м.н., заведующий отделением интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Зозуля Надежда Ивановна, д.м.н., заведующая отделом коагулопатий ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Клясова Галина Александровна, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Ковригина Алла Михайловна, д.б.н., заведующая патологоанатомическим отделением ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Крыжановский Олег Игоревич, к.м.н., руководитель программы лечения злокачественных гематологических заболеваний онкологического центра Alta Bates Summit Medical Center (Беркли, Калифорния, США)

Купряшов Алексей Анатольевич, д.м.н., заведующий отделением переливания крови ФГБУ «НМИЦ сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ (Москва, Россия)

Масчан Алексей Александрович, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заместитель генерального директора, директор Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Менделеева Лариса Павловна, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по научной работе и инновациям, заведующая отделением высокодозной химиотерапии паропротенимических гемобластозов ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Никитин Евгений Александрович, д.м.н., заведующий дневным стационаром гематологии, онкологии и химиотерапии ГБУЗ г. Москвы «КБ им. С.П. Боткина» ДЗ г. Москвы (Москва, Россия)

Паровичникова Елена Николаевна, д.м.н., заведующая отделом химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Семочкин Сергей Вячеславович, д.м.н., профессор кафедры онкологии и гематологии ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ (Москва, Россия)

Судариков Андрей Борисович, д.б.н., заведующий лабораторией молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Трахтман Павел Евгеньевич, д.м.н., заведующий отделением заготовки и процессинга гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Тумян Гаяне Сепуговна, д.м.н., профессор кафедры онкологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, ведущий научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ (Москва, Россия)

Чернов Вениамин Михайлович, д.м.н., доктор медицинских наук, член-корреспондент РАЕН, профессор, заведующий научно-консультативным отделом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Алейникова Ольга Витальевна, член-корр. НАН Беларуси, д.м.н., профессор, директор Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск, Республика Беларусь)

Аль-Ради Любовь Саттаровна, к.м.н., зам. заведующего консультативного гематологического отделения с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Байков Вадим Валентинович, д.м.н., заведующий лабораторией патоморфологии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Бигильдеев Алексей Евгеньевич, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Бидерман Белла Вениаминовна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Бондаренко Сергей Николаевич, к.м.н., руководитель отдела онкологии, гематологии и трансплантологии для подростков и взрослых Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Васильев Сергей Александрович, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник консультативного гематологического отделения с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гаврилина Ольга Александровна, к.м.н., старший научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гармаева Татьяна Цыреновна, д.м.н., заместитель генерального директора по организационно-методической работе и взаимодействию с регионами Российской Федерации, заведующий научно-организационным отделом по гематологии, трансфузиологии, донорству ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Головкина Лариса Леонидовна, д.м.н., заведующая лабораторией трансфузиологической иммуногематологии, ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Грицаев Сергей Васильевич, д.м.н., руководитель Республиканского центра трансплантации костного мозга ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА» (Санкт-Петербург, Россия)

Двирник Валентина Николаевна, к.м.н., заведующая централизованной клинко-диагностической лабораторией ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Джулакан Унан Левонович, к.м.н., ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Дроков Михаил Юрьевич, к.м.н., руководитель сектора по изучению иммунных воздействий и осложнений после трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Дубинкин Игорь Владимирович, к.б.н., ведущий специалист группы трансфузионной биотехнологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Ефимов Григорий Александрович, д.б.н., заведующий лабораторией трансплантационной иммунологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Исхаков Эльдор Джасурович, к.м.н., научный руководитель отделения гематологии НИИ гематологии и переливания крови (Ташкент, Узбекистан)

Кохно Алина Владимировна, к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Кузьмина Лариса Анатольевна, к.м.н., заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Кулагин Александр Дмитриевич, д.м.н., профессор, заместитель главного врача по гематологии, онкогематологии и ревматологии Клиники ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Куликов Сергей Михайлович, к.т.н., заведующий информационно-аналитическим отделом ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Луговская Светлана Алексеевна, д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ (Москва, Россия)

Лукина Елена Алексеевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением орфанных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Магомедова Аминат Умарасхабовна, д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Маккарти Филип, профессор онкологии и внутренней медицины Института рака (Розвелл Парк Баффало, США)

Масчан Михаил Александрович, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора, директор Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ (Москва, Россия)

Михайлова Елена Алексеевна, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Моисеева Татьяна Николаевна, к.м.н., заведующая консультативным гематологическим отделением с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Нидервайзер Дитгер, профессор медицины, руководитель отдела гематологии и онкологии университетского госпиталя (Лейпциг, Германия)

Обухова Татьяна Никифоровна, к.м.н., заведующая лабораторией кариологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Салимов Эмин Львович, д.м.н., заведующий отделом заготовки крови и ее компонентов, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) МЗ РФ (Москва, Россия)

Сметанина Наталия Сергеевна, д.м.н., профессор, заместитель директора Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Туполева Татьяна Алексеевна, д.м.н., заведующая отделом вирусологической диагностики ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Туркина Анна Григорьевна, д.м.н., профессор, заведующая научно-консультативным отделением химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Фидарова Залина Таймуразовна, к.м.н., заведующая отделением химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с дневным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Фоа Робин, д.м.н., профессор гематологии, руководитель отдела гематологии Римского университета «La Sapienza» (Рим, Италия)

Хамаганова Екатерина Георгиевна, д.б.н., заведующая лабораторией тканевого типирования, ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Хелльман Ричард, преподаватель клинической медицины в больнице Лоренс Мемориал (Нью-Лондон, США)

Хольцер Дитер, профессор медицины и гематологии университета Франкфурта, вице-президент Европейской школы гематологии и европейской и немецкой сети специалистов по лейкозам, координатор европейской рабочей группы острого лимфобластного лейкоза у взрослых (Франкфурт-на-Майне, Германия)

Цаур Григорий Анатольевич, д.м.н., заведующий лабораторией молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии ОКБ № 1 (Екатеринбург, Россия)

Шипунова Ирина Николаевна, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

The journal is presented in the international database of Scopus (Gematologiya i Transfuziologiya) and Russian database RSCI (Russian Science Citation Index)

IF (RISC) — 0,898

Under the decision of the Higher Attestation Commission (HAC) of the Ministry of Education and Science, Russian Journal of Hematology and Transfusiology is included in the list of leading peer-reviewed scientific journals, where the main scientific results of dissertations for academic degree of Candidate of Sciences and for academic degree of Doctor of Sciences should be published.

FOUNDERS

National Research Center for Hematology of the Ministry of Health of the Russian Federation
125167, Moscow, Novyy Zhykovskiy proezd, 4

Non-profit partnership of assistance to development of hematology and bone marrow transplantation «National Society of Hematology»

Frequency: quarterly
DOI Prefix: 10.35754

ADDRESS OF EDITORIAL

125167, Moscow, Novyy Zhykovskiy proezd, 4
National Research Center for Hematology, Moscow

Phone: +7(495) 921-22-04
E-mail: hi@hijournal.ru

Science editor Galstyan G. M.
Correctors Pigulevskaya I. S., Zelekson L. A.
Layout of Chornenkiy S. I.

Design by Chulkova I. G.

Format 230x297 mm
Printed copies 1500

The journal is registered in Roskomnadzor of the Russian Federation Registrations certificate
PI No. FS77-72666 dated April 16, 2018

NEICON ISP Ltd, Letnikovskaya str., 4,
bldg 5, of. 2.4, Moscow, 115114, Russia
<https://neicon.ru/>

United Catalog «Press of Russia»: Index 41284
Subscription via the Internet: www.pressa-ru.ru
Subscription to the electronic version of the journal: elibrary.ru

ISSN 0234-5730 (Print)
ISSN 2411-3042 (Online)

Гематология и трансфузиология.
Russian Journal of Hematology and Transfusiology
(Gematologiya i Transfuziologiya)
2019. Vol. 64. No.3, 239–374

© National Research Center for Hematology, Moscow

Content is distributed
under Creative Commons Attribution 4.0 License

THE JOURNAL IS BASED IN JANUARY 1956

Aims and Scope

Hematology and Transfusiology is a peer-reviewed scholarly journal aimed at presenting scientifically and practically significant research findings in the field of hematology and transfusiology, as well as at advancing professional competencies of physicians of various specialities.

Hematology and Transfusiology is an international peer-reviewed scholarly journal aimed publishes original research papers, reviews, clinical cases and lecture notes pertaining to a broad range of problems in the fields of hematology, hemostasiology and transfusiology. Among them are the physiology and pathophysiology of hematopoiesis, myelopoiesis, immunohematology; conditions and diseases caused by impaired platelet function and number, congenital and acquired disorders of coagulation and fibrinolysis, thrombosis, thrombophilia; therapy with anticoagulants and disaggregants; problems of oncohematology, hematopoietic stem cell transplantation, gene therapy, experimental biology and experimental therapy; epidemiological studies of blood system diseases, intensive therapy of critical conditions that arise due to various blood system diseases; issues of industrial transfusion, i.e. production of plasma and blood components for treating various diseases and conditions.

EDITOR-IN-CHIEF

Valery G. Savchenko

Dr. Sci. (Med.), Prof., Chief Hematology Specialist of the Ministry of Health of the Russian Federation, RAS Academician, Head of the National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

DEPUTY CHIEF EDITOR

Gennady M. Galstyan

Dr. Sci. (Med.), Head of the Intensive Care Department of the National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

EXECUTIVE SECRETARY

Vera V. Troitskaya

Cand. Sci. (Med.), Head of the Intensive High-Dose Chemotherapy Department for patients with Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

HEAD OF THE EDITORIAL OFFICE

Olga K. Levchenko

Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the Intensive Care Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

EDITORIAL BOARD

Boris V. Afanasyev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Honoured Doctor of the Russian Federation, Head of the Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Head of the Chair of Hematology, Transfusiology and Transplantation, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Andrei Yu. Bulanov, Dr. Sci. (Med.), Chief Transfusiology Specialist of the Moscow Healthcare Department, Head of the Transfusiology Advisory Team of the City Clinical Hospital No. 52, (Moscow, Russia).

Tatyana V. Gaponova, Cand. Sci. (Med.), Chief Transfusiology Specialist of the of the Ministry of Health of the Russian Federation, Deputy Director for Transfusiology, Head of the Department of Transfusiology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Andrei V. Gudkov, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Director of the Roswell Park Comprehensive Cancer Center (Buffalo, USA).

Evgeny E. Zvonkov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of High-Dose Lymphoma Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Nadezhda I. Zozulya, Dr. Sci. (Med.), Head of the Coagulopathy Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Galina A. Klyasova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Laboratory of Clinical Bacteriology, Mycology and Antibiotic Therapy National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

Alla M. Kovrigina, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Pathology Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

Oleg I. Kryzhanovskiy, Cand. Sci. (Med.), Director of Malignant Hematology Program Comprehensive Cancer Center "Alta Bates" Summit Medical Center (Berkeley, CA, USA)

Alexey A. Kupryashov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Blood Transfusion Department, A.N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery (Moscow, Russia)

Alexey A. Maschan, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the of the Russian Academy of Science, Deputy General Director Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Director of the Institute of Hematology, Immunology and Cell's Technology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Larisa P. Mendeleeva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Director for Research and Innovations, Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of paraproteinemic haematological malignancies, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Evgeny A. Nikitin, Dr. Sci. (Med.), Head of the day care Department of Hematology, Chemotherapy and Oncology, Botkin Moscow City Hospital (Moscow, Russia).

Elena N. Parovichnikova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Sergey V. Semochkin, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Chair of Oncology and Hematology, Pirogov Russian National Research Medical University, (Moscow, Russia).

Andrey B. Sudarikov, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Pavel E. Trakhtman, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Transfusiology, Procurement and Processing of Hematopoietic Stem Cells, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Gayane S. Tumyan, Dr. Sci. (Med.), Prof., of the Chair of Oncology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Leading Researcher, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of oncology" (Moscow, Russia).

Veniamin M. Chernov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of the Scientific Consulting Department, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

EDITORIAL COUNCIL

Olga V. Aleinikova, Dr. Sci. (Med.), Prof., RAS Corresponding Member, National Academy of Sciences of Belarus, Head of the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology and Hematology (Minsk, Belarus).

Lyubov S. Al-Radi, Cand. Sci. (Med.), Deputy Head of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Vadim V. Baikov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Pathology Department, Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Associate Professor, Pathology Department, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Alexey E. Bigildeev, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Bella V. Biderman, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, Federal Medical Research Center of Hematology (Moscow, Russia).

Sergey N. Bondarenko, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Oncology, Hematology and Transplantation for Adolescents and Adults, Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Sergey A. Vasiliev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Leading Researcher of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy for High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Olga A. Gavrilina, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Tatyana Ts. Garmaeva, Deputy Director for Organizational and Methodological Work and Cooperation with Regions of the Russian Federation, Head of the Scientific and Organizational Department for Hematology, Transfusiology, Donation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Larisa L. Golovkina, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory for Transfusion Immune Hematology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Sergey V. Gritsaev, Dr. Sci. (Med.), Head of the Republican Center for Bone Marrow Transplantation, Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology under the Federal Medico-Biological Agency (St. Petersburg, Russia).

Valentina N. Dvirnyk, Cand. Sci. (Med.), Head of the Centralized Clinical and Diagnostic Laboratory, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Hunan L. Julhakyany, Cand. Sci. (Med.), Scientific Secretary, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Mikhail Yu. Drovkov, Cand. Sci. (Med.), Head of the Sector for the Study of Immune Effects and Complications After Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Igor V. Dubinkin, Cand. Sci. (Biol.), Leading specialist of the Transfusion Biotechnology Group, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Grigory A. Efimov, Dr. Sci. (Biol.), Head of Transplant Immunology Laboratory, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Eldor D. Iskhakov, Cand. Sci. (Med.), Scientific Director, Department of Hematology, Scientific Research Institute for Hematology and Blood Transfusion (Tashkent, Uzbekistan).

Alina V. Kokhno, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Larisa A. Kuzmina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Alexander D. Kulagin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Chief Doctor for Hematology, Oncohematology and Rheumatology, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Sergey M. Kulikov, Cand. Sci. (Engineering), Head of the Information and Analytical Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Svetlana A. Lugovskaya, Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Moscow, Russia).

Elena A. Lukina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Orphan Diseases Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Aminat U. Magomedova, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of Hematological malignancies, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Philip McCarthy, MD, Prof. of Oncology and Internal Medicine, Roswell Park Comprehensive Cancer Center (Buffalo, USA).

Mikhail A. Maschan, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy General Director, Director of the Higher School of Molecular and Experimental Medicine, Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Elena A. Mikhailova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Leading Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Tatyana N. Moiseeva, Cand. Sci. (Med.), Head of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Dietger Niederwieser, MD, Professor of Medicine, Head of the Department of Hematology and Oncology, Leipzig University Clinic (Leipzig, Germany).

Tatyana N. Obukhova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Karyology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Emin L. Salimov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Blood and its Component Banking; Prof., Department of Anesthesiology and Resuscitation, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Moscow, Russia).

Nataliya S. Smetanina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Director of the Institute of Hematology, Immunology and Cell's Technology Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Tatyana A. Tupoleva, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Virological Diagnostics, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Anna G. Turkina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Scientific Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Diseases, National Research Center for Hematology, (Moscow, Russia).

Zalina T. Fidarova, Cand. Sci. (Med.), Head of day hospital for Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Robin Foa, MD, Professor of Hematology, Head of the Department of Hematology, University of Rome "La Sapienza" (Rome, Italy)

Ekaterina G. Khamaganova, Dr. Sci. (Biology), Head of the Laboratory of Tissue Typing, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Richard M. Hellman, MD, Prof. of Hematology and Medical Oncology, Lawrence Memorial Hospital (New London, USA).

Dieter Hoelzer, MD, PhD, Prof. of Internal Medicine, University of Frankfurt; Vice-President of the European School of Hematology and the European and German Network of Specialists on Leukemia; Coordinator of the European Working Group for Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults (Frankfurt, Germany)

Grigoriy A. Tsaury, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathomorphology, Sverdlovsk Region Clinical Hospital No. 1 (Ekaterinburg, Russia)

Irina N. Shipunova, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

246–255

Чернецкая Д. М., Лихачева Е. А., Пшеничникова О. С.,
Сурин В. Л., Зозуля Н. И.

**Болезнь Виллебранда: сопоставление клинических,
коагулогических и молекулярно-генетических данных**

256–273

Королева Д. А., Габеева Н. Г., Кузьмина Л. А.,
Цыганкова С. В., Булыгина Е. С., Расторгучев С. М.,
Недолужко А. В., Саенко С. С., Нарайкин О. С.,
Гаврилина О. А., Бидерман Б. В., Гальцева И. В.,
Ковригина А. М., Обухова Т. Н., Звонков Е. Е.

**Негативное влияние мутаций в гене TP53
на эффективность терапии лимфомы из клеток мантии.
Промежуточные результаты протокола «ЛКМ-2016»**

274–282

Аббасова М. Т., Гаджиев А. М.

**Изменения показателей обмена железа в крови крыс
при электромагнитном облучении в дециметровом
диапазоне**

283–296

Семочкин С. В., Желнова Е. И., Мисюрин Е. Н.,
Марьин Д. С., Ушакова А. И., Каримова Е. А., Барях Е. А.,
Толстых Т. Н., Маврина Е. С., Юрова Е. В., Черкасова А. В.,
Гришина Е. Ю., Галгоева Д. Э., Яцков К. В., Котенко О. Н.,
Лысенко М. А.

**Клиническое значение восстановления функции
почек у больных с впервые диагностированной
множественной миеломой, осложненной тяжелой
и диализ-зависимой почечной недостаточностью**

297–316

Галстян Г. М., Полеводова О. А., Яковлева Е. В.,
Щекина А. Е.

**Применение ротационной тромбоэластометрии
для диагностики дефицита факторов свертывания
и контроля гемостатической терапии у больных
наследственными коагулопатиями**

317–330

Богатырева Т. И., Терехова А. Ю., Афанасов А. О.,
Кузьмина Е. Г., Мушкарин Т. Ю., Замулаева И. А.,
Смирнова С. Г., Орлова Н. В., Гривцова Л. Ю.,
Фалалеева Н. А., Иванов С. А., Каприн А. Д.

**Влияние исходного дефицита CD4⁺Т-лимфоцитов
периферической крови на результаты химиолучевого
лечения больных лимфомой Ходжкина**

331–341

Пономарев Р. В., Лукина К. А., Сысоева Е. П.,
Чавынчак Р. Б., Соловьева А. А., Яцык Г. А., Куликов С. М.,
Лукина Е. А.

**Поддерживающий режим заместительной ферментной
терапии у взрослых больных болезнью Гоше I типа:
предварительные результаты**

CONTENTS

Original Articles

Chernetskaya D. M., Likhacheva E. A., Pshenichnikova O. S.,
Surin V. L., Zozulya N. I.

**Von Willebrand disease: clinical, coagulological, molecular
and genetic data comparison**

Koroleva D. A., Gabeeva N. G., Kuzmina L. A.,
Tsygankova S. V., Bulygina E. S., Rastorguev S. M.,
Nedoluzhko A. V., Saenko S. S., Gavrilina O. A.,
Biderman B. V., Galtseva I. V., Kovrigina A. M.,
Obukhova T. N., Zvonkov E. E.

**Negative impact of TP53 gene mutations on the efficacy
of the therapy of mantle cell lymphoma. Interim results
of the MCL-20116 protocol**

Abbasova M. T., Gadzhiev A. M.

**Changes in the parameters of iron metabolism in rats'
blood under decimetric electromagnetic radiation**

Semochkin S. V., Zhelnova E. I., Misyurina E. N., Maryin D. S.,
Ushakova A. I., Karimova E. A., Baryakh E. A., Tolstykh T. N.,
Mavrina E. S., Yurova E. V., Cherkasova A. V., Grishina E. Yu.,
Gagloeva D. E., Yatskov K. V., Kotenko O. N., Lysenko M. A.

**Clinical importance of renal recover on outcomes of newly
diagnosed multiple myeloma patients with severe and
dialysis-dependent kidney failure**

Galstyan G. M., Polevodova O. A., Yakovleva E. V.,
Shchekina A. E.

**Rotation thromboelastometry for the diagnosis of factor
deficiency and management of the hemostatic therapy
in patients with inherited coagulation disorders**

Bogatyreva T. I., Terekhova A. Yu., Afanasov A. O.,
Kuz'mina E. G., Mushkarina T. Yu., Zamulaeva I. A.,
Smirnova S. G., Orlova N. V., Grivtsova L. Yu., Falaleeva N. A.,
Ivanov S. A., Kaprin A. D.

**Impact of the pre-treatment CD4⁺ T- lymphocyte
deficiency in the peripheral blood on the results of
chemoradiotherapy in patients with Hodgkin's lymphoma**

Ponomarev R. V., Lukina K. A., Sysoeva E. P., Chavynchak R. B.,
Solovyeva A. A., Yatsyk G. A., Kulikov S. M., Lukina E. A.

**Reduced dosing regimen of enzyme replacement
therapy in adult patients with Type I Gaucher disease:
preliminary results**

Обзоры литературы

342–352

Фидарова З. Т., Абрамова А. В., Лучкин А. В., Михайлова Е. А.

Наличие клона пароксизмальной ночной гемоглобинурии и другие факторы, влияющие на эффективность иммуносупрессивной терапии у больных идиопатической апластической анемией

Клинические наблюдения

353–361

Горенкова Л. Г., Кравченко С. К., Силаев М. А., Ковригина А. М., Рыжикова Н. В.

Терапия резистентных форм подкожной панникулитоподобной Т-клеточной лимфомы

362–374

Сергеева А. М., Абрамова Т. В., Сурин В. Л., Обухова Т. Н., Довыденко М. В., Сунцова М. В., Буздин А. А., Менделеева Л. П.

Сравнение молекулярно-генетической структуры опухолевых клеток до лечения и после констатации рецидива множественной миеломы (краткий обзор и описание клинического случая)

Review Articles

Fidarova Z. T., Abramova A. V., Luchkin A. V.

Clone of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria and other predictors of the response to immunosuppressive therapy in patients with idiopathic aplastic anaemia

Case Reports

Gorenkova L. G., Kravchenko S. K., Silaev M. A., Ryzhikova N. V.

Therapy of the resistant forms of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma

Sergeeva A. M., Abramova T. V., Surin V. L., Obukhova T. N., Dovydenko M. V., Suntsova M. V., Buzdin A. A., Mendeleeva L. P.

Molecular genetic structure of multiple myeloma tumour cells prior to treatment and at the time of relapse: Short review and case report

БОЛЕЗНЬ ВИЛЛЕБРАНДА: СОПОСТАВЛЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ, КОАГУЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДАННЫХ

Чернецкая Д. М.^{*}, Лихачева Е. А.², Пшеничникова О. С.¹, Сурин В. Л.¹, Зозуля Н. И.²

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

¹Лаборатория генной инженерии

²Научно-консультативный отдел коагулопатий

РЕЗЮМЕ

Введение. Болезнь Виллебранда (БВ), являющаяся одной из самых распространенных коагулопатий, имеет сложный характер наследования, который, в зависимости от типа заболевания, может быть как доминантным, так и рецессивным.

Цель настоящей работы — сопоставление клинических, коагулогических и молекулярно-генетических данных, полученных при обследовании больных различными типами БВ.

Материалы и методы: экзоны гена *vWF* для 16 больных БВ секвенировали по методу Сэнгера.

Результаты. Всего было выявлено 12 различных мутаций, одна из которых (Pro2527His) ранее в мировой популяции не встречалась. Наиболее распространенной оказалась микроделеция с.2435delC, являющаяся мажорной во многих странах Европы. Она встретилась у 9 больных, 6 из которых имели самый тяжелый рецессивный 3-й тип заболевания (3 гомозиготы). Еще у 2 больных это нарушение сочеталось с миссенс-мутацией Thr791Met, что позволило диагностировать у них достаточно редкий рецессивный вариант БВ — 2N. В целом, данные молекулярно-генетического анализа соответствовали результатам дифференциальной диагностики типа БВ, основанной на клинической картине заболевания и коагулогических характеристиках. Только в одном случае у больной с предполагаемым 1-м типом БВ была выявлена мутация Arg1374Cys, характерная для типа 2 (A/M). Большая часть мутаций была обнаружена в экзонах 18 (преимущественно это была делеция с.2435delC) и 28, что делает эти экзоны наиболее перспективными при поиске мутаций.

Заключение. Начинать поиск мутаций в гене *vWF* целесообразно с экзонов 18 и 28. Полученные данные могут послужить основой для создания экономичного алгоритма поиска мутаций в гене *vWF* у отечественных больных БВ.

Ключевые слова: болезнь Виллебранда, коагулопатия, кровотечение, молекулярные методы, ген, мутация

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Чернецкая Д.М., Лихачева Е.А., Пшеничникова О.С., Сурин В.Л., Зозуля Н.И. Болезнь Виллебранда: сопоставление клинических, коагулогических и молекулярно-генетических данных. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(3):246–255. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-246-255>

VON WILLEBRAND DISEASE: CLINICAL, COAGULOLOGICAL, MOLECULAR AND GENETIC DATA COMPARISON

Chernetskaya D. M.^{*}, Likhacheva E. A.², Pshenichnikova O. S.¹, Surin V. L.¹, Zozulya N. I.²

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

¹Laboratory of genetic engineering

²Scientific and consulting department of coagulopathies

ABSTRACT

Introduction. Von Willebrand disease (vWD) — one of the most common coagulopathies — is characterised by a rather complicated inheritance pattern, which can be either dominant or recessive depending on the disease type.

Aim. To compare clinical, coagulological and molecular genetic data obtained when examining patients with various types of vWD.

Materials and methods. The vWF gene exons were sequenced in 16 patients suffering from VWD using the Sanger method.

Results. In total, 12 various mutations were identified, one of which (Pro2527His) has not been previously observed in the world population. The c.2435delC microdeletion being a major mutation in many European countries was found to be the most common. This microdeletion was observed in 9 patients, 6 of whom had the most severe recessive form of the disease — type 3 (3 homozygotes). In two patients, this disorder was accompanied by the missense mutation Thr791Met, which allowed the authors to diagnose a rather rare recessive variant of vWD — 2N. In general, the data obtained by molecular genetic analysis correlated with the differential diagnosis of the vWD type, which is based on the clinical picture of the disease and coagulological properties. In only one case, the Arg1374Cys mutation characteristic of type 2 VWD (A/M) was observed in a patient with the alleged type 1 vWD. Most of the mutations were found in exons 18 (mainly c.2435delC deletion) and 28 which makes them the most perspective exons for the mutation search.

Conclusion. The search for mutations in the vWF gene should start from exons 18 and 28. The obtained information provides a basis for developing an economical algorithm aimed at searching for mutations in the vWF gene in our country vWD patients.

Keywords: von Willebrand disease, coagulopathy, bleeding, molecular methods, gene, mutation

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Chernetskaya D.M., Likhacheva E.A., Pshenichnikova O.S., Surin V.L., Zozulya N.I. Von Willebrand disease: clinical, coagulological, molecular and genetic data comparison. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(3):246–255 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-246-255>

Введение

Болезнь Виллебранда (БВ) относится к наиболее распространенным наследственным коагулопатиям. По результатам эпидемиологического исследования [1], частота встречаемости индивидов со сниженной плазменной активностью фактора Виллебранда в различных популяциях может достигать 1 %, хотя по оценкам специализированных медицинских центров, основанным на данных комплексного анализа, включающего коагулологические и генетические тесты, частота встречаемости БВ не превышает 1:10 000 [2]. Заболевание вызывается дефицитом или структурно-функциональными нарушениями фактора фон Виллебранда (vWF) — крупного мультимерного гликопротеина, играющего важную роль в поддержании гемостаза. Разные домены этого белка взаимодействуют с фактором свертывания крови VIII (FVIII), гликопротеинами на поверхности тромбоцитов и коллагеном [3]. Ген *vWF* локализован в прителомерной области короткого плеча 12-й хромосомы (12p13.31), занимает на ней около 178 тпн и состоит из 52 экзонов [4]. Существует также частичная копия этого гена — непроцессированный псевдоген на длинном плече хромосомы 22 (22q11–13), включающий экзоны 23–34 и имеющий гомологию с геном 97 % [5].

Различают первый, второй и третий типы БВ, причем для второго типа выделяют также четыре подтипа заболевания (2А, 2В, 2М и 2N) [6]. Общая и дифференциальная (по типам) диагностика БВ осуществляется на основе определения клинического, лабораторного и молекулярного фенотипов. Геморрагический синдром преимущественно по микроциркуляторному типу варьирует в широких пределах — от легких, малосимптомных, до тяжелых клинических форм. Фенотипы БВ во многом определяются генетическим фоном и зависят от типа мутации, степени экспрессии гена, а также остаточной функциональной активности гликопротеина. В этой связи внутри каждого типа БВ могут наблюдаться субпопуляции с тяжелыми или более легкими проявлениями [7]. При тяжелых формах, преимущественно 3-м типе БВ, помимо кровоточивости из слизистых оболочек, могут возникать гемартрозы. Однако данные о частоте артропатии при БВ немногочисленны [8–10].

При коагулологическом исследовании оценивают антиген vWF (vWF:Ag), активность FVIII (FVIII:C) (она снижается, если снижена активность vWF) и ристоцетин-кофакторную активность (vWF:RCO). Для уточнения типа заболевания исследуют агрегацию тромбоцитов, индуцированную ристоцетином, и профиль мультимеров vWF с помощью электрофореза в агарозном геле.

Наиболее распространена БВ 1-го типа, она составляет от 55 до 70 % всех диагностированных случаев. Чаще всего при этом варианте заболевания наблю-

дается снижение количества vWF без нарушения его функций. Самая редкая (1–3 %) и тяжелая форма БВ 3-го типа характеризуется практически полным отсутствием vWF. Поскольку одной из функций vWF является связывание с FVIII и его защита от преждевременного протеолиза, у больных БВ 3-го типа наблюдается не только отсутствие vWF, но и очень низкое значение FVIII:C.

При БВ 2-го типа наблюдаются качественные дефекты vWF, которые у большинства больных выражаются в непропорциональном снижении vWF:RCO (или vWF:CB) по отношению к vWF:Ag. Для диагностики подтипов БВ типа 2 используют анализ структуры мультимеров vWF.

У больных БВ типа 2А наблюдаются изолированный дефицит высокомолекулярных мультимеров vWF и сниженная vWF-зависимая адгезия тромбоцитов.

Тип 2В БВ включает различные варианты качественного дефекта vWF, выражающиеся в его повышенном сродстве к рецептору гликопротеину Ib-тромбоцитов.

Тип 2М БВ включает различные варианты качественного дефекта vWF, выражающиеся в снижении vWF-зависимой адгезии тромбоцитов без изолированного дефицита высокомолекулярных мультимеров vWF. Функциональный дефект обусловлен мутациями, в результате которых происходит нарушение связывания vWF с тромбоцитами или субэндотелием.

Тип 2N БВ (Нормандия) был впервые описан в 1990 г. [11]. У больных с БВ типа 2N имеется дефект vWF в месте связывания с FVIII. В результате этого не может образоваться комплекс vWF–FVIII. Данный вариант БВ определяют с помощью теста связывания vWF с FVIII [12]. У многих больных с данным вариантом БВ ранее диагностировали гемофилию А легкой или умеренной степени тяжести (FVIII:C составляет 5–22 %) [13].

Анализ мутаций в гене *vWF* позволяет не только верифицировать диагноз БВ, но и способствует уточнению типа заболевания, поскольку генные дефекты, соответствующие различным типам и подтипам БВ, различаются по своему характеру и локализации [14, 15]. Так, для БВ 1-го и 3-го типов характерны «тяжелые» мутации, приводящие к полному отсутствию функционального белка (нонсенс-мутации, frameshift-мутации, мутации в канонических динуклеотидах сайтов сплайсинга) и рассеянные по всему пространству гена, тогда как при 2-м типе (кроме рецессивных вариантов 2А и 2N) встречаются только приводящие к аминокислотным заменам миссенс-мутации, причем преимущественно в самом большом экзоне 28 гена *vWF* (1399 пн), кодирующем домены А1 и А2, отвечающие за мультимеризацию белка. Варианты БВ 3-го типа и подтипа 2N наследуются рецессивно, и, следовательно, для их проявления необходимо наличие мутаций в обоих аллелях гена *vWF*. Для подтипов 2В и 2М характерно

доминантное наследование, то есть достаточно нарушения только в одном из аллелей. Тип 1 и подтип 2А в генетическом плане более сложны и могут иметь оба варианта наследования [14].

Цель настоящей работы — сопоставление клинических, коагулологических и молекулярно-генетических данных, полученных при обследовании российских больных различными типами БВ.

Больные и методы

Больные

В исследование было включено 15 больных с установленным диагнозом БВ и один больной с генетически не подтвердившимся первичным диагнозом гемофилия А. Критериями диагноза БВ были: клинические проявления геморрагического синдрома, семейный анамнез и снижение $vWF:RCo$. Диагностический алгоритм выполнялся в соответствии с Национальными клиническими рекомендациями Российской Федерации [16]. Характеристика больных: 4 больных 1-м типом БВ (25 %), 5 больных 2-м типом БВ (31 %), 6 больных 3-м типом БВ (37 %), один больной, у которого первоначально был установлен диагноз легкой формы гемофилии А (7 %); средний возраст (лет) 47 (21–71), средняя масса тела (кг) 72 (48–90); пол м/ж 5/11. Больные старше 40 лет составили 69 % (11/16). Проводилась оценка клинико-анамнестических данных, результатов исследования свертывающей системы крови и генеалогических данных. Тяжелое проявление болезни наблюдалось у 50 % больных, средняя частота геморрагических эпизодов по микроциркуляторному типу была 3–4 раза в месяц. У одной больной 3-м типом БВ в анамнезе было тотальное эндопротезирование коленного сустава. Коморбидные состояния у 11 больных старшей возрастной группы: заболевания желудочно-кишечного тракта были у 27 % (3), онкологические заболевания — у 9 % (1), аутоиммунные заболевания — у 9 % (1), кардиальная патология — у 27 % (3).

С гемостатической целью применялись концентраты FVIII, сбалансированные по vWF в соотношении FVIII/ vWF (500/1200); FVIII/ vWF (450/400). Шесть больных получали лечение в профилактическом режиме 40 МЕ/кг массы тела два раза в неделю. Десяти больным лечение проводилось концентратами FVIII+ vWF по необходимости в стандартных терапевтических дозах.

Коагулологические тесты

Определение FVIII:C, $vWF:RCo$ выполнялось одностадийным клоттинговым методом; $vWF:Ag$ — методом иммуноферментного анализа; агрегацию тромбоцитов, индуцированную ристоцетином, определяли оптическим методом. Оценивали соотношение $vWF:RCo/vWF:Ag$, значение данного показателя $\geq 0,7$ соответствует 1-му типу БВ, до 0,7 — 2-му типу БВ.

Анализ мутаций в гене vWF

ДНК выделяли из периферической крови фенол-хлороформным методом. ПЦР проводили с использованием набора PCR Master Mix (2x) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Нуклеотидные последовательности праймеров, температура отжига при ПЦР и использование бетаина (1/5 объема реакционной смеси) для амплификации GC-богатых фрагментов приведены в таблице 1. Очистку ПЦР продуктов для секвенирования проводили при помощи системы Wizard® PCR Preps DNA Purification System (Promega Corporation, Madison, WI, USA). Олигонуклеотидные праймеры синтезировали в ЗАО «Синтол» (Москва). Секвенирование проводили в ЦКП «Геном» ИМБ РАН с помощью набора реактивов BigDye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems, США) с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3100Avant (Applied Biosystems, США).

Найденные мутации анализировали с использованием баз данных EAHAD (https://grenada.lumc.nl/LOVD2/VWF/home.php?select_db=VWF) и HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>).

Для определения патогенности новой мутации (Pro2527His) использовались следующие ресурсы: Mutation Taster, Provean, SIFT и PolyPhen.

Результаты

В данной работе проведен анализ мутаций в гене vWF у 15 больных БВ. В исследование был также включен больной, у которого первоначально была диагностирована легкая форма гемофилии А (FVIII 3,8 %), но при полном анализе гена $F8$ не найдено никаких отклонений от нормы. Исследовали структуру 23 экзонов из 52 (табл. 1), в которых сосредоточено около 90 % известных к настоящему времени мутаций в гене vWF . Патологические варианты гена vWF были выявлены у всех 16 больных (табл. 2, 3).

Микроделеция с.2435delC, локализованная в экзоне 18, оказалась в исследованной выборке больных самой распространенной, она трижды встретилась в гомозиготном состоянии (№ 6, 8 и 15) и шесть раз — в гетерозиготном (№ 4, 5, 8, 10, 13 и 16). У больных № 9 и 16 эта мутация сочеталась с миссенс-мутацией с.2372 C>T в том же экзоне.

В экзоне 28 выявили пять различных мутаций. У больного № 4 найдена не только мутация с.2435delC в 18-м экзоне, но и с.4975 C>T в 28-м экзоне. В гетерозиготном состоянии в этом экзоне найдены мутации: с.4120 C>T у больного № 3, с.4825 G>A у больного № 7, с.4790 G>A у больного № 11 и с.4517 C>T у больного № 12.

В пяти экзонах было обнаружено по одной мутации. У больного № 2 в 26-м экзоне с.3437 A>G, у больного № 14 в 7-м экзоне с.817 C>T. У больных № 5 и 13

Таблица 1. Системы праймеров, использованные для амплификации и секвенирования гена *vWF***Table 1.** Primer sets used for amplification and sequencing of *vWF* gene

Номер экзона Exon number	Система праймеров Primer set	Позиция в гене <i>vWF</i> GeneBank NCBI NG_009072 Position in <i>vWF</i> gene GeneBank NCBI NG_009072	$T_{отж}$, °C $T_{анн}$, °C	Бетаин Betain
3	CTGATGGTCCCAGTTGTGCC TTCCGCTCAGACACTGTCCT	3275–3294 3660–3581	65	–
4–5	GCTGAGAAAAGGTTACGTAGA GAAGGCATGTTAGTGAAGGTT	13608–13628 14381–14361	62	–
7	AAGTCTCAGTGCCACACTCA CACAGCCCCGAAGCACCCCTA	49052–49071 49422–49403	65	–
11–12	TGCAGTTTTGGGGAAGGGCA GTTGAGAAGGAGGGGTGCTAA	59291–59310 60494–60475	65	–
18	GATGCCCTCCCAGTCCCACA CTCACTCATCCCTGCCTACA	8004–80064 80444–80425	65	+
19	GCTGGAGGAGGGCTTTAGAT TGGAGGCAAGTGCGGAAGGT	88117–88136 88375–88356	62	–
25	CCAGACTAAGAGCCAGAGTTCC CATCCAGTCCCTACTAACACT	100817–100838 101170–101150	65	+
26–27	CCAACATTATCTCCAGATGGC TTACCCAAAACCTAGTCTCTAA	101674–101694 102853–102832	62	+
28	CAGAAGTGTCCACAGGTTCT GCAGATGCATGTAGCACCAA	104871–104890 106380–106361	62	+
29–31	CACGCCCTGCAGATCCTATT AAAGTAACCCCAGCCCACTT	107705–107724 108666–108647	62	+
33–34	CTCATGTCCCTATGTCTCCA CCTGCTCTACTTTTCTGCACA	112383–112402 114134–113114	62	+
36–37	TGCAGGAAGTCTCGGTAAGT GGCACAGAGAGGCTGAGCAA	129981–130000 130878–130859	65	+
42	GCACCCTATAGCATAGCTGA CATGAGGAGCACATGTTGCT	142604–142623 143025–143006	65	–
43	GGTGCTAACTACCGCTTGT ACCTTCCTAAGATGCCCTC	148346–148365 148634–148615	62	+
45	CGTCTAGAAACCACTTCCT TCGGTCCTATCCATTCCCT	155181–155200 155577–155558	65	+
52	CCAGAGCCCTGCCTAAGCCA CCTGCCACCGTTGCCATCT	175400–175419 180843–180824 (NG_009072.1)	65	+

мутация с.2435delC была дополнена гетерозиготными мутациями в других экзонах: в 37-м с.6532 и 25-м с.3301 T>C соответственно.

Отдельный интерес представляет мутация с.7580 C>A у больного № 1 в экзоне 45. Она не встречалась ранее в литературе, поэтому для определения патогенности найденной вариации использовали различные системы анализа белковых структур, которые дали следующие результаты: Mutation Taster (disease causing: $p = 0,799$), Provean (neutral: score $-2,38$), SIFT (damaging: score 0,018) и PolyPhen (HumDiv probably damaging: score 1,000, HumVar probably damaging: score 0,972). Таким образом, три из четырех использованных программ указали на патогенность найденной замены, а в системе Provean полученный коэффициент был близок к границе между нейтральностью и патогенностью.

Обсуждение

В соответствии с клинической картиной заболевания и коагулологическими характеристиками, у 4 больных был определен тип 1 БВ, у 5 — тип 2 и у 6 — тип 3. У больных БВ 3-го типа наблюдалось тяжелое течение болезни с высокой частотой геморрагических эпизодов и определялись низкие значения *vWF*-Ag (0–3,8 %) и *vWF*:RCo (1,21–3,5 %). У всех 6 больных была найдена одна и та же микроделеция в экзоне 18 с.2435delC, приводящая к синтезу сильно укороченного нефункционального белка, причем у 3 больных в гомозиготном состоянии (№ 6, 8 и 15).

В группе больных, у которых мутации выявлены в гомозиготном состоянии, наиболее выраженное поражение опорно-двигательного аппарата наблюдалось у больной № 6 (рис. 1). Дебют геморрагического синдрома у нее возник в раннем детском возрасте, а с 4 лет наблюдались рецидивирующие гемартрозы коленных суставов с по-

Таблица 2. Коагулогические и генетические характеристики больных БВ
Table 2. Coagulological and genetic characteristics of vWD patients

Номер больного Patient's No.	Тип БВ по фенотипу vWD type by phenotype	Коагулогические тесты Coagulological tests	Экзон Exon	Мутация Mutation	Тип БВ по генотипу VWD type by genotype
1	1	FVIII 7,9 % vWF:RCo 21 % AgVWF 7,9 % RIPA 37 %	45	c.7580 C>A Pro2527His	?
2	2	FVIII 22,6 % vWF:RCo 6,23 % AgVWF 14 % RIPA 88 %	26	c.3437 A>G Tyr1146Cys	2A
3	1	FVIII 28 % vWF:RCo 12,6 % AgVWF 18 % RIPA 69 %	28	c.4120 C>T Arg1374Cys	2A/2M
4	3	FVIII 10,1 % vWF:RCo 3 % AgVWF 3 % RIPA 5 %	18 28	c.2435delC c.4975 C>T Arg1659X	3
5	1	FVIII 3,3 % vWF:RCo 21,1 % AgVWF 6,5 % RIPA 4 %	18 37	c.2435delC c.6532 G>T Ala2178Ser	1 rec
6	3	FVIII 3,6 % vWF:RCo 1,21 % AgVWF 3,8 % RIPA 6 %	18 18	c.2435delC c.2435delC	3
7	2	FVIII 55 % vWF:RC 6 % AgVWF 34 % RIPA 29 %	28	c.4825 G>A Gly1609Arg	2A
8	3	FVIII 6,7 % vWF:RCo 2,2 % AgVWF 0 % RIPA 10 %	18 18	c.2435delC c.2435delC	3
9	2	FVIII 13 % vWF:RCo 109 % Ag VWF 27,5 % RIPA 92 %	18 18	c.2435delC c.2372 C>T Thr791Met	2N
10	3	FVIII 9,25 % vWF:RCo 3,5 % AgVWF 0,8 % RIPA 6 %	18	c.2435delC	3
11	2	FVIII 105 % vWF:RCo 16,4 % Ag vWF 48,4 % RIPA 80 %	28	c.4790 G>A Arg1597Gln	2A
12	2	FVIII 53,6 % vWF:RCo 4,5 % AgVWF 57,1 % RIPA 89 %	28	c.4517 C>T Ser1506Leu	2A
13	3	FVIII 3,5 % vWF:RCo 2,1 % Ag VWF 2,7 % RIPA 11 %	18 25	c.2435delC c.3301 T>C Cys1101Arg	3
14	1	FVIII 20,9 % vWF:RCo 2,21 % AgVWF 1,4 % RIPA 17 %	7	c.817 C>T Arg273Trp	?
15	3	FVIII 2,5 % vWF:RCo 1,4 % AgVWF 2,1 RIPA 11 %	18 18	c.2435delC c.2435delC	3
16	Гемофилия А	FVIII 3,8 %	18 18	c.2435delC c.2372 C>T Thr791Met	2N

Примечание. Норма FVIII (50–120 %) vWF:RCo (50–150 %) vWF-Ag (50–150 %) RIPA (80–100 %).

Note. Norm of FVIII (50–120 %) vWF:RCo (50–150 %) vWF-Ag (50–150 %) RIPA (80–100 %).

следующим формированием тяжелой артропатии. В возрасте 39 лет было произведено тотальное эндопротезирование левого коленного сустава. Кроме того, у больной в анамнезе были меноррагии и апоплексия яичников.

Мутация c.2435delC широко распространена в странах Балтии, но найдена также и в других европейских популяциях [17, 18]. У больной № 4 она встретилась в сочетании с нонсенс-мутацией Arg1659X, также приводящей к синтезу укороченного нефункционального белка и являющейся мажорной в Финляндии [19], а у больной № 13 — в сочетании с миссенс-мутацией Cys1101Arg в области гена *vWF*, кодирующей домен D3. Замены цистеина в домене D3 обычно приводят к нарушению мультимеризации *vWF*.

Кроме того, данная микроделеция в сочетании с другими мутациями была выявлена у больных БВ 1-го

(№ 5) и 2-го (№ 9) типов, а также у больного, у которого первоначально были диагностирована гемофилия А (№ 16). У больного № 10 мутация c.2435delC оказалась в гетерозиготном состоянии и других мутаций не найдено. Возможно, у него есть дополнительная мутация в одном из экзонов, не охваченных в данном исследовании. У больной № 5 микроделеция c.2435delC была идентифицирована в сочетании с миссенс-мутацией Ala2178Ser. Низкие уровни vWF-Ag (6,5 %) и активности FVIII (3,3 %) в сочетании с высокой остаточной vWF:RCo (21,1 %) свидетельствуют в данном случае в пользу редкой рецессивной формы БВ 1-го типа. У этой больной наблюдался геморрагический синдром (меноррагии, длительные кровотечения после удаления зубов), и по поводу поликистоза яични-

Таблица 3. Мутации в гене *vWF*, выявленные у больных БВ**Table 3.** Mutations in *vWF* gene identified in *vWD* patients

№	Мутация Mutation	Экзон Exon	Число больных Number of patients	Статья с первым описанием First description
1	c.817 C>T Arg273Trp	7	1	Allen et al., [22]
2	c.2372 C>T Thr791Met	18	2	Gaucher, [20]
3	c.2435delC	18	9 (3)*	Zhang et al., [17]
4	c.3301 T>C Cys1101Arg	25	1	Gadisseeur, et al. [26]
5	c.3437 A>G Tyr1146Cys	26	1	James et al. [27]
6	c.4120 C>T Arg1374Cys	28	1	Hilbert et al., 1995 [24]
7	c.4517 C>T Ser1506Leu	28	1	Pérez-Casal, [28]
8	c.4790 G>A Arg1597Gln	28	1	Ginsburg, et al. [29]
9	c.4825 G>A Gly1609Arg	28	1	Donner et al., [30]
10	c.4975 C>T Arg1659X	28	1	Zhang et al., [17]
11	c.6532 G>T Ala2178Ser	37	1	Cumming et al., [31]
12	c.7580 C>A Pro2527His	45	1	Новая New

Примечание. (3)* — трое больных являлись гомозиготами по данной мутации.

Note. (3)* — three patients were homozygous by this mutation.

ков, полипов эндометрия, внематочной беременности ей выполнялись оперативные вмешательства на фоне гемостатической терапии концентратом FVIII, сбалансированным по *vWF*. К настоящему времени отмечается отсутствие геморрагического синдрома, специфическая гемостатическая терапия не требуется.

У больной № 9 и больного № 16 вторым дефектом была миссенс-мутация Thr791Met, относящаяся к группе рецессивных вариантов *vWF*, при которых нарушено связывание с FVIII [20]. Таким образом, оба этих случая можно классифицировать как БВ типа 2N. У многих больных данным вариантом БВ ранее диагностировали гемофилию А легкой или умеренной степени тяжести [13, 21]. У больной № 9 наблюдалась клиническая картина рецидивирующих десневых кровотечений, длительных луночковых кровотечений после удаления зубов, меноррагий, послеоперационных (аппендэктомия) гематом. Диагноз БВ был верифицирован в возрасте 23 лет. Амбулаторно наблюдается в НМИЦ гематологии с 1994 г. Отмечено волнообразное течение заболевания с отсутствием клинических проявлений до 6 мес. В настоящее время, учитывая сопутствующий множественный генерализованный пародонтит, больной планируется хирургическая санация полости рта на фоне гемостатической терапии концентратом FVIII/*vWF* (450/400) (нагрузочная доза 70 МЕ/кг, поддерживающая доза 25 МЕ/кг).

Дифференциальная диагностика БВ по типам и подтипам довольно часто представляет собой непростую задачу, особенно это относится к 1-му типу заболевания, которое может иметь как доминантную, так и рецессивную форму наследования. У больной № 14 с предполагаемым 1-м типом БВ на настоящий момент времени выявлена только миссенс-мутация Arg273Trp в гетерозиготном состоянии. Известно, что гомозиготность по этому генетическому дефекту приводит

к нарушению мультимеризации и секреции *vWF* и ассоциируется с 3-м типом заболевания [22, 23]. Наблюдающиеся крайне низкие показатели *vWF*:RCo (2,21 %) и *vWF*-Ag (1,4 %) предполагают возможное наличие у больной нарушения и во втором аллеле, и в данном случае необходимо полное исследование гена *vWF*.

У больной № 3 выявлена в гетерозиготной форме миссенс-мутация Arg1374Cys, которую ранее относили к 1-му типу БВ, но затем было показано, что она соответствует 2A/2M типам заболевания [24, 25]. Данное нарушение локализовано в домене A1 и вызывает aberrantную мультимеризацию белка.

У больного № 1 с предполагаемым 1-м типом БВ была обнаружена в гетерозиготном состоянии миссенс-мутация Pro2527His, единственная из найденных нами в данном исследовании мутаций, не описанная в литературе. Локализованные в соседних участках домена C1 замены Gln2520Pro и Gly2518Ser нарушают мультимеризацию белка и соответствуют 1-му типу БВ [25]. По нашим данным, она оказалась патогенной. Основные геморрагические проявления у этого больного представляли собой рецидивирующие носовые кровотечения, кроме того, возникали кровоизлияния в склеру глаз на фоне подъема АД до 130/90 мм рт. ст. В возрасте 62 лет после операции уретеролитоэкстракции возникла гематурия. При обследовании был верифицирован диагноз БВ 1-го типа и диагностирована моноклональная гаммапатия. Секреция белка Бенс-Джонса не выявлена. Больной получает гемостатическую терапию концентратом FVIII/*vWF* (450/400) в профилактическом режиме 2700 МЕ × 2 раза в неделю.

У 4 больных БВ 2-го типа были выявлены в гетерозиготном состоянии известные доминантные миссенс-мутации, нарушающие мультимеризацию *vWF*. В трех случаях (№ 7, 11 и 12) они были найдены в экзоне 28, где чаще всего встречаются нарушения, приводящие к БВ

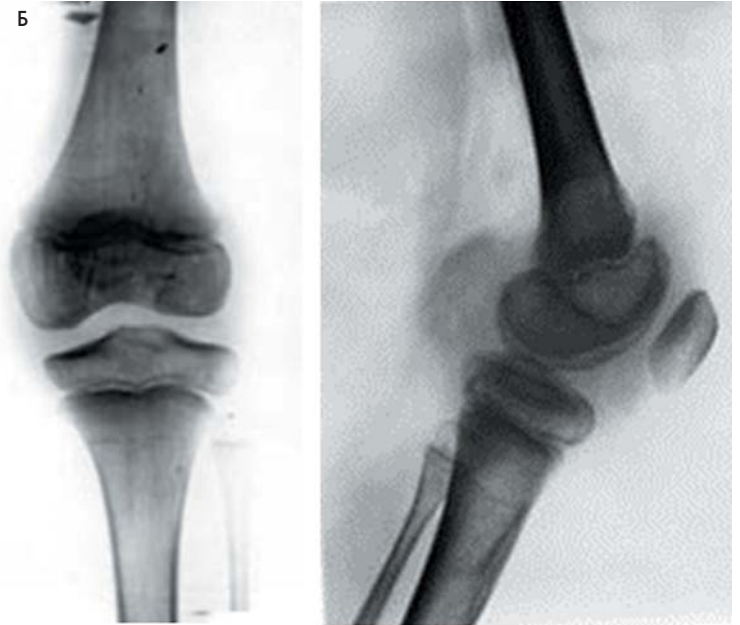
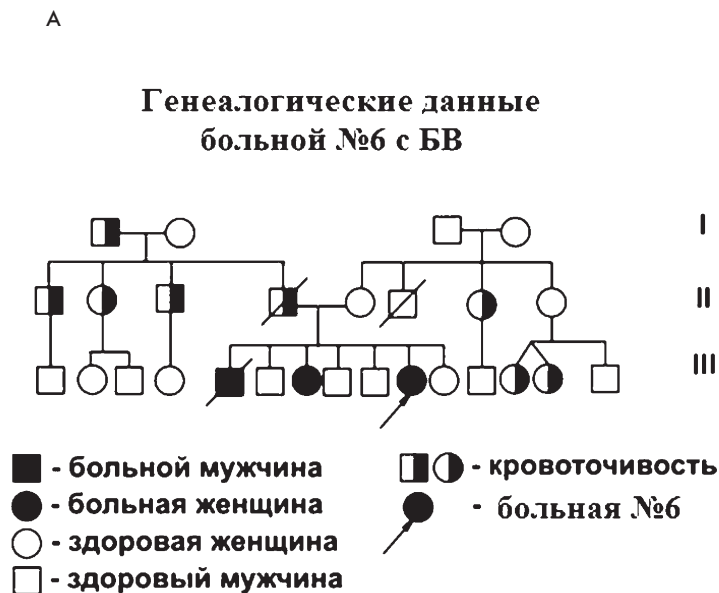


Рисунок 1. А — генеалогические данные больной БВ (№ 6) с 3-м типом БВ

Б — рентгенологические снимки левого коленного сустава больной с признаками гемартроза

Figure 1. А — pedigree of the patient №6 with VWD 3 type. Б — Roentgenograms of the left knee-joint of the patient with hemarthrosis signs

2-го типа [14]. Все три мутации (Ser1506Leu, Arg1597Gln, Gly1609Arg) были локализованы в области гена, кодирующей домен A2. У больной № 2 мутация Tyr1146Cys была найдена в экзоне 26, кодирующем домен D3.

Таким образом, в данном исследовании были определены мутации в гене *vWF* у 16 больных БВ. Всего было выявлено 12 различных мутаций, одна из которых (Pro2527His) оказалась новой. Наиболее распространенной в отечественной популяции является микроделеция с.2435delC, встретившаяся у 9 из 16 больных преимущественно с 3-м типом заболевания, причем у 3 больных — в гомозиготном состоянии. В целом, данные молекулярно-генетического анализа соответ-

ствовали результатам дифференциальной диагностики типа БВ, основанной на клинической картине заболевания и коагулологических характеристиках. Только в одном случае у больной предполагаемым 1-м типом БВ была выявлена мутация, характерная для типа 2 (A/M), и еще в 2 случаях уточнен подтип 2-го типа заболевания (2N). Из 24 найденных мутаций 14 пришлось на экзон 18 (преимущественно это была делеция с.2435delC) и еще 5 — на экзон 28. Из этих результатов следует, что начинать поиск мутаций в гене *vWF* целесообразно с экзонов 18 и 28. Полученные данные могут послужить основой для создания экономичного алгоритма поиска мутаций в гене *vWF* у отечественных больных БВ.

Литература

1. Rodeghiero F., Castaman G., Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood*. 1987; 69: 454–9.
2. Werner E.J., Broxson E.H., Tucker E.L. et al. Prevalence of von Willebrand disease in children: a multiethnic study. *J Pediatr*. 1993; 123: 893–8.
3. Zimmerman T., Ruggeri Z. Von Willebrand disease. *Human Pathology*. 1987; 18(2): 140–52. DOI: 10.1016/S0046-8177(87)80332-5
4. Mancuso D.J., Turley E.A., Westfield L.A. et al. Structure of the gene for human von Willebrand factor. *J Biol Chem*. 1989; 264(33): 19514–27.
5. Mancuso D.J., Tuley E.A., Westfield L.A. et al. Human von Willebrand factor gene and pseudogene: structural analysis and differentiation by polymerase chain reaction. *Biochemistry*. 1991; 30(1): 253–69. DOI: 10.1021/bi00215a036
6. Sadler J. A Revised Classification of von Willebrand Disease. *Thromb Haemost.* 1994; 72(04): 520–5. DOI: 10.1055/s-0038-1642471
7. Federici A.B., Castaman G., Thompson A., Berntorp E. Von Willebrand's disease: clinical management. *Haemophilia*. 2006; 12(3): 152–8.
8. Federici A.B., Mannucci P.M. Diagnosis and management of von Willebrand disease. *Haemophilia*. 1999; 5(2): 28–37.

References

1. Rodeghiero F., Castaman G., Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood*. 1987; 69: 454–9.
2. Werner E.J., Broxson E.H., Tucker E.L. et al. Prevalence of von Willebrand disease in children: a multiethnic study. *J Pediatr*. 1993; 123: 893–8.
3. Zimmerman T., Ruggeri Z. Von Willebrand disease. *Human Pathology*. 1987; 18(2): 140–52. DOI: 10.1016/S0046-8177(87)80332-5
4. Mancuso D.J., Turley E.A., Westfield L.A. et al. Structure of the gene for human von Willebrand factor. *J Biol Chem*. 1989; 264(33): 19514–27.
5. Mancuso D.J., Tuley E.A., Westfield L.A. et al. Human von Willebrand factor gene and pseudogene: structural analysis and differentiation by polymerase chain reaction. *Biochemistry*. 1991; 30(1): 253–69. DOI: 10.1021/bi00215a036
6. Sadler J. A Revised Classification of von Willebrand Disease. *Thromb Haemost.* 1994; 72(04): 520–5. DOI: 10.1055/s-0038-1642471
7. Federici A.B., Castaman G., Thompson A., Berntorp E. Von Willebrand's disease: clinical management. *Haemophilia*. 2006; 12(3): 152–8.
8. Federici A.B., Mannucci P.M. Diagnosis and management of von Willebrand disease. *Haemophilia*. 1999; 5(2): 28–37.

9. Blomback M., Eikenboom J., Lane D. et al. Von Willebrand disease biology. *Haemophilia*. 2012; 18(4): 141–7.
10. Баркаган З.С. Болезнь Виллебранда. В кн.: Руководство по гематологии. Ред. Воробьев А.И. М.: Ньюдиамед. 2005; 3: 71–3.
11. Drewke E., Krey S., Schneppenheim R., Budde U. A variant of von Willebrand disease (Type 2N) resembling phenotypically mild or moderately severe haemophilia. *Infusionsther Transfusionsmed*. 1995; 22 (1): 48–50.
12. Папаян Л.П., Головина О.Г. Вариантные формы болезни Виллебранда. *Терапевтический архив*. 1990; 7: 86–92.
13. Mazurier C. Von Willebrand disease masquerading as haemophilia A. *Thromb. Haemost.* 1992; 67: 391–6.
14. Goodeve A.C. The genetic bases of von Willebrand disease. *Blood Reviews*. 2010; 24: 123–34. DOI: 10.1016/j.blre.2010.03.003
15. Flood V.H. New insights into genotype and phenotype of VWD. *Hematology*. 2014; 2014(1): 531–5. DOI: 10.1182/asheducation-2014.1.531
16. Лихачева Е.А., Полянская Т.Ю., Зоренко В.Ю. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Виллебранда. М.: Национальное гематологическое общество, 2014.
17. Zhang Z.P., Falk G., Blombäck M. et al. A single cytosine deletion in exon 18 of the von Willebrand factor gene is the most common mutation in Swedish vWD type III patients. *Hum Mol Genet*. 1992; 1(9): 767–8.
18. Schneppenheim R., Krey S., Bergmann F. et al. Genetic heterogeneity of severe von Willebrand disease type III in the German population. *Hum Genet*. 1994; 94 (6): 640–52.
19. Jokela V., Lassila R., Szanto T. et al. Phenotypic and genotypic characterization of 10 Finnish patients with von Willebrand disease type 3: discovery of two main mutations. *Haemophilia*. 2013; 19(6): 344–8. DOI: 10.1111/hae.12225
20. Gaucher C., Jorieu S., Mercier B. et al. The “Normandy” variant of von Willebrand disease: characterization of a point mutation in the von Willebrand factor gene. *Blood*. 1991; 77(9): 1937–41.
21. Casonato A., Galletta E., Sarolo L., Daidone V. Type 2N von Willebrand disease: Characterization and diagnostic difficulties. *Haemophilia*. 2018; 24(1): 134–40. DOI: 10.1111/hae.13366
22. Allen S., Abuzenadah A.M., Hinks J. et al. A novel von Willebrand disease-causing mutation (Arg273Trp) in the von Willebrand factor propeptide that results in defective multimerization and secretion. *Blood*. 2000; 96(2): 560–8.
23. Bowman M., Tuttle A., Notley C. et al. The genetics of Canadian type 3 von Willebrand disease: further evidence for co-dominant inheritance of mutant alleles. *J Thromb Haemost*. 2013; 11(3): 512–20. DOI: 10.1111/jth.12130
24. Hilbert L., Gaucher C., Mazurier C. Identification of two mutations (Arg611Cys and Arg611His) in the A1 loop of von Willebrand factor (vWF) responsible for type 2 von Willebrand disease with decreased platelet-dependent function of vWF. *Blood*. 1995; 86(3): 1010–8.
25. Goodeve A., Eikenboom J., Castaman G. et al. Phenotype and genotype of a cohort of families historically diagnosed with type 1 von Willebrand disease in the European study, Molecular and Clinical Markers for the Diagnosis and Management of Type 1 von Willebrand Disease (MCMDM-1VWD). *Blood*. 2007; 109(1): 112–21.
26. Gadisseur A., Berneman Z., Schroyens W. et al. Laboratory diagnosis of von Willebrand disease type 1/2E (2A subtype IIE), type 1 Vicenza and mild type 1 caused by mutations in the D3, D4, B1–B3 and C1–C2 domains of the von Willebrand factor gene. Role of von Willebrand factor multimers and the von Willebrand factor propeptide/antigen ratio. *Acta Haematol*. 2009;121(2-3):128–38. Doi: 10.1159/000214853.
27. James P.D., Notley C., Hegadorn C. et al. The mutational spectrum of type 1 von Willebrand disease: Results from a Canadian cohort study. *Blood*. 2007; 109(1):145–54.
28. Pérez-Casal M., Daly M., Peake I. et al. A de novo mutation in exon 28 of the von Willebrand factor gene in a patient with type IIA von Willebrand’s disease
9. Blomback M., Eikenboom J., Lane D. et al. Von Willebrand disease biology. *Haemophilia*. 2012; 18(4): 141–7.
10. Barkagan Z.S. Willebrand Disease. In: Manual of Hematology. Vorobiev A.I., ed. Moscow: Newdiamed. 2005; 3: 71–3 (In Russian).
11. Drewke E., Krey S., Schneppenheim R., Budde U. A variant of von Willebrand disease (Type 2N) resembling phenotypically mild or moderately severe haemophilia. *Infusionsther Transfusionsmed*. 1995; 22 (1): 48–50.
12. Papayan L.P., Golovina O.G. Variant forms of von Willebrand disease. *Therapeutic Archive*. 1990; 7: 86–92 (In Russian).
13. Mazurier C. Von Willebrand disease masquerading as haemophilia A. *Thromb. Haemost.* 1992; 67: 391–6.
14. Goodeve A.C. The genetic bases of von Willebrand disease. *Blood Reviews*. 2010; 24: 123–4. DOI: 10.1016/j.blre.2010.03.003
15. Flood V.H. New insights into genotype and phenotype of VWD. *Hematology*. 2014; 2014(1): 531–5. DOI: 10.1182/asheducation-2014.1.531
16. Likhacheva E.A., Polyanskaya T.Yu., Zorenko V.Yu., ed. acad. Savchenko V.G. Clinical recommendations for von Willebrand disease diagnosis and treatment. Moscow: National hematological society. 2014.
17. Zhang Z.P., Falk G., Blombäck M. et al. A single cytosine deletion in exon 18 of the von Willebrand factor gene is the most common mutation in Swedish vWD type III patients. *Hum Mol Genet*. 1992; 1(9): 767–8.
18. Schneppenheim R., Krey S., Bergmann F. et al. Genetic heterogeneity of severe von Willebrand disease type III in the German population. *Hum Genet*. 1994; 94 (6): 640–52.
19. Jokela V., Lassila R., Szanto T. et al. Phenotypic and genotypic characterization of 10 Finnish patients with von Willebrand disease type 3: discovery of two main mutations. *Haemophilia*. 2013; 19(6): 344–8. DOI: 10.1111/hae.12225
20. Gaucher C., Jorieu S., Mercier B. et al. The “Normandy” variant of von Willebrand disease: characterization of a point mutation in the von Willebrand factor gene. *Blood*. 1991; 77(9): 1937–41.
21. Casonato A., Galletta E., Sarolo L., Daidone V. Type 2N von Willebrand disease: Characterization and diagnostic difficulties. *Haemophilia*. 2018; 24(1): 134–40. DOI: 10.1111/hae.13366
22. Allen S., Abuzenadah A.M., Hinks J. et al. A novel von Willebrand disease-causing mutation (Arg273Trp) in the von Willebrand factor propeptide that results in defective multimerization and secretion. *Blood*. 2000; 96(2): 560–8.
23. Bowman M., Tuttle A., Notley C. et al. The genetics of Canadian type 3 von Willebrand disease: further evidence for co-dominant inheritance of mutant alleles. *J Thromb Haemost*. 2013; 11(3): 512–20. DOI: 10.1111/jth.12130
24. Hilbert L., Gaucher C., Mazurier C. Identification of two mutations (Arg611Cys and Arg611His) in the A1 loop of von Willebrand factor (vWF) responsible for type 2 von Willebrand disease with decreased platelet-dependent function of vWF. *Blood*. 1995; 86(3): 1010–8.
25. Goodeve A., Eikenboom J., Castaman G. et al. Phenotype and genotype of a cohort of families historically diagnosed with type 1 von Willebrand disease in the European study, Molecular and Clinical Markers for the Diagnosis and Management of Type 1 von Willebrand Disease (MCMDM-1VWD). *Blood*. 2007; 109(1): 112–21.
26. Gadisseur A., Berneman Z., Schroyens W. et al. Laboratory diagnosis of von Willebrand disease type 1/2E (2A subtype IIE), type 1 Vicenza and mild type 1 caused by mutations in the D3, D4, B1–B3 and C1–C2 domains of the von Willebrand factor gene. Role of von Willebrand factor multimers and the von Willebrand factor propeptide/antigen ratio. *Acta Haematol*. 2009;121(2-3):128–38. Doi: 10.1159/000214853.
27. James P.D., Notley C., Hegadorn C. et al. The mutational spectrum of type 1 von Willebrand disease: Results from a Canadian cohort study. *Blood*. 2007; 109(1):145–54.
28. Pérez-Casal M., Daly M., Peake I. et al. A de novo mutation in exon 28 of the von Willebrand factor gene in a patient with type IIA von Willebrand’s disease

coincides with an Mbol polymorphism in the von Willebrand factor pseudogene. *Hum Mol Genet.* 1993;2(12):2159–61.

29. Ginsburg D., Konkle B.A., Gill J.C. et al. Molecular basis of human von Willebrand disease: analysis of platelet von Willebrand factor mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(10):3723–7.

30. Donné M., Kristoffersson A.C., Berntorp E. et al. Two new candidate mutations in type IIA von Willebrand's disease (Arg834-->Gly, Gly846-->Arg) and one polymorphism (Tyr821-->Cys) in the A2 region of the von Willebrand factor. *Eur J Haematol.* 1993;51(1):38–44.

31. Cumming A., Grundy P., Keeney S. et al. An investigation of the von Willebrand factor genotype in UK patients diagnosed to have type 1 von Willebrand disease. *Thromb Haemost.* 2006;96(5):630–41.

coincides with an Mbol polymorphism in the von Willebrand factor pseudogene. *Hum Mol Genet.* 1993;2(12):2159–61.

29. Ginsburg D., Konkle B.A., Gill J.C. et al. Molecular basis of human von Willebrand disease: analysis of platelet von Willebrand factor mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(10):3723–7.

30. Donné M., Kristoffersson A.C., Berntorp E. et al. Two new candidate mutations in type IIA von Willebrand's disease (Arg834-->Gly, Gly846-->Arg) and one polymorphism (Tyr821-->Cys) in the A2 region of the von Willebrand factor. *Eur J Haematol.* 1993;51(1):38–44.

31. Cumming A., Grundy P., Keeney S. et al. An investigation of the von Willebrand factor genotype in UK patients diagnosed to have type 1 von Willebrand disease. *Thromb Haemost.* 2006;96(5):630–41.

Информация об авторах

Чернецкая Дарья Михайловна*, научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: gnomicha@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2479-2623>

Лихачева Елена Аркадьевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отдела коагулопатий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: likhachyova.elena@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6098-5735>

Пшеничникова Олеся Сергеевна, старший научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8146>

Сури́н Вадим Леонидович, старший научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: vadsurin@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Золуля Надежда Ивановна, врач-гематолог, заведующая научно-консультативным отделом коагулопатий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: zozulya.n@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7074-0926>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 04.04.2019

Принята к печати: 14.05.2019

Information about the authors

Daria M. Chernetskaya*, Researcher, Laboratory of genetic engineering, National Research Center for Hematology, e-mail: gnomicha@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2479-2623>

Elena A. Likhacheva, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Department of coagulopathies, National Research Center for Hematology, e-mail: likhachyova.elena@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6098-5735>

Olesya S. Pshenichnikova, Senior Researcher, Laboratory of genetic engineering, National Research Center for Hematology, e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8146>

Vadim L. Surin, Senior Researcher, Laboratory of genetic engineering, National Research Center for Hematology, e-mail: vadsurin@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Nadezhda I. Zozulya, Hematologist, Head of the Scientific and consulting department of coagulopathies, National Research Center for Hematology, e-mail: zozulya.n@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7074-0926>

*** Corresponding author**

Received 04 Apr 2019

Accepted 14 May 2019

НЕГАТИВНОЕ ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *TP53* НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ ЛИМФОМЫ ИЗ КЛЕТОК МАНТИИ. ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОТОКОЛА «ЛКМ-2016»

Королева Д. А.^{1,*}, Габеева Н. Г.¹, Кузьмина Л. А.¹, Цыганкова С. В.², Булыгина Е. С.², Расторгуев С. М.², Недолужко А. В.², Саенко С. С.², Нарайкин О. С.², Гаврилина О. А.¹, Бидерман Б. В.¹, Гальцева И. В.¹, Ковригина А. М.¹, Обухова Т. Н.¹, Звонков Е. Е.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Прогноз лимфомы из клеток мантии (ЛКМ) определяется не только интенсификацией первой линии терапии, но и биологическими характеристиками опухоли.

Цель: оценить частоту встречаемости и выживаемость больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53*.

Материалы и методы. В рамках проспективного исследования «ЛКМ-2016» с января 2016 г. по декабрь 2018 г. проведено исследование по определению мутации гена *TP53* у 24 больных с ЛКМ. Скрининг мутаций гена *TP53* проводили с помощью секвенирования ДНК по Сэнгеру (экзоны 1(2)–11). Идентифицировали 20 больных без мутаций в гене *TP53* (20 mut p53–) и 4 — с мутацией *TP53* (4 mut p53+).

Результаты. 17 больным ЛКМ (mut p53–) было проведено два цикла R-BAC (ритуксимаб, бендамустин, цитарабин) и два цикла R-NA (ритуксимаб, цитарабин 12 г/м²) с последующей трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). После окончания терапии у всех 17 больных минимальная остаточная болезнь (МОБ) не определялась, у 3 больных продолжается терапия. Все больные, которые полностью завершили терапию, остаются в полной ремиссии с медианой наблюдения пять месяцев после ауто-ТГСК (от 1 до 17 месяцев). У больных ЛКМ с мутациями *TP53* прогноз был хуже. Несмотря на использование интенсивной терапии, 2 больных с мутациями *TP53* в данном исследовании умерли от прогрессии ЛКМ. Двум больным с мутацией *TP53* была выполнена трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) от неродственных полностью идентичных доноров. При сроках наблюдения 3 и 27 месяцев после алло-ТГСК больные живы, сохраняется полная ремиссия.

Заключение. Программа R-BAC/R-NA позволила достичь полной клинической и МОБ-негативной ремиссии у всех больных в группе mut p53–, с приемлемым профилем токсичности. Для больных ЛКМ с мутациями гена *TP53* алло-ТГСК является единственным вариантом излечения.

Ключевые слова: мутации гена *TP53*, лимфома из клеток мантии, секвенирование по Сэнгеру

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Королева Д.А., Габеева Н.Г., Кузьмина Л.А., Цыганкова С.В., Булыгина Е.С., Расторгуев С.М., Недолужко А.В., Саенко С.С., Нарайкин О.С., Гаврилина О.А., Бидерман Б.В., Гальцева И.В., Ковригина А.М., Обухова Т.Н., Звонков Е.Е. Негативное влияние мутаций в гене *TP53* на эффективность терапии лимфомы из клеток мантии. Промежуточные результаты протокола «ЛКМ-2016». Гематология и трансфузиология. 2019; 64(3):265–273. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-256-273>

NEGATIVE IMPACT OF THE *TP53* GENE MUTATIONS ON THE EFFICACY OF THE THERAPY OF MANTLE CELL LYMPHOMA. INTERIM RESULTS OF THE MCL-2016 PROTOCOL

Koroleva D. A.^{1,*}, Gabeeva N. G.¹, Kuzmina L. A.¹, Tsygankova S. V.², Bulygina E. S.², Rastorguev S. M.², Nedoluzhko A. V.², Saenko S. S.², Naraikin O. S.², Gavrilina O. A.¹, Biderman B. V.¹, Galtseva I. V.¹, Kovrigina A. M.¹, Obukhova T. N.¹, Zvonkov E. E.¹

¹National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

²National Research Center "Kurchatov institute", 123182, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The prognosis of mantle cell lymphoma (MCL) is determined by both the intensification of the first-line therapy and the biological characteristics of the tumour.

Aim. To assess the MCL incidence rate, as well as the survival rate of MCL patients with *TP53* gene mutations.

Materials and methods. The prospective study MCL-2016 aimed at identifying *TP53* gene mutations was carried out among 24 MCL patients from January 2016 to December 2018. *TP53* gene mutations were screened using Sanger sequencing (exons 1(2)–11). No *TP53* gene mutations were identified in 20 patients (20 mutp53-), with *TP53* gene mutations (4 mutp53 +) being observed in 4 patients.

Results. 17 MCL patients (mut p53-) underwent two cycles of R-BAC (rituximab, bendamustine, cytarabine) and two cycles of R-HA (rituximab, cytarabine 12 g/m²) with the subsequent transplantation of autologous hematopoietic stem cells. Following therapy, minimum residual disease (MRD) was undetected in all 17 patients, with 3 patients still undergoing therapy. All patients, who completed the therapy, remain in complete remission with a median follow-up of 5 months following the transplantation of autologous hematopoietic stem cells (from 1 to 17 the months). The prognosis in MCL patients with *TP53* gene mutations was worse. In the course of this study, two patients with *TP53* gene mutations died of progressing MCL in spite of intensive therapy. In two patients with *TP53* gene mutation, allogeneic hematopoietic stem cells were transplanted from unrelated completely identical donors. After undergoing the transplantation, the patients are alive and remain in complete remission (observation periods of 3 and 27 months).

Conclusion. Following R-BAC/R-HA therapy, all patients from the mutp53- group reached complete clinical and MRD-negative remission, with an acceptable toxicity profile. For MCL patients with *TP53* gene mutations, the transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells constitutes the only effective treatment.

Keywords: *TP53* gene mutations, mantle cell lymphoma, Sanger sequencing

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Koroleva D.A., Gabeeva N.G., Kuzmina L.A., Tsygankova S.V., Bulygina E.S., Rastorguev S.M., Nedoluzhko A.V., Saenko S.S., Naraikin O.S., Gavrilina O.A., Biderman B.V., Galtseva I.V., Kovrigina A.M., Obukhova T.N., Zvonkov E.E. Negative impact of *TP53* gene mutations on the efficacy of the therapy of mantle cell lymphoma. Interim results of the MCL-2016 protocol.

Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(3):265–273 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-256-273>

Введение

Лимфома из клеток мантии (ЛКМ) составляет около 7–9 % от всех неходжкинских лимфом (НХЛ), что соответствует примерно 8–10 новым случаям на 1 млн населения в год. Клинические характеристики ЛКМ подробно описаны в литературе, но остается много неясного в правильном выборе терапии и оценке прогноза [1–6]. По данным проведенных исследований [7–10], определяющими в прогнозе ЛКМ являются не только интенсификация первой линии терапии, но и биологические характеристики опухоли. Применяемые в повседневной практике международные прогностические индексы для ЛКМ (MIPI, MIPI_b, MIPI_c), основанные на клинических и пролиферативных особенностях опухоли, позволяют только приблизительно оценить прогноз [11, 12]. Такие важные молекулярно-генетические характеристики, как комплексный кариотип, делеция локусов генов *CDKN2A/p16* и *TP53/p53*, перестройки гена *c-Myc*, мутации в генах *Notch1/2* и *TP53*, в настоящее время не учитываются в большинстве работ, посвященных терапии ЛКМ [2, 3, 13–17].

Если обнаружение мутаций в гене *TP53* как фактора крайне неблагоприятного прогноза подробно описано при В-клеточном хроническом лимфолейкозе и диффузной В-крупноклеточной лимфоме (ДВККЛ), то сведения о мутациях в гене *TP53* при ЛКМ крайне ограничены [7, 8, 10, 18–20]. По данным ретроспективного исследования, опубликованного в 2017 г. Скандинавской группой по изучению ЛКМ (Nordic MCL group) [7], у 19 из 183 больных выявлена мутация в гене *TP53* (mut p53+). Проведение интенсивной химиотерапии (ХТ) не повлияло на их крайне неблагоприятный прогноз. Медиана беспрогрессивной выживаемости (БПВ) и общей выживаемости (ОВ) в этой когорте больных не превышала 0,9 и 1,8 года соответственно. Для сравнения, в группе больных ЛКМ без мутации в гене *TP53* (mut p53–) БПВ и ОВ составили 8,2 и 12,5 года, соответственно [7]. При проведении многофакторного анализа достоверное прогностическое значение имело только наличие мутаций в гене *TP53* по отношению к другим традиционно применяемым факторам (MIPI, del17p, бластоидный вариант и т. д.). После дополнительного анализа других работ, связанных с исследованием мутаций в гене *TP53* при ЛКМ, также прослеживается аналогичная тенденция. От 10 до 20 % больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53* при крайне агрессивном клиническом течении заболевания проявляли резистентность к проводимой ХТ [7].

Целью настоящей работы явилось проведение проспективной оценки влияния мутаций в гене *TP53* на результаты лечения ЛКМ, а также поиск эффективной терапии данной прогностически неблагоприятной группы больных.

Материалы и методы

В ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России в период с января 2016 г. по декабрь 2018 г. в рамках проспективного исследования «ЛКМ-2016» 24 больным ЛКМ было выполнено молекулярно-генетическое исследование мутаций в гене *TP53* (секвенирование ДНК по Сэнгеру в 1(2)–11 экзонах).

Анализ мутаций гена *TP53* проводили по протоколам IARC (International Agency for Research on Cancer) [21]. ПЦР-продукты секвенировали с использованием набора Big Dye Terminator v1.1 (ThermoFisher Scientific, USA) на автоматическом анализаторе нуклеиновых кислот Нанофор 05 (ФГБУН ИАП РАН, Россия). Полученные последовательности анализировали на наличие мутаций в онлайн-программе GLASS [22]. Вероятную патогенность проверяли в онлайн-базах данных мутаций гена IARC, SESHAT [23] и COSMIC [24].

В НИЦ «Курчатовский институт» ДНК из периферической крови и костного мозга выделяли с использованием наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, США) согласно рекомендациям производителя. ДНК из тканей выделяли с помощью обработки протеиназой К при 50 °С в течение 16–20 часов с последующей очисткой смесью фенолхлороформа. ДНК из парафиновых блоков выделяли с использованием набора Extract DNA FFPE (Евроген, РФ) согласно рекомендациям производителя. Амплификацию 1(2)–11 экзонов гена *TP53* проводили с использованием ранее опубликованных праймеров [8]. Выравнивание и анализ полученных последовательностей проводили с использованием программы BioEdit v.3. Вероятную патогенность проверяли в онлайн-базах данных мутаций гена IARC [21].

Были проанализированы результаты обследования больных, включенные в стандартный протокол [1]: клинико-лабораторные (активность сывороточной лактатдегидрогеназы (ЛДГ); концентрация β_2 -микроглобулина; иммуногистохимическое исследование биоптатов опухоли с антителами к CD5, CD20, CD23, cyclin D1, SOX11, Ki67, p53; 6-цветная проточная цитофлуориметрия с использованием антител к CD45/CD19/CD5/CD20/к/λ; иммунохимическое исследование сыворотки крови и мочи); инструментальные (ультразвуковые исследования, компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), фиброгастродуоденоскопия, фиброколоноскопия); цитогенетические (стандартное цитогенетическое исследование, флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) для детекции транслокации t(11;14)(q13;q32), делеции 17p, перестройки гена *c-Myc*) и другие молекулярно-генетические характеристики опухоли (В-клеточная клональность, мутационный статус генов

вариабельных участков тяжелых цепей иммуноглобулинов (*IgHV*)).

Нуклеотидные последовательности генов *IgHV* определяли согласно методике, описанной ранее в статье [25]. ПЦР-продукты секвенировали с использованием набора Big Dye Terminator v1.1 (ThermoFisher Scientific, USA) на автоматическом анализаторе нуклеиновых кислот «Нанофор 05» (ФГБУН ИАП РАН, Россия). Полученные последовательности сравнивали с имеющимися в базе данных IMGT [26]. Если последовательность клонального *IgHV*-гена совпадала с последовательностью одного из герминальных *IgHV* генов на 98 % и более, считали, что данный *IgHV*-ген соматической гипермутации не подвергался. При условии сходства последовательности клонального *IgHV*-гена менее 97,9 % считали, что опухолевая клетка — предшественница клона у данного больного подвергалась соматической гипермутации.

Больным ЛКМ (mut p53–) проведено лечение по протоколу «ЛКМ-2016» [1], который включал в себя 4 ротирующих курса R-BAC/R-NA, с последующей высокодозной консолидацией по схеме CEAM с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) и дальнейшей поддерживающей терапией ритуксимабом 1 раз в 3 месяца в стандартных дозах (375 мг/м^2) в течение двух лет. Всем больным было показано проведение ХТ в соответствии с установленными критериями [27]. Все больные перед госпитализацией и началом ХТ подписывали информированное согласие. Спленэктомия выполнена только 3 больным. В остальных случаях с целью нормализации размеров селезенки и показателей крови больным проводилась терапия ибрутинибом в дозе 560 мг/сутки в среднем от 10 до 25 дней, с последующей ХТ по программе «ЛКМ-2016» [1].

В группе ЛКМ (mut p53+) проводили различные схемы ХТ (R-EPOCH, R-DHAP, R-BAC, R-BAC с оксалиплатином, R-HMA, R-GIDIOX [1], непрограммная ХТ с включением леналидомида, бортезомиба, обинутузумаба, ибрутиниба). Двум больным ЛКМ (mut p53+) выполнена трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) от неродственных полностью идентичных доноров (одной больной после протокола «ЛКМ-2016» с ауто-ТГСК).

Оценку клинического ответа проводили с помощью стандартных лабораторных и инструментальных методов, а также ПЭТ/КТ-исследования.

Оценку минимальной остаточной болезни (МОБ) проводили с помощью морфологического и кариологического исследований костного мозга, полимеразной цепной реакции (ПЦР), исследования В-клеточной клоальности и б-цветной проточной цитометрии. Сбор CD34⁺-аутологичных стволовых клеток крови проводился после достижения МОБ-негативности в костном мозге по стандартному протоколу [1].

Контрольное обследование с оценкой МОБ проводили каждые 3 месяца в течение первых 2 лет наблюдения, далее — 1 раз в полгода.

Статистический анализ данных проводили с использованием анализа выживаемости. Для расчетов использованы статистические программы StatView и 4 SAS 9.4. Для бессобытийной выживаемости событием являлись прогрессия заболевания, рецидив или смерть от любой причины, время отсчитывалось от начала ХТ. Для общей выживаемости событием являлась смерть от любой причины, время отсчитывалось от начала ХТ.

Результаты

Характеристика больных

В исследование включено 24 больных (15 мужчин и 9 женщин) в возрасте от 33 лет до 71 года (средний возраст 53 года). Клиническая характеристика и результаты проведенных исследований отдельно представлены в группе 1 (20 больных mut p53–) и в группе 2 (4 больных mut p53+) (табл. 1).

В группу 1 было включено 20 больных в возрасте от 33 до 68 лет (медиана 51 год): 13 (65 %) мужчин и 7 (35 %) женщин. В этой группе распределение больных, согласно критериям MIPI [11], было следующим: 35 % больных были отнесены к группе низкого риска, 50 % — промежуточного риска и 15 % — высокого риска. Оценка соматического статуса для всех больных не превышала 0–1 балла по шкале ECOG [28]. 19 больным перед началом терапии было выполнено ПЭТ/КТ-исследование с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой: среднее значение максимального стандартизированного уровня захвата (SUV_{max} — standart uptake value) составило 5,0 (от 1,7 до 15,42). Наибольшее значение SUV_{max} было выявлено у больного с бластоидной морфологией опухоли, наличием лейкоцитоза и комплексными нарушениями кариотипа.

Вовлечение костного мозга было выявлено в 100 % случаев, количество лейкоцитов свыше $20 \times 10^9/\text{л}$ было отмечено у 25 % больных. Из 20 больных у 9 (45 %) выявлено вовлечение экстранодальных органов: 4 — желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), 2 — ЖКТ и печени, 1 — поражение ЖКТ, миндалин, почек и кожи, 1 — ЖКТ и миндалин, 1 — ЖКТ и орбиты.

У 85 % больных обнаружено повышение в сыворотке крови концентрации лактатдегидрогеназы (ЛДГ), в среднем до 650 (328–1953) ед/л.

Увеличение размеров селезенки наблюдалось у 10 больных, у 5 больных со спленомегалией более 25 см отмечалась тромбоцитопения. Одному больному была выполнена лечебно-диагностическая спленэктомия (размеры селезенки $290 \times 170 \times 60 \text{ мм}$).

Гистологическая картина в 16 (80 %) случаях была представлена классическим вариантом, и лишь

Таблица 1. Исходные характеристики больных в группе 1 и группе 2
Table 1. Baseline patient characteristics in group 1 and group 2

Характеристики Characteristics	Группа 1 (mut p53-), n = 20 Group 1 (mut p53-), n = 20	Группа 2 (mut p53+), n = 4 Group 2 (mut p53+), n = 4
Возраст, диапазон (годы) Age, range (years)	33–68	44–71
Медиана (годы) Median (years)	51	61
<60	9	1
≥60	4	3
Пол (мужчины/женщины) Gender (males/females)	13/7	2/2
Активность сывороточной ЛДГ, ед/л Serum LDH activity, IU/mL	650 (328–1953)	1752 (571–4329)
Активность сывороточной ЛДГ выше нормы, n (%) Serum LDH activity higher normal ranges, n (%)	17 (85 %)	4 (100 %)
Стадия по Ann Arbor: Ann Arbor stage:		
I–III, n	–	–
IV, n	20	4
Общее состояние по шкале ECOG ECOG Performance status		
0–1, n	20	2
≥2, n	–	2
Экстранодальные локализации, n (%) Extranodal involvement, n (%)	9 (45 %)	4 (100 %)
Спленомегалия >130 мм, n (%) Splenomegaly >130 mm, n (%)	10 (50 %)	3 (75 %)
Вовлечение костного мозга, n (%) Bone marrow involvement, n (%)	20 (100 %)	4 (100 %)
Морфология: Morphology:		
Классический вариант, n (%) Classic variant, n (%)	16 (80 %)	1 (25 %)
Бластоидный вариант, n (%) Blastoid variant, n (%)	4 (20 %)	3 (75 %)
CD5, n (%)	20 (100 %)	4 (100 %)
Cyclin D1, n (%)	20 (100 %)	4 (100 %)
Ki-67:	13/20	3/4
≤10, n	1	–
11–29, n	10	1
≥30, n	2	2
Концентрация β₂-микроглобулина, мг/л β ₂ -microglobulin concentrations, mg/L	2.8 (2.27–4.78)	9 (3.66–18.8)
Количество лейкоцитов: WBC:		
<10 × 10⁹/л/л, n (%)	13 (65 %)	1 (25 %)
10–20 × 10⁹/л/л, n (%)	2 (10 %)	1 (25 %)
> 20 × 10⁹/л/л, n (%)	5 (25 %)	2 (50 %)
Риск по шкале MIPI:		
Низкий, n (%) Low, n (%)	7 (35 %)	–
Промежуточный, n (%) Intermediate, n (%)	10 (50 %)	–
Высокий, n (%) High, n (%)	3 (15 %)	4 (100 %)
Комплексный кариотип, n (%) Complex karyotype, n (%)	5 (25 %)	3 (75 %)
Результаты цитогенетического исследования:		
t(11;14), n (%)	20 (100 %)	4 (100 %)
del17p, n (%)	1 (5 %)	3 (75 %)
перестройка c-Мус, n (%) c-Myc rearrangement, n (%)	1 (5 %) дупликация 1 (5 %) duplication	1 (25 %) дупликация 1 (25 %) duplication

Продолжение таблицы 1 на с. 270

Продолжение таблицы 1

Характеристики Characteristics	Группа 1 (mut p53-), n = 20 Group 1 (mut p53-), n = 20	Группа 2 (mut p53+), n = 4 Group 2 (mut p53+), n = 4
Мутационный статус, n (%) Mutational status, n (%)	17 (85 %)	4 (100 %)
Мутированный вариант, n (%) Mutated variant, n (%)	5 (30 %)	–
Немутированный вариант, n (%) Unmutated variant, n (%)	12 (70 %)	4 (100 %)
Моноклональная секреция, n (%) Monoclonal secretion, n (%)	4 (20 %)	2 (50 %)

Примечание. ЛДГ — лактатдегидрогеназа.

Note. LDH — lactate dehydrogenase.

у 4 (20 %) больных был выявлен бластоидный вариант опухоли. Иммуногистохимическое исследование выполнено всем больным, в 100 % случаев определялась экспрессия CD20⁺, CD5⁺, CyclinD1⁺ и отсутствие экспрессии CD23⁻. Оценка индекса пролиферативной активности Ki-67 была возможна только у 13 из 20 больных. Индекс пролиферативной активности Ki-67 <30 % был отмечен у 11 больных и в 2 случаях — при бластоидном варианте — ЛКМ Ki-67 составлял >40 %.

В 100 % случаев диагноз ЛКМ был подтвержден обнаружением транслокации t(11;14)(q13;q32) при стандартном цитогенетическом исследовании или методом FISH.

Комплексные нарушения кариотипа, выявленные у 5 (25 %) больных, наблюдались как при бластоидной (2), так и при классической (3) морфологии ЛКМ.

17 больным было выполнено определение мутационного статуса генов вариабельных участков тяжелых цепей иммуноглобулинов (*IgHV*). У 5 больных доля гомологии герминальным *VH* генам составила менее 98 % и была определена как мутированный вариант, у 12 больных составила более 98 % (от 98,3 до 100 %) и определена как немутированный вариант. У всех 5 больных ЛКМ с мутированным вариантом отмечена низкая метаболическая активность (SUV_{max} от 1,9 до 4,3), отсутствие комплексных нарушений кариотипа, а бластоидная морфология — только в одном случае.

Моноклональная секреция была выявлена у 4 (20 %) больных. В одном случае в сыворотке была выявлена секреция парапротеина Мк 3,2 г/л и следовая секреция белка Бенс-Джонса К в моче. В трех случаях в моче определялась только следовая секреция белка Бенс-Джонса К. Средняя концентрация β_2 -микроглобулина составила 2,8 (2,27–4,78) мг/л.

Во вторую группу было включено 4 больных (2 мужчин и 2 женщины), в возрасте от 44 лет до 71 года (медиана — 61 год). Все больные были отнесены в группу высокого риска. У 2 больных соматический статус соответствовал 3–4 баллам по шкале ECOG [28]. У всех больных при обследовании было выявлено вовлечение костного мозга, в 3 случаях — с лейкоемизацией (среднее количество лейкоцитов крови составляло 66×10^9 /л (12,24–124,8 $\times 10^9$ /л). У всех 4 больных было выявлено

вовлечение экстранодальных органов: 1 — ЖКТ, 1 — инфильтрация склер и вовлечение печени, 1 — печени и почек, 1 — поражение ЖКТ, кожи, печени и плевры. Спленомегалия наблюдалась у 3 больных, двоим из которых была выполнена лечебно-диагностическая спленэктомия (размеры селезенки составляли 328 $\times$ 117 $\times$ 90 и 208 $\times$ 100 $\times$ 89 мм). Повышение концентрации ЛДГ в сыворотке было выявлено у всех 4 больных, в среднем до 1752 (от 571 до 4329) ед./л.

Морфологическая картина у 3 больных была представлена бластоидным вариантом, с высоким уровнем пролиферативной активности по экспрессии Ki-67 (до 90 %), наличием комплексных нарушений кариотипа и del17p. У одной больной морфологически определялся классический вариант ЛКМ, с индексом пролиферативной активности Ki-67 25 %, комплексным кариотипом и делецией 13q и 17p хромосом.

У 2 больных в моче была обнаружена следовая секреция белка Бенс-Джонса К и λ . У всех больных была отмечена высокая концентрация β_2 -микроглобулина, в среднем 9 (3,66–18,8) мг/л.

При анализе мутационного статуса у всех 4 больных доля гомологии *VH* генам составил более 98 %, что соответствует немутированному варианту.

При секвенировании гена *TP53* (1(2)–11 экзоны) у 4 больных были выявлены миссенс-мутации, расположенные в ДНК-связывающем домене (экзон 5 и сайт сплайсинга 6 интрона по одному случаю и экзон 7 в 2 случаях). В 2 из 4 случаев мутации были выявлены не только в одном 7-м экзоне, но и в одной 248-й позиции, где наблюдалась замена аргинина на триптофан и на глутамин соответственно. Проанализирована ассоциация мутаций в гене *TP53* с другими клинико-лабораторными данными. Выявление мутаций в гене *TP53* в 3 случаях соответствовало бластоидной морфологии и в 1 — классическому варианту ЛКМ. Комплексный кариотип и делеция 17p были выявлены у 3 из 4 больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53*. У 1 больного наличие мутации в сайте сплайсинга 6-го интрона сочеталось с выявлением дупликации гена *c-Myc*, бластоидным вариантом морфологии опухоли, комплексным кариотипом и отсутствием del17p.

Результаты лечения и оценка токсичности

Результаты лечения и характеристика гематологической и негематологической токсичности в группе 1 приведена в таблицах 2 и 3. Оценку токсичности проводили по шкале токсичности NCIC–CTC (National Cancer Institute — Common Toxicity Criteria) [29]. Полностью лечение по протоколу R-BAC/R-НА с последующей ауто-ТГСК проведено у 17 из 20 больных. Трое больных продолжают лечение. Всем больным из группы высокого риска были выполнены диагностические люмбальные пункции, признаков нейтролейкемии выявлено не было. С профилактической целью интратекально вводились 3 препарата (метотрексат 15 мг, цитарабин 30 мг, дексаметазон 4 мг) [1].

После проведения курсов R-BAC развитие миелотоксического агранулоцитоза наблюдалось в 95 % случаев, тромбоцитопении и анемии III–IV степени — в 100 и 40 % соответственно. Медиана длительности агранулоцитоза составила 5 дней (от 0 до 19 дней), тромбоци-

топении — 8 дней (5–17 дней). Тяжелых геморрагических осложнений отмечено не было.

Гематологическая токсичность после проведения курсов по программе R-НА развивалась у всех больных. Миелотоксический агранулоцитоз был зарегистрирован в 100 % случаев, медиана длительности — 8 дней (от 0 до 12 дней). Тромбоцитопения наблюдалась также у всех больных, длительность составила в среднем 8 дней (4–15 дней). Анемия III–IV степени отмечалась в 40 % случаев. Дозы цитарабина уменьшали на 25–50 % на 4-м индукционном курсе у 4 больных в связи с развитием инфекционных осложнений (катетер-ассоциированный сепсис, пневмония) либо длительной лейкопении после предшествующего курса ХТ.

Из других осложнений было отмечено транзитное повышение сывороточной концентрации аминотрансфераз у 35 % больных при проведении ХТ по схеме R-BAC и в 30 % случаев — по схеме R-НА, без клинических проявлений гепатотоксичности.

Таблица 2. Гематологическая токсичность в группе 1 (согласно критериям токсичности по шкале NCIC–CTC) [29]

Table 2. Hematological toxicity in group 1 (NCIC–CTC) [29]

Параметры Parameters	Степень токсичности Toxicity grading	R-BAC, %	R-НА, %	Ауто-ТГСК/СЕАМ, % Auto-HSCT/CEAM, %
Лейкопения Leukopenia	III–IV	95	100	100
Тромбоцитопения Thrombocytopenia	III–IV	100	100	100
Анемия Anemia	III–IV	40	40	50

Таблица 3. Негематологическая токсичность в группе 1 (согласно критериям токсичности по шкале NCIC–CTC) [29]

Table 3. Non-hematological toxicity in group 1 (NCIC–CTC) [29]

Нежелательные эффекты Adverse events	R-BAC, %	R-НА, %	Ауто-ТГСК/СЕАМ, % Auto-HSCT/CEAM, %
Тошнота/рвота Nausea/vomiting	90	30	100
«Цитарабиновый синдром» “Cytarabine syndrome”	–	35	6
Мукозит Mucositis	–	47	100
Энтеропатия Enteropathy	–	6	60
Анальные трещины Anal fissure	6	12	12
Пневмония Pneumonia	6	12	–
Лихорадка Fever	18	30	70
Сепсис Sepsis	–	12	6
Вирусные инфекции Viral infections	–	–	23
Увеличение сывороточной концентрации трансаминаз Increased levels of transaminases	35	30	12

Негематологическая токсичность при проведении ХТ по схеме R-BAC/R-NA была в основном представлена появлением тошноты при введении бендамустина, несмотря на проводимую терапию антиэметиками, и развитием «цитарабинового синдрома» — повышение температуры тела до фебрильных значений, купированных введением небольших доз глюкокортикостероидов. Инфузионные реакции, связанные с введением ритуксимаба, в виде болей за грудиной, повышения температуры тела наблюдались у 1 больного.

Развитие хотя бы одного эпизода инфекционных осложнений во время миелотоксического агранулоцитоза определялось у всех больных. Фебрильная лихорадка отмечена у 18 и 30 % больных после ХТ по схеме R-BAC и высоких доз цитарабина соответственно. Пневмония была выявлена у одного больного на первом курсе индукции, и у 2 больных — после курсов R-NA. У 2 больных развились септические осложнения грамотрицательной этиологии в период между курсами ХТ R-NA.

После каждого индукционного курса ХТ всем больным проводили промежуточное стадирование с обязательным исследованием МОБ (гистологическое и цитологическое исследования костного мозга, проточная цитометрия, цитогенетический анализ и определение В-клеточной клональности).

МОБ-негативность в костном мозге в 1-й группе больных ЛКМ была достигнута после 1-го курса индукции у 7 больных, после 2-го курса — у 9 больных и только в одном случае — после 3-го курса ХТ. Мобилизация и сбор аутологичных стволовых кроветворных клеток выполнены всем больным. Среднее количество CD34⁺-клеток составило $8,6 \times 10^6/\text{кг}$ ($2,6\text{--}17,5 \times 10^6/\text{л}$). Для мобилизации аутологичных стволовых кроветворных клеток использовали гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), и лишь в одном случае возникла необходимость применения плериксафора.

После 4 индукционных курсов для оценки клинической ремиссии всем больным 1-й группы было выполнено контрольное ПЭТ/КТ-исследование. Во всех случаях удалось достичь полного метаболического ответа (1–2 балла по шкале Deaville) [30].

При анализе случаев с бластоидной морфологией, наличием комплексных нарушений кариотипа, делецией 17p и высокой пролиферативной активностью значимых отличий в эффективности терапии по программе R-BAC/R-NA/CEAM не выявлено.

При достижении полной клинической и МОБ-негативной ремиссии больным выполнялась ауто-ТГСК с кондиционированием в режиме CEAM. Гематологическая токсичность III–IV степени развивалась у всех больных после ауто-ТГСК. Лейкопения III–IV степени была зарегистрирована в 100 % случаев. Медиана длительности лейкопении составила 9 (от 7 до 15) дней. Всем больным, начиная с + 1-го дня после ауто-ТГСК, проводили стимуляцию лейкопоза Г-КСФ

в стандартных дозах (5 мг/кг) [1]. Тромбоцитопения III–IV степени выявлялась у 100 % больных. Медиана длительности тромбоцитопении составила 14 дней (от 8 до 28). Тяжелых геморрагических осложнений на фоне тромбоцитопении зарегистрировано не было. Анемия III–IV степени наблюдалась у половины больных. Несмотря на проводимую профилактическую терапию антибактериальными, противовирусными и противогрибковыми препаратами, инфекционные осложнения на фоне нейтропении после ауто-ТГСК развились в 100 % случаев. Из наиболее частых осложнений были стоматит (100 %), энтеропатия (60 %), фебрильная лихорадка наблюдалась в 70 % случаев. В 23 % в образцах крови, слюны и мочи методом полимеразной цепной реакции были обнаружены ДНК герпесвирусов (вирусов простого герпеса 1, 2 и 6-го типов, цитомегаловируса). Ни в одном случае осложнения не требовали перевода больных в отделение реанимации. При среднем сроке наблюдения 8 (1–20) месяцев после ауто-ТГСК, у всех больных сохранялась МОБ-негативная ремиссия. Всем больным проводилась поддерживающая терапия ритуксимабом начиная с 3-го месяца после ауто-ТГСК. Кривые общей выживаемости представлены на рисунке 1.

Результаты лечения в группе 2 приведены в таблице 4. Двум больным выполнена алло-ТГСК от неродственных полностью идентичных доноров.

Первой больной было проведено несколько различных схем ХТ (R-EPOCH, R-BAC, платиносодержащие курсы) с кратковременным эффектом, были использованы различные варианты таргетной терапии: ибрутиниб, обинутузумаб в комбинации с бортезомибом и леналидомидом, что позволило достичь лишь стабилизации заболевания. За время лечения произведен поиск неродственного полностью идентичного донора. В октябре 2016 г. больной была выполнена алло-ТГСК в режиме кондиционирования пониженной интенсивности: флударабин 50 мг — с –9 по –4 дни, треосульфамид 2500 мг — с –6 по –4 дни, мелфалан 150 мг — в –3 и –2 дни, антитимоцитарный глобулин 2500 мг — с –4 по –1 дни, циклофосфамид 3260 мг — в +3 и +4 дни. Суммарно было перелито $4,0 \times 10^6/\text{кг}$ CD34⁺-клеток. Восстановление показателей крови отмечено на +18-й день после алло-ТГСК. На +1,2 месяца после алло-ТГСК отмечалось развитие острой реакции «трансплантат против хозяина» (oРТПХ) 2–3-й степени с поражением кожи и ЖКТ, проводилась терапия глюкокортикостероидами и, учитывая резистентное течение oРТПХ ЖКТ, терапия второй линии — метотрексатом. На +180-й день после алло-ТГСК больная была госпитализирована в отделение реанимации и интенсивной терапии в связи с развитием пневмококкового сепсиса и септического шока, сопровождавшихся полиорганной недостаточностью и пневмококк-индуцированным гемолитико-уремическим синдромом. Проводилась антибиотическая терапия, сеансы плазмообмена, заме-

Таблица 4. Результаты лечения в группе 2
Table 4. Treatment results in group 2

№	Мутации в гене TP53 TP53 gene mutations	Индукционная терапия Induction regimes	Результат Result	Терапия «спасения» Salvage therapy	Результат Result	Алло-ТГСК Allo-HSCT	Исход Outcomes
1	c.377A>C p.Tyr126Cys	R-EPOCH, R-BAC, платиносодержащие курсы R-EPOCH,R-BAC, platinum– based regimes	П PD	Обинутузумаб, леналидомид, бортезомиб, ибрутиниб Obinutuzumab lenalido- mide bortezomib ibrutinib	С SD	+	Ремиссия 27 мес. CR 27 months
2	c.743G>A p.Arg248Glu	R-BAC/R-HA, ауто-ТГСК R-BAC/ R-HA, auto-HSCT	П PD	Ибрутиниб Ibrutinib	С SD	+	Ремиссия 3 мес. CR 3 months
3	c.742C>T p.Arg248Try	R-BAC, R-HA R-BAC, R-HA	П PD	Ибрутиниб Ibrutinib	П PD	–	Умер Died
4	C560-2A>G	R-BAC, R-HA R-BAC, R-HA	П PD	R-GIDIOX, PEP-C R-GIDIOX, PEP-C	П PD	–	Умер Died

Примечание. П-прогрессия; С — стабилизация, R-EPOCH (ритуксимаб, этопозид, преднизолон, винкристин, циклофосфамид, доксорубицин); R-BAC (ритуксимаб, бендамустин, цитарабин). R-HA (ритуксимаб, цитарабин); R-GIDIOX (ритуксимаб, гемцитабин, иринотекан, дексаметазон, ифосфамид, оксалиплатин); PEP-C (преднизолон, прокарбазин, этопозид, циклофосфамид).

Note. PD — progression of the disease, SD — stabilization of the disease, R-EPOCH (rituximab, etoposide, prednisone, vincristine, cyclophosphamide, doxorubicin); R-BAC (rituximab, bendamustine, cytarabine); R-HA (rituximab, cytarabine); R-GIDIOX (rituximab, gemcitabine, irinotecan, dexamethasone , ifosfamide, oxaliplatin); PEP-C (prednisone, procarbazine, etoposide, cyclophosphamide).

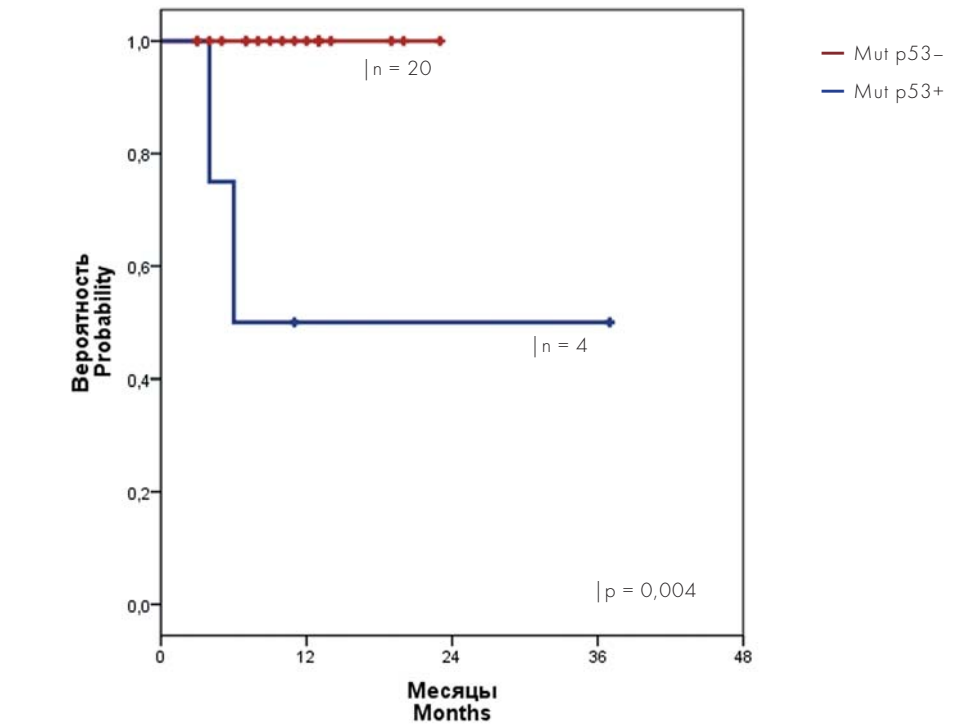


Рисунок 1. Общая выживаемость в группе 1 (mut53-) и группе 2 (mut53+). Различие в группах 1 и 2 статистически значимо (p = 0,004, логранговый критерий)
Figure 1. Overall survival in group 1 (mut53-) and group 2 (mut53 +). The difference in groups 1 and 2 is statistically significant (p = 0.004, log-rank test)

стителной почечной терапии, в результате которых отмечался полный регресс инфекционных осложнений. В настоящее время больная остается в полной ремиссии заболевания, срок наблюдения составляет 27 мес.

Второй больной алло-ТГСК была выполнена в период частичной ремиссии заболевания, после полностью завершено протокола «ЛКМ-2016». По данным ПЭТ/КТ-исследования, сохранялась лимфаденопатия в брюшной полости, по результатам исследования костного мозга у больной определялась МОБ, транслокация $t(11;14)(q31;q32)$ и $del\ 17p$. В качестве «мостика» к алло-ТГСК в течение двух недель был применен ибрутиниб в дозе 280 мг/сутки, в результате чего удалось достичь незначительной положительной динамики. В октябре 2018 г. больной была выполнена алло-ТГСК от неродственного полностью идентичного донора. Режим кондиционирования пониженной интенсивности включал флударабин 180 мг/м² + бусульфан 8 мг/кг + антитимоцитарный глобулин 40 мг/кг. Суммарно было перелито 4×10^8 /кг миелокариоцитов. Восстановление показателей крови произошло на +18-й день. С целью профилактики оРТПХ была выполнена трансфузия мезенхимальных стромальных клеток донора в количестве $1,4 \times 10^6$ /кг. На сроке +2 месяца после алло-ТГСК на фоне 100 % донорского кроветворения достигнута МОБ-негативность. В настоящее время больной продолжается иммуносупрессивная терапия циклоспорином А и преднизолоном в дозе 1 мг/кг массы тела, лечение осложнений оРТПХ печени II степени.

Двое больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53* умерли в результате прогрессии заболевания, несмотря на несколько линий ХТ и применение таргетных препаратов. У одного больного после завершения протокола «ЛКМ-2016» была выявлена прогрессия заболевания, подтвержденная данными ПЭТ/КТ и исследованием костного мозга. Несмотря на попытку использования ибрутиниба, у больного не удалось достичь даже стабилизации болезни, и он умер от резистентного течения основного заболевания. Второму больному в связи с быстрой прогрессией заболевания не удалось выполнить программу лечения по протоколу «ЛКМ-2016». После завершения всего лишь двух курсов ХТ у больного была выявлена резистентная нейтролейкемия. Среди пяти имеющихся сиблингов при выполнении генотипирования не оказалось ни одного полностью идентичного донора. Выполнение люмбальных пункций, использование платиносодержащих курсов, введений бортезомиба не позволило достичь даже незначительного эффекта, и больной умер от прогрессии болезни.

Обсуждение

Благодаря работам D. Weissenburger и соавт. [4, 5], которые описали характерный изолированный рост опухолевых клеток в мантийной зоне вторичных фолликулов, ЛКМ в дальнейшем и получила свое название, а в 1994 г. была выделена в отдельную нозологи-

ческую форму. В основе опухолевого патогенеза лежит гиперпродукция В-клеткой белка cyclin D1, обычно в результате транслокации $t(11;14)(q13;q32)$. Однако это не только не первое, но и не единственное событие в развитии ЛКМ. Клиническим проявлениям обычно предшествует многолетний период бессимптомного течения ЛКМ [31,32]. У больных ЛКМ, даже с клиническими проявлениями, могут выявляться разные этапы эволюции опухоли. Точная оценка биологии опухоли в момент диагностики будет определять выбор тактики лечения и возможность проведения прогноза ЛКМ. Любая индолентно текущая ЛКМ (даже при использовании практики наблюдения) неизбежно прогрессирует, приобретая негативные для прогноза «генетические изменения» [31, 32]. Это заложено в патогенезе ЛКМ. Возможно, приобретение таких «генетических аномалий», как мутации в генах *TP53*, *Notch1/2*, перестройка гена *c-Myc* в конечном счете не только разделит ЛКМ на две радикально разные по клиническому течению и ответу на терапию группы опухолей, но и сделает проведение ХТ абсолютно неэффективным [7–9]. Соответственно, потребуются поиск дифференцированных подходов и в терапии этих двух групп ЛКМ.

В первой группе ЛКМ без мутаций в гене *TP53* был применен протокол лечения, который включает основные принципы ХТ этих опухолей, разработанные в последние годы. Ранняя интенсификация ХТ с целью достижения клинической ПЭТ-негативной ремиссии и МОБ-негативности в костном мозге, высокодозная консолидация и проведение 2–3-летней поддерживающей терапии ритуксимабом доказали свое преимущество [33–37]. С целью повышения эффективности терапии, а, возможно, в дальнейшем и излечения ЛКМ необходимо включать в терапию все новые и новые компоненты.

В ряде исследований была доказана рациональность включения бендамустина в первую линию терапии ЛКМ [15, 38–39]. В 2005 г. M.J. Rummel и соавт. [15] показали увеличение медианы БРВ с 22 до 35 месяцев при применении схемы ритуксимаб + бендамустин (R-B), в сравнении с программой R-CHOP, длительное время считавшейся стандартом лечения ЛКМ.

Северно-западной онкологической группой (SWOG) в исследовании S1106 [38] при сравнении схемы R-B и R-hyperCVAD, не было выявлено отличий в эффективности, оцененной по МОБ, при снижении токсичности при применении бендамустина. Кроме того, возможности заготовки аутологичных стволовых гемопоэтических клеток оказались существенно выше при использовании схемы RB [38].

Существенным вкладом в повышение эффективности результатов терапии ЛКМ можно считать работу P. Armand и соавт. [17], которые в схеме лечения последовательно применили режимы R-B и R-НА (цитарабин в высоких дозах, максимально до 12 г/м²). По данным многочисленных проспективных и ран-

домизированных исследований [13, 14, 16, 17, 33, 35, 39], при оценке МОБ терапия цитарабином в высоких дозах имела явные преимущества по сравнению с другими интенсивными режимами ХТ в лечении ЛКМ. Сочетание режимов R-B и R-NA (ритуксимаб + высокие дозы цитарабина) с последующей высокодозной ХТ у 23 больных в возрасте от 42 до 69 лет позволило добиться трехлетней БРВ 85 %, причем МОБ-негативность по костному мозгу была достигнута у 93 % больных при чувствительности метода 10^{-6} (секвенирование высокого разрешения с детекцией свободно циркулирующей опухолевой ДНК плазмы) [39]. Терапия была применена в основном у больных группы низкого риска без бластоидной морфологии ЛКМ. Недостатком работ, связанным с применением этого режима, являлось отсутствие информации о результатах терапии больных ЛКМ с мутацией в гене *TP53*. Несмотря на это, в настоящее время режим R-B/R-NA является наиболее распространенной схемой индукционной терапии ЛКМ в США [39].

Синергический эффект бендамустина и цитарабина был сначала доказан в доклинических экспериментах на опухолевых линиях клеток ЛКМ, а потом успешно внедрен в клиническую практику [16, 17, 39]. С. Visco и соавт. [16] отметили высокую эффективность сочетанного применения ритуксимаба, бендамустина и цитарабина в средних дозах в режиме R-BAC (2-летняя БПВ в первой линии терапии достигала 95 %). Режим R-BAC сохранял свою эффективность даже у больных ЛКМ с рецидивом после терапии R-hyperCVAD (2-летняя БПВ достигала 70 %), но оказался недостаточно эффективным у больных в группе высокого риска (2-летняя БПВ составила только 50 %) [16].

Проанализировав полученные данные, был разработан исследовательский протокол терапии, включающий в себя ротирующую терапию R-BAC/R-NA. С учетом интенсификации лечения (замены R-B на R-BAC) в данном протоколе было уменьшено количество курсов до 4, что имеет преимущество для повседневной клинической практики, поскольку позволяет уменьшить отсроченную токсичность. По данным ПЭТ-контроля клинического ответа и оценки МОБ-негативности в костном мозге удалось доказать отсутствие потери эффективности терапии при сравнении с историческими 6–8-курсовыми контролями ХТ. Аналогичные работы по сокращению индукционной терапии ЛКМ до 4 курсов уже проводились французской группой по изучению лимфом LYSA без заметного снижения эффективности [40].

Программа, использованная в данной работе (ротирование режимов R-BAC и в высоких дозах цитарабина с последующей высокодозной и поддерживающей терапией), возможно, нивелирует недостатки описанных выше режимов и схем ХТ ЛКМ. По результатам лечения 17 больных (3 продолжают терапию), МОБ-негативность по костному мозгу достигнута после 1-го

курса у 7 больных, после 2-го у 9 больных, и только у 1 после 3-го курса ХТ. Полные ПЭТ-негативные ремиссии заболевания получены у всех 17 больных уже после окончания терапии R-BAC/R-NA. В дальнейшем им всем была успешно проведена ауто-ТГСК. По результатам ПЦР-исследования, В-клеточная клональность не выявлена ни в одном из 17 исследованных лейкоконцентратов после сбора аутологичных стволовых гемопоэтических клеток.

Подробно дана оценка гематологической и негематологической токсичности режимов R-BAC, R-NA и CEAM. Смертность, связанная с лечением, равна 0. Кроме того, как «суррогатный» маркер костномозговой токсичности можно использовать показатель эффективности сбора аутологичных стволовых клеток крови при проведении терапии R-BAC/R-NA. Эффективность адекватных сборов аутологичных стволовых клеток крови была 100 %, только в 1 случае был использован плериксафор. Проведенный анализ токсичности показал возможность проведения индукционного режима R-BAC/R-NA в большинстве гематологических клиник России. Снижение доз цитарабина было у 4 больных, выполняемость режима — 100 %.

Недостатками проведенного протокола являются небольшие сроки наблюдения и число больных. Если ориентироваться на данные Р. Armand и соавт. [17] и R.W. Merguman и соавт. [39] и воспользоваться критериями МОБ-негативности по костному мозгу, используемыми в данной работе, с чувствительностью 10^{-4} степени, можно предположить 3-летнюю БРВ около 90 % в группе больных ЛКМ без мутаций в гене *TP53*.

Необходимо учитывать «топическую гетерогенность» ЛКМ. Например, отсутствие мутаций в гене *TP53*, детектируемых с помощью молекулярных исследований низкого разрешения в образцах крови или костного мозга, не исключает их наличие в селезенке или лимфатических узлах у одного и того же больного [8]. Перспективна разработка и внедрение в практику детекции мутаций в гене *TP53* с помощью методов высокого разрешения (секвенирование нового поколения) на «универсально доступном материале» — свободной опухолевой ДНК плазмы [41, 42].

Во второй группе ЛКМ с мутациями в гене *TP53* результаты лечения хуже, но полученный опыт позволяет построить новую тактику лечения этих опухолей, резистентных к обычной ХТ. Несмотря на интенсивную ХТ, ни у одного из 4 больных ЛКМ (mut p53+) не было получено не только МОБ-негативности, но даже клинической ремиссии заболевания. Низкий процент полных ремиссий и МОБ-негативности был отмечен и в исследовании Nordic MCL group даже после интенсивной индукции и высокодозной консолидации [34, 36]. Поэтому отсутствие клинической ремиссии и МОБ-негативности у больных ЛКМ (mut p53+), является предвестником быстрого прогрессирования опухоли и маркером крайне неблагоприятного про-

гноза [43]. В работе С. Eskelund и соавт. [7] несколько больных ЛКМ с мутацией в гене *TP53* пережили 3 года без рецидива заболевания. Этот факт подробно не обсуждается в этом исследовании, но, по данным других работ, вероятно, на прогноз заболевания влияет не только обнаружение мутаций в гене *TP53*, но и их расположение в определенных экзонах, отвечающих за контакт белка p53 с ДНК, а также приобретение мутированным белком p53 онкогенных функций (gain of function) [20]. Преимущественное значение (77 % всех случаев) при ЛКМ имеют миссенс-мутации, обычно возникающие в области 5-го и 8-го экзона, в 176, 248 и 273-й позициях [10, 18, 19]. Обнаружение 2 из 4 мутаций в одном 7-м экзоне и в одной 248-й позиции подтверждает важность не столько наличия мутации в гене *TP53*, сколько ее «качества».

Если при хроническом лимфолейкозе ассоциация между del17p и мутацией в гене *TP53* встречается примерно в 85 % случаев [44], то при ЛКМ эти данные ограничены и противоречивы [10, 45]. По данным Т.С. Greiner и соавт. [45], у 82 больных ЛКМ мутации в гене *TP53* обнаружены в 19,5 % случаев (16/82), а делеция локуса 17p была выявлена только в 9,8 % (8/82) случаев. Только в 3,7 % случаев определялось сочетание мутации в гене *TP53* и делеции 17p [45]. По данным А.М. Halldorsdottir и соавт. [10], только в 8 % случаев были выявлены одновременно делеция 17p и мутация в гене *TP53*. Кроме того, ассоциации между вариантом морфологии и наличием мутации в гене *TP53* получено не было. Делеция 17p также была в равном проценте случаев как при бластоидной, так и при классической морфологии заболевания, но существенно не влияла на прогноз ЛКМ [11].

В настоящей работе только у троих из 4 больных с делецией 17p выявлена мутация в гене *TP53*. Еще у 1 больного ЛКМ с мутацией в гене *TP53* делеции 17p не выявлено. Бластоидная морфология выявлена у 3 из 4 больных ЛКМ с мутацией в гене *TP53* и у 4 из 20 больных без мутаций. Таким образом, у больных с бластоидной морфологией ЛКМ и del17p необходимо выполнять молекулярно-генетическое исследование для детекции мутаций в гене *TP53*, хотя последняя может быть обнаружена и при классической морфологии опухоли, и без del17p.

Двое больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53* в исследовании умерли в ранние сроки после завершения ХТ, несмотря на применение интенсивной ХТ и «таргетной» терапии. Двум больным ЛКМ (mut p53+) удалось выполнить алло-ТГСК в первой линии терапии. По данным литературы [46–48], в большинстве случаев алло-ТГСК используется уже при рецидиве заболевания, при рефрактерном течении или неэффективности нескольких линий терапии, однако при явных преимуществах ее проведения в первой линии [49, 50]. Проведение алло-ТГСК ЛКМ сопряжено с большим количеством трудностей: не решена проблема ранней летальности, осложнений РТПХ, а также остается

высоким риск рецидива. Однако алло-ТГСК на сегодняшний день — единственная возможность полного излечения ЛКМ, даже с мутацией в гене *TP53* [47, 48]. По данным R. Lin и соавт. [48], у 19 больных с рефрактерными/рецидивными формами ЛКМ (3 с del17p, 7 с мутациями в гене *TP53*, 9 с гиперэкспрессией белка p53) после выполнения алло-ТГСК 2-летняя ОВ и БПВ выживаемость составила 78 и 61 % соответственно. Смертность, не связанная с рецидивом, составила 20 % в течение двух лет. Острая РТПХ II–IV степени была у 43 % больных на 180-й день, хроническая РТПХ — в 33 % на сроке 2 года [48].

Выявление неблагоприятных форм ЛКМ с мутацией в гене *TP53* в дебюте заболевания позволяет обеспечить своевременный поиск донора и провести алло-ТГСК в момент максимальной редукции опухоли, после проведения индукционной ХТ. Проведение таргетной (в виде «мостиков») или сочетанной с ней ХТ является достойной альтернативой интенсивной высокодозной ХТ с возможностями сохранения «биологического резерва» для последующей алло-ТГСК.

Представляется перспективным применение таргетной терапии в первой линии терапии ЛКМ, позволяющей достичь уничтожения опухолевой В-клетки в обход сигнальных путей, ассоциированных с белком p53. Такие препараты, как ингибиторы сигнальных путей В-клеточного рецептора и циклин-зависимых киназ, индукторы апоптоза, иммуномодуляторы, ингибиторы контрольных точек иммунологического синапса, а также моноклональные антитела нового поколения, доказали свою эффективность в группе больных с рецидивными и резистентными формами ЛКМ, даже с мутациями в гене *TP53* [51–55]. Длительность ответа при применении различных таргетных препаратов при рецидиве опухоли пока кратковременная, но это дает основание для использования этой терапии в первой линии у больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53*. Перспективно сочетанное применение ибрутиниба и венетоклакса — препаратов, показавших свою эффективность в лечении В-клеточных лимфом с мутациями в гене *TP53*, и ХТ в первой линии терапии ЛКМ с мутациями в гене *TP53* [53]. Возможно, это станет альтернативой проведению алло-ТГСК либо позволит более эффективно выполнить последнюю.

Высокая эффективность применения ибрутиниба в первой линии терапии была показана у 5 больных, у которых была спленомегалия, позволив достигнуть максимального уменьшения размеров селезенки, восстановить количество тромбоцитов крови, провести биологический прайминг и в дальнейшем успешно выполнить программу «ЛКМ-2016». Аналогичные работы по применению таргетной терапии в первой линии больных ЛКМ уже проводятся в ряде клинических исследований, однако без указаний на анализ мутаций в гене *TP53* [52].

Таким образом, по результатам проведенной работы можно сформулировать несколько выводов.

1. У больных из группы высокого риска, при наличии бластоидной морфологии ЛКМ, комплексного кариотипа, гиперлейкоцитоза, *del* 17p необходимо проведение молекулярно-генетического исследования на детекцию мутаций в гене *TP53*.

2. Перспективна разработка методов молекулярной диагностики высокого разрешения с использованием свободной опухолевой ДНК плазмы с целью более точной детекции мутаций в гене *TP53* при ЛКМ.

3. При обнаружении мутации в гене *TP53* необходимо проведение поиска совместимого донора костного мозга/гемопозитических стволовых кроветворных клеток.

4. При наличии совместимого донора, отсутствии клинической ремиссии и позитивности МОБ после проведенной ХТ показано выполнение алло-ТГСК.

5. У больных без мутации в гене *TP53* применение протокола «ЛКМ-2016» показало высокую эффективность в достижении ремиссии, МОБ-негативности при приемлемой токсичности и возможности заготовки аутологичных стволовых клеток, что диктует необходимость увеличения числа больных, включаемых в исследование, и сроков наблюдения для формирования окончательных выводов.

6. Необходима разработка альтернативных вариантов лечения больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53* с применением сочетанной таргетной терапии и ХТ.

Литература

1. Королева Д.А., Звонков Е.Е., Габеева Н.Г. и др. Исследовательский протокол лечения лимфомы из клеток мантийной зоны у больных в возрасте до 65 лет. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови, под ред. академика РАН В.Г. Савченко. М., 2018; 2: 531.
2. Воробьев В.И., Кравченко С.К., Гемджян Э.Г. и др. Мантийноклеточная лимфома: программное лечение первичных больных в возрасте до 65 лет. Клиническая онкогематология. 2013; 6 (3): 274–81.
3. Воробьев В.И., Лорие Ю.Ю., Мангасарова Я.К. и др. Возможности терапии рецидивов и резистентного течения лимфомы из клеток мантийной зоны. Гематология и трансфузиология. 2011; 56 (1): 34–7.
4. Weisenburger D.D., Vose J.M., Greiner T.C. et al. Mantle Cell Lymphoma. A Clinicopathologic study of 68 Cases from the Nebraska Lymphoma Study Group. Am. J. Hematol. 2000; 64:190–6.
5. Weisenburger D.D., Nathwani B.N., Diamond L.W. et al. Malignant lymphoma, intermediate lymphocytic type: A clinicopathologic study of 42 cases. Cancer. 1981; 48: 1415–25.
6. McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. ISCN. 2016; 1–140.
7. Eskelund C.W., Dah C., Hansen J. et al. TP53 mutations identify younger mantle cell lymphoma patients who do not benefit from intensive chemoimmunotherapy. Blood. 2017; 130: 1903–10. DOI: 10.1182/blood-2017-04-779736.
8. Bea S., Valdés-Mas R., Navarro A. et al. Landscape of somatic mutations and clonal evolution in mantle cell lymphoma. PNAS USA. 2013; 110 (45): 18250–5. DOI: 10.1073/pnas.1314608110.
9. Hu Z., Medeiros L.J., Chen Z et al. Mantle Cell Lymphoma with MYC Rearrangement: A Report of 17 Patients. Am J Surg Pathol. 2017; 41(2): 216–24. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000860.
10. Halldorsdottir A.M., Lundin A., Murray F. et al. Impact of TP53 mutation and 17p deletion in mantle cell lymphoma. Leukemia. 2011; 25: 1904–8. DOI:10.1038/leu.2011.162.
11. Geisler C.H., Kolstad A., Laurell A. et al. The Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index (MIPI) is superior to the International Prognostic Index (IPI) in predicting survival following intensive first-line immunochemotherapy and autologous stem cell transplantation (ASCT). Blood. 2010; 8: 1530–3. DOI: 10.1182/blood-2009-08-236570.
12. Hoster E., Dreyling M., Klapper W. et al. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. Blood. 2008; 111(2): 558–65. DOI: 10.1182/blood-2007-06-095331.

References

1. Koroleva D.A., Zvonkov E.E., Gabeeva N.G. et al. The research protocol for the treatment of mantle cell lymphoma from in patients under 65 years. Diagnostic algorithms and protocols for treatment of diseases of the blood system. Praktika. Moscow. 2018. 2: 531–55 (In Russian).
2. Vorobyev V.I., Kravchenko S.K., Gemdzhyan E.G. et al. Mantle cell lymphoma: program therapy for untreated patients under 65 years. Klinicheskaya oncohematologiya. 2013; 6 (3): 274–81 (In Russian).
3. Vorobyev V.I., Lorie Yu.Yu., Mangasarova Y.K. et al. Opportunities of treatment of relapses and resistant mantle cell lymphoma. Gematologiya i Transfusiologiya. 2011. 56 (1): 34–7 (In Russian).
4. Weisenburger D.D., Vose J.M., Greiner T.C. et al. Mantle Cell Lymphoma. A Clinicopathologic study of 68 Cases from the Nebraska Lymphoma Study Group. Am. J. Hematol. 2000; 64: 190–6.
5. Weisenburger D.D., Nathwani B.N., Diamond L.W. et al. Malignant lymphoma, intermediate lymphocytic type: A clinicopathologic study of 42 cases. Cancer. 1981; 48: 1415–25.
6. McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. ISCN. 2016; 1–140.
7. Eskelund C.W., Dah C., Hansen J. et al. TP53 mutations identify younger mantle cell lymphoma patients who do not benefit from intensive chemoimmunotherapy. Blood. 2017; 130: 1903–10. DOI: 10.1182/blood-2017-04-779736.
8. Bea S., Valdés-Mas R., Navarro A. et al. Landscape of somatic mutations and clonal evolution in mantle cell lymphoma. PNAS USA. 2013; 110 (45): 18250–5. DOI: 10.1073/pnas.1314608110.
9. Hu Z., Medeiros L.J., Chen Z et al. Mantle Cell Lymphoma with MYC Rearrangement: A Report of 17 Patients. Am J Surg Pathol. 2017; 41(2): 216–24. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000860.
10. Halldorsdottir A.M., Lundin A., Murray F. et al. Impact of TP53 mutation and 17p deletion in mantle cell lymphoma. Leukemia. 2011; 25: 1904–8. DOI: 10.1038/leu.2011.162.
11. Geisler C.H., Kolstad A., Laurell A. et al. The Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index (MIPI) is superior to the International Prognostic Index (IPI) in predicting survival following intensive first-line immunochemotherapy and autologous stem cell transplantation (ASCT). Blood. 2010; 8: 1530–3. DOI: 10.1182/blood-2009-08-236570.
12. Hoster E., Dreyling M., Klapper W. et al. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. Blood. 2008; 111(2): 558–65. DOI: 10.1182/blood-2007-06-095331.

13. Khouri I.F., Romaguera J., Kantarjian H. et al. Hyper-CVAD and high-dose methotrexate/cytarabine followed by stem-cell transplantation: an active regimen for aggressive mantle-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 1998; 16: 3803–9. DOI: 10.1200/JCO.1998.16.12.3803.
14. Romaguera J.E., Fayad L.E., Feng L. et al. Ten-year follow-up after intense chemoimmunotherapy with Rituximab-HyperCVAD alternating with Rituximab-high dose methotrexate/cytarabine (R-MA) and without stem cell transplantation in patients with untreated aggressive mantle cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2010; 150: 200–8. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08228.
15. Rummel M.J., Al-Batran S.E., Kim S.Z. et al. Bendamustine plus rituximab is effective and has a favorable toxicity profile in the treatment of mantle cell and low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(15): 3383–9. DOI: 10.1200/JCO.2005.08.100.
16. Visco C., Finotto S., Zambello R. et al. Combination of rituximab, bendamustine, and cytarabine for patients with mantle-cell non-Hodgkin lymphoma ineligible for intensive regimens or autologous transplantation. *J Clin Oncol.* 2013; 31(11): 1442–9. DOI: 10.1200/JCO.2012.45.9842.
17. Armand P., Redd R., Bsat J. et al. A phase 2 study of Rituximab-Bendamustine and Rituximab-Cytarabine for transplant-eligible patients with mantle cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2016; 173(1): 89–95. DOI: 10.1111/bjh.13929.
18. Halldorsdottir A.M., Sander B., Goransson H. et al. High-resolution genomic screening in mantle cell lymphoma—specific changes correlate with genomic complexity, the proliferation signature and survival. *Genes Chromosomes Cancer.* 2010; 50(2): 113–21. DOI: 10.1002/gcc.20836.
19. Hernandez L., Fest T., Cazorla M. et al. p53 gene mutations and protein overexpression are associated with aggressive variants of mantle cell lymphomas. *Blood.* 1996; 87(8): 3351–9.
20. Young K.H., Leroy K., Møller M.B. et al. Structural profiles of TP53 gene mutations predict clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma: an international collaborative study. *Blood.* 2008; 112(8): 3088–98. DOI: 10.1182/blood-2008-01-129783.
21. http://p53.iarc.fr/Download/TP53_DirectSequencing_IARC.pdf
22. <http://station2.arrest.tools/glass/>
23. <http://vps338341.ovh.net/>
24. <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>.
25. Бидерман Б.В., Никитин Е.А., Сергиенко Т.Ф. и др. Репертуар генов тяжелой цепи иммуноглобулинов при В-клеточном хроническом лимфолейкозе в России и Беларуси. *Онкогематология.* 2012 (3): 38–43.
26. http://www.imgt.org/IMGT_vquest/vquest.
27. Cheah C.Y., Seymour J.F., Wang M.L. Mantle Cell Lymphoma. *Clin. Oncol.* 2016; 34:1256–69. DOI: 10.1200/JCO.2015.63.5904.
28. Oken M., Creech R., Tormey D. et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am. J. Clin. Oncol.* 1982; 5: 649–55.
29. https://www.eortc.be/services/doc/ctc/CTCAE_v5_Quick_Reference_5x7.pdf.
30. Barrington S.F., Mikhaeel N. G., Kostakoglu L. et al. Role of Imaging in the Staging and Response Assessment of Lymphoma: Consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol.* 2014; 32(27): 3048–58. DOI: 10.1200/JCO.2013.53.5229.
31. Carvajal-Cuenca A., Sua L.F., Silva N.M. et al. *In situ* mantle cell lymphoma: clinical implications of an incidental finding with indolent clinical behavior. *Haematologica.* 2012; 97(2): 270–8. DOI: 10.3324/haematol.2011.052621
32. Devine S.M., Racke F., Blum K.A. Mantle Cell Lymphoma 12 Years after Allogeneic Bone Marrow Transplantation Occurring Simultaneously in Recipient and Donor. *J Clin Oncol.* 2010; 28 (31): 629–32. DOI: 10.1200/JCO.2010.29.8992.
13. Khouri I.F., Romaguera J., Kantarjian H. et al. Hyper-CVAD and high-dose methotrexate/cytarabine followed by stem-cell transplantation: an active regimen for aggressive mantle-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 1998; 16: 3803–9. DOI: 10.1200/JCO.1998.16.12.3803.
14. Romaguera J.E., Fayad L.E., Feng L. et al. Ten-year follow-up after intense chemoimmunotherapy with Rituximab-HyperCVAD alternating with Rituximab-high dose methotrexate/cytarabine (R-MA) and without stem cell transplantation in patients with untreated aggressive mantle cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2010; 150: 200–8. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08228.
15. Rummel M.J., Al-Batran S.E., Kim S.Z. et al. Bendamustine plus rituximab is effective and has a favorable toxicity profile in the treatment of mantle cell and low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(15): 3383–9. DOI: 10.1200/JCO.2005.08.100.
16. Visco C., Finotto S., Zambello R. et al. Combination of rituximab, bendamustine, and cytarabine for patients with mantle-cell non-Hodgkin lymphoma ineligible for intensive regimens or autologous transplantation. *J Clin Oncol.* 2013; 31(11): 1442–9. DOI: 10.1200/JCO.2012.45.9842.
17. Armand P., Redd R., Bsat J. et al. A phase 2 study of Rituximab-Bendamustine and Rituximab-Cytarabine for transplant-eligible patients with mantle cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2016; 173(1): 89–95. DOI: 10.1111/bjh.13929.
18. Halldorsdottir A.M., Sander B., Goransson H. et al. High-resolution genomic screening in mantle cell lymphoma—specific changes correlate with genomic complexity, the proliferation signature and survival. *Genes Chromosomes Cancer.* 2010; 50(2): 113–21. DOI: 10.1002/gcc.20836.
19. Hernandez L., Fest T., Cazorla M. et al. p53 gene mutations and protein overexpression are associated with aggressive variants of mantle cell lymphomas. *Blood.* 1996; 87(8): 3351–9.
20. Young K.H., Leroy K., Møller M.B. et al. Structural profiles of TP53 gene mutations predict clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma: an international collaborative study. *Blood.* 2008; 112(8): 3088–98. DOI: 10.1182/blood-2008-01-129783.
21. http://p53.iarc.fr/Download/TP53_DirectSequencing_IARC.pdf
22. <http://station2.arrest.tools/glass/>
23. <http://vps338341.ovh.net/>
24. <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>.
25. Biderman B.V., Nikitin E.A., Sergienko T.F. et al. The repertoire of heavy chain immunoglobulin genes in B-cell chronic lymphocytic leukemia in Russia and Belarus. *Oncohematologiya.* 2012. 3: 38–43 (In Russian).
26. http://www.imgt.org/IMGT_vquest/vquest.
27. Cheah C.Y., Seymour J.F., Wang M.L. Mantle Cell Lymphoma. *Clin. Oncol.* 2016; 34: 1256–69. DOI: 10.1200/JCO.2015.63.5904.
28. Oken M., Creech R., Tormey D. et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am. J. Clin. Oncol.* 1982; 5: 649–55.
29. https://www.eortc.be/services/doc/ctc/CTCAE_v5_Quick_Reference_5x7.pdf.
30. Barrington S.F., Mikhaeel N. G., Kostakoglu L. et al. Role of Imaging in the Staging and Response Assessment of Lymphoma: Consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol.* 2014; 32(27): 3048–58. DOI:10.1200/JCO.2013.53.5229.
31. Carvajal-Cuenca A., Sua L.F., Silva N.M. et al. *In situ* mantle cell lymphoma: clinical implications of an incidental finding with indolent clinical behavior. *Haematologica.* 2012; 97(2): 270–278. DOI: 10.3324/haematol.2011.052621
32. Devine S.M., Racke F., Blum K.A. Mantle Cell Lymphoma 12 Years after Allogeneic Bone Marrow Transplantation Occurring Simultaneously in Recipient and Donor. *J Clin Oncol.* 2010; 28 (31): 629–32. DOI: 10.1200/JCO.2010.29.8992.

33. Hermine O., Hoster E., Walewski J. et al. Addition of high-dose cytarabine to immunochemotherapy before autologous stem-cell transplantation in patients aged 65 years or younger with mantle cell lymphoma (MCL Younger): a randomized, open-label, phase 3 trial of the European Mantle Cell Lymphoma Network. *Lancet*. 2016; 388 (10044): 565–75. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00739-X.
34. Geisler C.H., Kolstad A., Laurell A. et al. Nordic MCL2 trial update: six-year follow-up after intensive immunochemotherapy for untreated mantle cell lymphoma followed by BEAM or BEAC + autologous stem-cell support: still very long survival but late relapses do occur. *Br J Haematol*. 2012; 158(3): 355–62. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2012.09174.x.
35. Hermine O., Hoster E., Walewski J. et al. Alternating courses of 3x CHOP and 3x DHAP plus rituximab followed by a high dose ARA-C containing myeloablative regimen and autologous stem cell transplantation (ASCT) increases overall survival when compared to 6 courses of CHOP plus rituximab followed by myeloablative radiochemotherapy and ASCT in mantle cell lymphoma: final analysis of the MCL Younger Trial of the European Mantle Cell Lymphoma Network (MCL net). *Blood*. 2012; 120(21): 151.
36. Kolstad A., Laurell A., Jerkeman M. et al. Nordic MCL3 study: 90Y-ibritumomab-tiuxetan added to BEAM/C in non-CR patients before transplant in mantle cell lymphoma. *Blood*. 2014; 123(19): 2953–9. DOI: 10.1182/blood-2013-12-541953.
37. Dietrich S., Weidle J., Meissner J. et al. Rituximab Maintenance Therapy After Autologous Stem Cell Transplantation Prolongs Progression Free Survival In Patients With Mantle Cell Lymphoma. *Leukemia*. 2013; 28: 708–9. DOI: 10.1038/leu.2013.332.
38. Chen R., Li H., Bernstein S.H., Kahwash S. et al. RB but not R-HCVAD is a feasible induction regimen prior to auto-HCT in frontline MCL: results of SWOG Study S1106. *Br J Haematol*. 2017; 176(5): 759–69. DOI: 10.1111/bjh.14480.
39. Merryman R.W., Kahl B.S., Redd R.A. et al. Rituximab/Bendamustine and Rituximab/Cytarabine (RB/RC) Induction Chemotherapy for Transplant-Eligible Patients with Mantle Cell Lymphoma: A Pooled Analysis of Two Phase 2 Clinical Trials and Off-Trial Experience. *ASH*. 2018.
40. Augustin A., Gouill S.L., Gressin R. et al. Survival benefit of mantle cell lymphoma patients enrolled in clinical trials; a joint study from the LYSA group and French cancer registries. *J. Cancer Res. Clin. Oncol*. 2018; 144(4): 629–35. DOI: 10.1007/s00432-017-2529-9.
41. Long X., Gu J., Lou Y et al. Droplet Digital PCR Monitoring of *TP53* Mutated Circulating Tumor DNA Levels in Lymphoma Patients. 60th ASH. 2018. DOI: 10.1182/blood-2018-99-113825.
42. Lakhoria R., Melani C., Pittaluga S. et al. Circulating Tumor DNA Dynamics during Therapy Predict Outcomes in Mantle Cell Lymphoma. 60th ASH. 2018. DOI: 10.1182/blood-2018-99-112573.
43. Ferrero S. and Dreyling M. Minimal residual disease in mantle cell lymphoma: are we ready for a personalized treatment approach? *Haematologica*. 2017; 102(7): 1133–6. DOI: 10.3324/haematol.2017
44. Stilgenbauer S., Schnaiter A., Paschka P. et al. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood*. 2014; 123(21): 3247–54. DOI: 10.1182/blood-2014-01-546150.
45. Greiner T.C., Moynihan M.J., Chan W.C. et al. p53 mutations in mantle cell lymphoma are associated with variant cytology and predict a poor prognosis. *Blood*. 1996; 87 (10): 4302–10.
46. Fenske T.S., Zhang M.J., Carreras J. et al. Autologous or Reduced-Intensity Conditioning Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Chemotherapy-Sensitive Mantle-Cell Lymphoma: Analysis of Transplantation Timing and Modality. *J Clin Oncol*. 2014; 32(4): 273–81. DOI: 10.1200/JCO.2013.49.2454.
33. Hermine O., Hoster E., Walewski J. et al. Addition of high-dose cytarabine to immunochemotherapy before autologous stem-cell transplantation in patients aged 65 years or younger with mantle cell lymphoma (MCL Younger): a randomized, open-label, phase 3 trial of the European Mantle Cell Lymphoma Network. *Lancet*. 2016; 388 (10044): 565–75. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00739-X.
34. Geisler C.H., Kolstad A., Laurell A. et al. Nordic MCL2 trial update: six-year follow-up after intensive immunochemotherapy for untreated mantle cell lymphoma followed by BEAM or BEAC + autologous stem-cell support: still very long survival but late relapses do occur. *Br J Haematol*. 2012; 158(3): 355–62. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2012.09174.x.
35. Hermine O., Hoster E., Walewski J. et al. Alternating courses of 3x CHOP and 3x DHAP plus rituximab followed by a high dose ARA-C containing myeloablative regimen and autologous stem cell transplantation (ASCT) increases overall survival when compared to 6 courses of CHOP plus rituximab followed by myeloablative radiochemotherapy and ASCT in mantle cell lymphoma: final analysis of the MCL Younger Trial of the European Mantle Cell Lymphoma Network (MCL net). *Blood*. 2012; 120(21): 151.
36. Kolstad A., Laurell A., Jerkeman M. et al. Nordic MCL3 study: 90Y-ibritumomab-tiuxetan added to BEAM/C in non-CR patients before transplant in mantle cell lymphoma. *Blood*. 2014; 123(19): 2953–9. DOI: 10.1182/blood-2013-12-541953.
37. Dietrich S., Weidle J., Meissner J. et al. Rituximab Maintenance Therapy After Autologous Stem Cell Transplantation Prolongs Progression Free Survival In Patients With Mantle Cell Lymphoma. *Leukemia*. 2013; 28: 708–9. DOI: 10.1038/leu.2013.332.
38. Chen R., Li H., Bernstein S.H., Kahwash S. et al. RB but not R-HCVAD is a feasible induction regimen prior to auto-HCT in frontline MCL: results of SWOG Study S1106. *Br J Haematol*. 2017; 176(5): 759–69. DOI: 10.1111/bjh.14480.
39. Merryman R.W., Kahl B.S., Redd R.A. et al. Rituximab/Bendamustine and Rituximab/Cytarabine (RB/RC) Induction Chemotherapy for Transplant-Eligible Patients with Mantle Cell Lymphoma: A Pooled Analysis of Two Phase 2 Clinical Trials and Off-Trial Experience. *ASH*. 2018.
40. Augustin A., Gouill S.L., Gressin R. et al. Survival benefit of mantle cell lymphoma patients enrolled in clinical trials; a joint study from the LYSA group and French cancer registries. *J. Cancer Res. Clin. Oncol*. 2018; 144(4): 629–35. DOI: 10.1007/s00432-017-2529-9.
41. Long X., Gu J., Lou Y et al. Droplet Digital PCR Monitoring of *TP53* Mutated Circulating Tumor DNA Levels in Lymphoma Patients. 60th ASH. 2018. DOI: 10.1182/blood-2018-99-113825.
42. Lakhoria R., Melani C., Pittaluga S. et al. Circulating Tumor DNA Dynamics during Therapy Predict Outcomes in Mantle Cell Lymphoma. 60th ASH. 2018. DOI: 10.1182/blood-2018-99-112573.
43. Ferrero S. and Dreyling M. Minimal residual disease in mantle cell lymphoma: are we ready for a personalized treatment approach? *Haematologica*. 2017; 102(7): 1133–6. DOI: 10.3324/haematol.2017
44. Stilgenbauer S., Schnaiter A., Paschka P. et al. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood*. 2014; 123(21): 324–54. DOI: 10.1182/blood-2014-01-546150.
45. Greiner T.C., Moynihan M.J., Chan W.C. et al. p53 mutations in mantle cell lymphoma are associated with variant cytology and predict a poor prognosis. *Blood*. 1996; 87 (10): 4302–10.
46. Fenske T.S., Zhang M.J., Carreras J. et al. Autologous or Reduced-Intensity Conditioning Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Chemotherapy-Sensitive Mantle-Cell Lymphoma: Analysis of Transplantation Timing and Modality. *J Clin Oncol*. 2014; 32(4): 273–81. DOI: 10.1200/JCO.2013.49.2454.

47. Lin R.J, Ho C., Hilden P. et al. Allogeneic Stem Cell Transplantation Overcomes the Negative Prognostic Impact of TP53 Alterations in Mantle Cell Lymphoma. 60th ASH. 2018.
48. Lin R.J, Ho C., Hilden P.D. et al. Allogeneic haematopoietic cell transplantation impacts on outcomes of mantle cell lymphoma with TP53 alterations. *Br J Haematol.* 2018; 184(6): 1006–10. DOI: 10.1111/bjh.15721.
49. Sandoval-Sus J.D., Faramand R., Chavez J. et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation is potentially curative in mantle cell lymphoma: results from a single institution study. *Leuk lymphoma.* 2018; 60(2): 309–16. DOI:10.1080/10428194.2018.1468894.
50. Rule S., Cook G., Russell N.H. et al. Allogeneic stem cell transplantation as part of front line therapy for Mantle cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2018; 184(6): 999–1005. DOI: 10.1111/bjh.15723.
51. Dreger P., Michallet M., Bosman P. et al. Ibrutinib for bridging to allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with chronic lymphocytic leukemia or mantle cell lymphoma: a study by the EBMT Chronic Malignancies and Lymphoma Working Parties. *Bone Marrow Transplant.* 2019; 54(1): 44–52. DOI: 10.1038/s41409-018-0207-4.
52. Wang M.L., Lee H., Thirumurthi S. et al. Ibrutinib — Rituximab followed by reduced chemoimmunotherapy consolidation in young, newly diagnosed mantle cell lymphoma patients a window of opportunity to reduce chemo. *Hematol Oncol.* 2017; 35(2): 142–3. DOI: org/10.1002/hon.2437_132.
53. Tam C.S., Anderson M.A., Pott C. et al. Ibrutinib plus Venetoclax for the Treatment of Mantle-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2018; 378: 1211–22. DOI: 10.1056/NEJMoa171551.
54. Eyre T.A., Walter H. S., Iyengar S. et al. Efficacy of venetoclax monotherapy in patients with relapsed, refractory mantle cell lymphoma after BTK inhibitor therapy. *Haematologica.* 2018; 104: 68–71. DOI: 10.3324/haematol.2018.198812
55. Mori S., Patel R.D., Ahmad S. et al. Aggressive Leukemic Non-Nodal Mantle Cell Lymphoma with P53 Gene Rearrangement/Mutation is Highly Responsive to Rituximab/Ibrutinib Combination Therapy. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2018; 19(2): 93–7. DOI: 10.1016/j.clml.2018.11.007.
47. Lin R.J, Ho C., Hilden P. et al. Allogeneic Stem Cell Transplantation Overcomes the Negative Prognostic Impact of TP53 Alterations in Mantle Cell Lymphoma. 60th ASH. 2018.
48. Lin R.J, Ho C., Hilden P.D. et al. Allogeneic haematopoietic cell transplantation impacts on outcomes of mantle cell lymphoma with TP53 alterations. *Br J Haematol.* 2018; 184(6): 1006–10. DOI: 10.1111/bjh.15721.
49. Sandoval-Sus J.D., Faramand R., Chavez J. et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation is potentially curative in mantle cell lymphoma: results from a single institution study. *Leuk lymphoma.* 2018; 60(2): 309–16. DOI: 10.1080/10428194.2018.1468894.
50. Rule S., Cook G., Russell N.H. et al. Allogeneic stem cell transplantation as part of front line therapy for Mantle cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2018; 184(6): 999–1005. DOI: 10.1111/bjh.15723.
51. Dreger P., Michallet M., Bosman P. et al. Ibrutinib for bridging to allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with chronic lymphocytic leukemia or mantle cell lymphoma: a study by the EBMT Chronic Malignancies and Lymphoma Working Parties. *Bone Marrow Transplant.* 2019; 54(1): 44–52. DOI: 10.1038/s41409-018-0207-4.
52. Wang M.L., Lee H., Thirumurthi S. et al. Ibrutinib — Rituximab followed by reduced chemoimmunotherapy consolidation in young, newly diagnosed mantle cell lymphoma patients a window of opportunity to reduce chemo. *Hematol Oncol.* 2017; 35(2): 142–3. DOI: org/10.1002/hon.2437_132.
53. Tam C.S., Anderson M.A., Pott C. et al. Ibrutinib plus Venetoclax for the Treatment of Mantle-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2018; 378: 1211–22. DOI: 10.1056/NEJMoa171551.
54. Eyre T.A., Walter H. S., Iyengar S. et al. Efficacy of venetoclax monotherapy in patients with relapsed, refractory mantle cell lymphoma after BTK inhibitor therapy. *Haematologica.* 2018; 104: 68–71. DOI: 10.3324/haematol.2018.198812
55. Mori S., Patel R.D., Ahmad S. et al. Aggressive Leukemic Non-Nodal Mantle Cell Lymphoma with P53 Gene Rearrangement/Mutation is Highly Responsive to Rituximab/Ibrutinib Combination Therapy. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2018; 19(2): 93–7. DOI: 10.1016/j.clml.2018.11.007.

Информация об авторах

Королева Дарья Александровна*, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным стационаром, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: koroleva_12-12@mail.ru, тел.: +7 (495) 612-44-72; 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5762-8294>

Габеева Нелли Георгиевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dr.gabeeva@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5171-0414>

Information about the authors

Daria A. Koroleva*, Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: koroleva_12-12@mail.ru, tel.: +7 (495) 612-44-72; 125167, Moscow, Novyy Zykovskiy proezd, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5762-8294>

Nelli G. Gabeeva, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: dr.gabeeva@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5171-0414>

Кузьмина Лариса Анатольевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: kuzlara@rambler.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

Цыганкова Светлана Валерьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории палео- и этногенетики Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт»,
e-mail: svetlana.tsygankova@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1065-3702>

Булыгина Евгения Станиславовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ресурсного центра молекулярно-клеточной биологии Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт»,
e-mail: eugenia.bulygina@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3795-0571>

Расторгуев Сергей Михайлович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории палео- и этногенетики Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт»,
e-mail: rastorgueff@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0095-0255>

Недолужко Артем Валерьевич, кандидат биологических наук, руководитель лаборатории палео- и этногенетики Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт»,
e-mail: nedoluzhko@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7040-0892>

Саенко Степан Сергеевич, лаборант-исследователь в лаборатории палео- и этногенетики Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт»,
e-mail: saenko@phystech.edu

Нарайкин Олег Степанович, доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе и связям с органами государственной власти НИЦ «Курчатовский институт».

Гаврилина Ольга Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: dr.gavrilina@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9669-8482>

Larisa A. Kuzmina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Centre for Hematology,
e-mail: Kuzmina.l@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

Svetlana V. Tsygankova, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Paleo- and Ethnogenetics, Nature-Like Technologies Kurchatov Complex, National Research Centre "Kurchatov Institute",
e-mail: svetlana.tsygankova@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1065-3702>

Evgeniya S. Bulygina, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Resource Centre of Molecular Cell Biology, Nature-Like Technologies Kurchatov Complex, National Research Centre "Kurchatov Institute",
e-mail: eugenia.bulygina@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3795-0571>

Sergey M. Rastorguev, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Paleo- and Ethnogenetics, Nature-Like Technologies Kurchatov Complex, National Research Centre "Kurchatov Institute",
e-mail: rastorgueff@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0095-0255>

Artyom V. Nedoluzhko, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Paleo- and Ethnogenetics, Nature-Like Technologies Kurchatov Complex, National Research Centre "Kurchatov Institute",
e-mail: nedoluzhko@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7040-0892>

Stepan S. Saenko, Research Assistant, Laboratory for Paleo- and Ethnogenetics, Kurchatov Complex of NBICS Nature-Like Technologies, National Research Centre "Kurchatov Institute",
e-mail: saenko@phystech.edu

Oleg S. Naraikin, Dr. Sci. (Tech.), Prof., RAS Corresponding Member, Deputy Director for Research and Relations with Government Agencies, National Research Centre "Kurchatov Institute".

Olga A. Gavrilina, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology,
e-mail: dr.gavrilina@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9669-8482>

Бидерман Белла Вениаминовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: bella_biderman@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Гальцева Ирина Владимировна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: galtseva.i@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>

Ковригина Алла Михайловна, доктор биологических наук, заведующая патологоанатомическим отделением ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: kovrigina.alla@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1082-8659>

Обухова Татьяна Никифоровна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией кариологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: obukhova_t@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

Звонков Евгений Евгеньевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: dr.zvonkov@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2639-7419>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 25.01.2019

Принята к печати: 14.05.2019

Bella V. Biderman, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, National Research Centre for Hematology,
e-mail: bella_biderman@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Irina M. Galtseva, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory for Immunophenotyping Blood and Bone Marrow Cells, National Research Center for Hematology,
e-mail: galtseva.i@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>

Alla M. Kovrigina, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Pathology Department, National Research Centre for Hematology,
e-mail: kovrigina.alla@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1082-8659>

Tatyana N. Obukhova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Karyology Laboratory, National Research Centre for Hematology,
e-mail: obukhova_t@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

Evgeny E. Zvonkov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas with a in-patient & out-patient Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: dr.zvonkov@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2639-7419>

*** Corresponding author**

Received 25 Jan 2019

Accepted 14 May 2019

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА В КРОВИ КРЫС ПРИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМ ОБЛУЧЕНИИ В ДЕЦИМЕТРОВОМ ДИАПАЗОНЕ

Аббасова М. Т.*, Гаджиев А. М.

Институт физиологии им. академика Абдуллы Караева Национальной академии наук Азербайджана, AZ1100, Баку, Азербайджан

РЕЗЮМЕ

Введение. Интенсивное развитие радиокommunikаций и электрокоммуникаций, различных электронных устройств приводит к «электромагнитному загрязнению» окружающей среды.

Целью исследования явилось изучение показателей железа в сыворотке крыс, подвергшихся воздействию хронического электромагнитного излучения (ЭМИ) дециметрового диапазона.

Материалы и методы. Исследование проведено на крысах, которые были разделены на экспериментальную и контрольную группы. Экспериментальная группа подразделялась на 4 подгруппы по 10 животных в каждой, которые подвергались воздействию ЭМИ (частота 460 МГц, аппарат «Волна-2») в течение 1, 2, 3 и 4 недель. Контрольную группу (10 крыс) подвергали «ложному» облучению при выключенном аппарате. Оценивали сывороточное железо (СЖ), общую железосвязывающую способность (ОЖСС) и ненасыщенную железосвязывающую способность (НЖСС) сыворотки, насыщение трансферрина железом (НТЖ), сывороточные концентрации трансферрина, гаптоглобина, малонового диальдегида, гидроперекисей липидов.

Результаты. Различия концентраций СЖ с контрольной группой ($30,5 \pm 3,3$ мкмоль/л) обнаружены в подгруппах животных, облученных в течение 3 и 4 недель ($44,1 \pm 3,1$ и $56,8 \pm 4,4$ мкмоль/л соответственно). ОЖСС у опытных животных увеличилась на 41 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой ($110,8 \pm 10,1$ мкмоль/л) только после 3 недель облучения ($156,2 \pm 18,2$ мкмоль/л), на 4-й неделе отмечено уменьшение ОЖСС до $123,6 \pm 16,4$ мкмоль/л. Концентрация трансферрина повысилась с $45,6 \pm 8,0$ мкмоль/л в контроле до $81,0 \pm 11,5$ мкмоль/л на 3-й неделе облучения, на 4-й неделе отмечено ее уменьшение до $55,9 \pm 6,7$ мкмоль/л. НТЖ увеличилось с 27,5 % в контроле до 45,9 % только после 4 недель облучения. Содержание гидроперекисей липидов и малонового диальдегида в крови у облученных крыс было выше по сравнению с контрольными животными. Концентрация гаптоглобина в сыворотке была 26,7 % в контрольной группе, 53,8 мг % после 3 недель и 47,8 мг % после 4 недель облучения.

Заключение. ЭМИ дециметрового диапазона при тотальном хроническом облучении оказывает окислительное действие на организм.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, обмен железа, перекисное окисление липидов

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Аббасова М.Т., Гаджиев А.М. Изменения показателей обмена железа в крови крыс при электромагнитном облучении в дециметровом диапазоне. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(3):274–282. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-274-282>

CHANGES IN THE PARAMETERS OF IRON METABOLISM IN RATS' BLOOD UNDER DECIMETRIC ELECTROMAGNETIC RADIATION

Abbasova M. T. *, Gadzhiev A. M.

A.I. Karaev Institute of Physiology, Azerbaijan National Academy of Sciences, AZ1100, Baku, Azerbaijan

ABSTRACT

Introduction. The intensive development of radio and electrical communications, as well as various electronic devices, leads to the electromagnetic pollution of the environment.

Aim. In this work, the authors set out to study the serum iron parameters of rats exposed to chronic electromagnetic radiation (EMR) of the decimeter range.

Materials and methods. The research was carried out on rats that were divided into experimental and control groups. The experimental group was further divided into 4 subgroups of 10 animals each, which were subsequently exposed to electromagnetic radiation at a frequency of 460 MHz (Volna-2 apparatus) for 1, 2, 3 and 4 weeks. The control group (10 rats) was exposed to pretend irradiation, with the device being turned off. The following parameters were estimated: serum iron (SI), total iron-binding capacity (TIBC) and unsaturated iron-binding capacity (UIBC) of serum, transferrin saturation (TS), as well as serum concentrations of transferrin, haptoglobin, malondialdehyde and lipid hydroperoxides.

Results. Differences in the SI concentration were found in the subgroups of animals exposed to radiation for 3 and 4 weeks ($44.1 \pm 3.1 \mu\text{mol/l}$ and $56.8 \pm 4.4 \mu\text{mol/l}$, respectively), as compared to the control group ($30.5 \pm 3.3 \mu\text{mol/l}$). In experimental animals, TIBC increased by 41 % ($p < 0.05$) — relative to the control group ($110.8 \pm 10.1 \mu\text{mol/l}$) — only following 3 weeks of irradiation ($156.2 \pm 18.2 \mu\text{mol/l}$), with a decrease in TIBC to $123.6 \pm 16.4 \mu\text{mol/l}$ being noted during the 4th week. The concentration of transferrin increased from $45.6 \pm 8.0 \mu\text{mol/l}$ (control) to $81.0 \pm 11.5 \mu\text{mol/l}$ during the 3rd week of radiation exposure, with a decrease to $55.9 \pm 6.7 \mu\text{mol/l}$ being observed during the 4th week. TS increased from 27.5 % (control) to 45.9 % only following 4 weeks of irradiation. The content of lipid hydroperoxides and malondialdehyde in the blood of irradiated rats was higher, as compared to the control animals. The serum concentration of haptoglobin amounted to 26.7 % in the control group, reaching 53.8 mg % and 47.8 mg % following 3 and 4 weeks of exposure, respectively.

Conclusion. The total chronic exposure to decimetric EMR produces an oxidising effect on organisms.

Keywords: electromagnetic radiation, iron metabolism, lipid peroxidation

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Abbasova M.T., Gadzhiev A.M. Changes in the parameters of iron metabolism in rats' blood under decimetric electromagnetic radiation. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(3):274–282 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-274-282>

Введение

Интенсивное развитие радио- и электрокоммуникаций, различных электронных устройств приводит к значительному «электромагнитному загрязнению» окружающей среды и, следовательно, влиянию на биологическую среду и на человека неионизирующего электромагнитного излучения (ЭМИ) в диапазоне микроволновых излучений, охватывающем область от 300 до 3000 МГц. В медицинских учреждениях микроволновые излучения (УВЧ, СВЧ, КВЧ) применяют в лечебных целях. С другой стороны, в обычной жизнедеятельности люди все больше подвергаются воздействию низкоинтенсивных ЭМИ от разных источников, в том числе средств сотовой связи, излучающих в дециметровом диапазоне. С каждым годом растет численность контингента людей, подвергающихся воздействию ЭМИ мобильных телефонов и обслуживающих их базовых станций. Излучения в данном диапазоне могут вызвать различные нарушения в организме, влияя на биохимические реакции [1]. Механизм действия низкоинтенсивных неионизирующих ЭМИ на живые ткани и клетки имеет окислительную природу и включает такие эффекты на молекулярном уровне, как активация генерации активных форм кислорода, активация перекисного окисления, окислительного повреждения белков, ДНК и изменение активности антиоксидантных ферментов [2].

ЭМИ способно ускорять свободнорадикальное перекисное окисление липидов. Установлено, что хроническое облучение ЭМИ дециметрового диапазона приводит к накоплению в крови крыс продукта перекисного окисления липидов — малонового диальдегида [3]. Воздействие ЭМИ уменьшает содержание в сыворотке крови таких элементов, как магний, железо и медь [4]. Железо в организме рассматривается как метаболический модулятор, играющий важную роль в регуляции обмена веществ, в процессах транспорта кислорода, тканевого дыхания, в активации и ингибировании ферментных систем. Нарушения обмена железа клинически проявляются либо дефицитом железа (анемии), либо его перегрузкой (гемохроматоз). Патогенное действие избытка железа обусловлено его способностью к образованию свободных радикалов (реакция Фентона), которые в итоге обуславливают формирование фиброза, цирроза печени. Молекулярные механизмы данных патологий детально описаны у больных с клинически сформированным гемохроматозом и доказанной перегрузкой железа [5, 6].

В литературе имеются отдельные исследования, посвященные изучению обмена железа при облучении организма неионизирующими ЭМИ. Влияние излучения, создаваемого мобильным телефоном, на содержание сывороточного железа, ферритина, ненасыщенной железосвязывающей способности сыворотки (НЖСС) и общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) изучено в экспериментальной модели на кры-

сах [7]. В этом исследовании [7] показано негативное действие ЭМИ на последние два параметра [7]. Негативное действие на содержание сывороточного ферритина обнаружено у крыс, облученных мобильным телефоном [8]. В другом исследовании [9] установлено, что содержание железа и ферритина в сыворотке крови людей, живущих вблизи высоковольтных электрических кабелей, которые создают вокруг электромагнитные поля, было относительно низким. Имеющиеся в литературе исследования, посвященные изучению влияния ЭМИ на параметры обмена железа, не позволяют сделать однозначный вывод о степени этого воздействия в силу различий как объектов исследования, так и параметров облучения (частоты, интенсивности, длительности и т. д.). В этой связи представляется актуальным подход, позволяющий исследовать динамику влияния облучения ЭМИ при длительном эксперименте с использованием конкретного объекта и источника излучения.

Целью настоящего исследования явилось изучение динамики показателей железа в сыворотке крыс, хронически облучаемых ЭМИ дециметрового диапазона.

Материалы и методы

Исследование проведено на белых крысах линии Вистар массой 250–300 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Животные были разделены на экспериментальную и контрольную группы. Экспериментальная группа подразделялась на четыре подгруппы по 10 животных в каждой, которые подвергались тотальному облучению ЭМИ в течение 1, 2, 3 и 4 недель. Для облучения использовалось дециметровое излучение (частота 460 МГц), генерируемое физиотерапевтическим аппаратом «Волна-2» (Россия). Крысы помещались в металлическую цилиндрическую камеру диаметром и высотой 20 см. Ежедневное облучение осуществлялось в течение 20 минут при плотности потока мощности 30 мкВт/см². Контрольная группа животных (10 крыс) подвергали «ложному» облучению в тех же условиях, что и экспериментальные, только при выключенном аппарате. Опыты на животных проводились в соответствии с этическими нормами, изложенными в Женевской конвенции “International Guiding principles for Biomedical Research Involving Animals”, протокол эксперимента был одобрен местным комитетом по этике экспериментов на животных (28.11.2012, протокол № 18).

Сывороточное железо (СЖ) и ОЖСС определяли с помощью набора реагентов IRON Liquicolor фирмы “Human” (Германия). В соответствии с инструкцией к набору, концентрация железа при определении СЖ измерялась непосредственно в сыворотке, а при определении ОЖСС — в супернатанте после осаждения избытка трехвалентного железа, добавленного в сыворотку для насыщения трансферрина железом.

Таблица 1. Показатели обмена железа и продуктов перекисного окисления липидов после облучения дециметровым электромагнитным излучением ($M \pm m$)**Table 1.** Parameters of iron metabolism and lipid peroxidation products following decimetric electromagnetic irradiation ($M \pm m$)

Показатели Parameters	Контрольная группа Control group (n = 10)	Экспериментальная группа Experimental group			
		1 нед. облучения 1 week of radiation exposure (n = 10)	2 нед. облучения 2 weeks of radiation exposure (n = 10)	3 нед. облучения 3 weeks of radiation exposure (n = 10)	28 дней облучения 4 weeks of radiation exposure (n = 10)
Сывороточное железо, мкмоль/л Serum iron, $\mu\text{mol/l}$	30,5 $\pm$ 3,3	36,2 $\pm$ 2,6	33,4 $\pm$ 2,9	44,1 $\pm$ 3,1	56,8 $\pm$ 4,4
p		>0,05	>0,05	<0,05	<0,01
ОЖСС, мкмоль/л Total iron-binding capacity, $\mu\text{mol/l}$	110,8 $\pm$ 10,1	120,7 $\pm$ 4,5	111,7 $\pm$ 2,8	156,2 $\pm$ 18,2	123,6 $\pm$ 16,4
p		>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
НЖСС, мкмоль/л Unsaturated iron-binding capacity, $\mu\text{mol/l}$	80,3 $\pm$ 6,7	84,5 $\pm$ 6,9	78,3 $\pm$ 5,8	112,1 $\pm$ 19,4	66,8 $\pm$ 5,9
p		>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
Трансферрин, мкмоль/л Transferrin, $\mu\text{mol/l}$	45,6 $\pm$ 8,0	53,6 $\pm$ 5,3	46,4 $\pm$ 2,3	81,0 $\pm$ 11,5	55,9 $\pm$ 6,7
p		>0,05	>0,05	<0,01	<0,05
НТЖ, % Transferrin saturation, %	27,5 $\pm$ 3,2	30,0 $\pm$ 3,5	29,9 $\pm$ 3,3	28,2 $\pm$ 3,4	45,9 $\pm$ 5,1
p		>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
Гаптоглобин, мг % Haptoglobin, mg%	26,7 $\pm$ 2,8	31,5 $\pm$ 3,0	33,5 $\pm$ 6,5	53,8 $\pm$ 10,3	47,8 $\pm$ 1,6
p		>0,05	>0,05	<0,01	<0,01
МДА, мкмоль/л Malondialdehyde, $\mu\text{mol/l}$	7,7 $\pm$ 0,8	15,1 $\pm$ 1,1	9,8 $\pm$ 1,2	9,4 $\pm$ 0,9	9,1 $\pm$ 0,8
p		<0,001	<0,05	<0,05	<0,05
Гидроперекиси липидов, усл.ед. Lipid hydroperoxides, arb. unit	0,83 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,08	0,81 $\pm$ 0,06	2,4 $\pm$ 1,0	2,1 $\pm$ 0,44
p		<0,05	>0,05	<0,05	<0,01

Примечание. Достоверность различий **p** — между контрольной и опытными группами животных.

Note. Statistical significance **p** between the control and experimental animal groups.

НЖСС вычисляли по разнице ОЖСС и СЖ в единицах мкмоль/л. Насыщение трансферрина железом (НТЖ) рассчитывали как отношение концентрации СЖ к ОЖСС, выраженное в процентах. Концентрацию трансферрина в сыворотке оценивали по уровню ОЖСС по следующей формуле:

$$0,8 \times \text{ОЖСС} - 43.$$

Содержание малонового диальдегида (МДА) исследовали по методу Л.И. Андреевой и соавт. [10], гидроперекисей липидов (ГПЛ) — по методу А.М. Горячковского [11].

Содержание гаптоглобина в сыворотке определяли по методу, описанному в работе З.Я. Прохуровской и Б.Ф. Мовшовича [12]. Принцип метода заключается в том, что после добавления к сыворотке определенного количества гемоглобина образующийся комплекс гемоглобин-гаптоглобин осаждается риванолом, избыток гемоглобина определяли спектрофотометрически [13].

Статистический анализ. Нормальность распределения выборок проверялась с помощью теста Шапиро — Уилка, уровень достоверности различий показателей в экспериментальной и контрольной группах оценивался по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты

Результаты исследований показателей железа, гаптоглобина и перекисного окисления липидов в крови у крыс в экспериментальной и контрольной группах приведены в таблице 1. Достоверные различия концентраций СЖ по сравнению с показателями контрольной группы (30,5 $\pm$ 3,3 мкмоль/л) обнаружены в подгруппах животных, облученных в течение 3 и 4 недель (44,1 $\pm$ 3,1 и 56,8 $\pm$ 4,4 мкмоль/л соответственно). По сравнению с контрольной группой у животных, облученных в течение 3 недель, концентрация СЖ была больше на 44,6 % ($p < 0,05$), у животных, облученных в течение 4 недель, — на 86,2 % ($p < 0,01$), при этом концентра-

ция СЖ была значимо больше при облучении в течение 4 недель, чем 3 недель ($p < 0,05$). ОЖСС у опытных животных увеличилась на 41 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой ($110,8 \pm 10,1$ мкмоль/л) только после 3-недельного облучения ($156,2 \pm 18,2$ мкмоль/л). При облучении в течение 4 недель отмечено уменьшение ОЖСС до $123,6 \pm 16,4$ мкмоль/л, отличия от контрольной группы были статистически незначимы.

Изменения ненасыщенной части железосвязывающей способности сыворотки в течение 4-недельного облучения были схожи с изменениями ОЖСС, с той лишь разницей, что уменьшение НЖСС за 4 недели облучения по отношению к 3 неделям облучения оказалось более существенным, а НЖСС стало достоверно ниже (на 17 %, $p < 0,05$), чем у контрольных животных.

Концентрация трансферрина значимо повысилась с $45,6 \pm 8,0$ мкмоль/л в контрольной группе до $81,0 \pm 11,5$ мкмоль/л на 3-й неделе облучения. Облучение в течение 4 недель приводило к уменьшению концентрации трансферрина до $55,9 \pm 6,7$ мкмоль/л, что, однако, оставалось больше, чем в контроле, на 23 % ($p < 0,05$).

Несмотря на увеличение концентрации СЖ и ОЖСС, показатель НТЖ статистически значимо увеличился с 27,5 % в контрольной группе до 45,9 % только после 4 недель облучения, то есть стал на 67 % больше. При более кратковременном облучении НТЖ превышало значения в контрольной группе всего на 30 %, что характерно для нормального состояния обмена железа. При сравнении показателей железа сыворотки после последних двух недель облучения установлено, что повышенное НТЖ имело место при относительно низких показателях как трансферрина, так и ОЖСС и НЖСС. Это обычно встречается в случаях избыточного содержания железа в организме, на что указывает и высокое СЖ после продолжительного воздействия ЭМИ.

Учитывая существенную роль ионов железа в образовании активных форм кислорода и возникновении окислительного стресса в клетках, исследовали содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови у крыс. Как показано в таблице 1, содержание гидроперекисей липидов и малонового диальдегида в крови у облученных крыс было повышено по сравнению с контрольными животными. Это повышение было наиболее выражено после недели облучения. Концентрация малонового диальдегида после 1-й недели облучения возрастала примерно в два раза по сравнению с этим показателем у контрольных животных. В последующие сроки облучения концентрация малонового диальдегида была в среднем на 22 % выше контрольных значений. Концентрация гидроперекисей липидов неравномерно, но в целом достоверно увеличивалась по сравнению с контролем. После 3 и 4 недель облучения концентрация гидроперекисей липидов увеличивалась более чем 1,5 раза. Повышение концентраций продуктов перекисного окисления липидов может быть обусловлено как усилением

окислительной дегградации мембран эритроцитов, так и поступлением этих продуктов из других органов с повышенной скоростью образования активных форм кислорода при участии ионов железа.

Гаптоглобин, образуя комплекс с гемоглобином, высвобождаясь из разрушенных эритроцитов, непосредственно участвует в регуляции обмена железа в сыворотке и вовлечен в регуляцию процессов перекисного окисления липидов в качестве антиоксиданта. Концентрация гаптоглобина в сыворотке крови увеличилась до 53,8 мг % после 3 недель облучения и до 47,8 мг % после 4 недель облучения. Увеличение концентрации гаптоглобина по сравнению с концентрацией гаптоглобина в контрольной группе (26,7 мг %) составило соответственно 101 % ($p < 0,01$) и 79 % ($p < 0,01$).

Обсуждение

Железо — функционально необходимый элемент метаболизма, играющий важнейшую роль в окислительно-восстановительных процессах эритропоэза, тканевом дыхании и ряде биохимических реакций. Для определения дисбаланса железа имеет значение насыщение железом трансферрина, увеличение которого характерно для раннего внутрисосудистого гемолиза. Из трансферрина железо может высвобождаться под действием восстановителей и при закислении среды, а освободившиеся ионы способны катализировать реакции перекисного окисления липидов [13].

Н.И. Рябченко и соавт. [14] показали, что повышение в сыворотке крови облученных крыс содержания перекисных окислительных эквивалентов и концентрации ионов железа создает условия для протекания реакции Фентона, приводящей к повышению концентрации гидроксильного радикала ОН, способного к индуцированию дополнительных повреждений ядерных и мембранных структур облученных клеток.

Повышенный уровень продуктов перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид и гидроперекиси липидов) в крови у крыс, подвергшихся ЭМИ дециметрового диапазона, свидетельствует об окислительном действии данного вида неионизирующего излучения. I. Yakumenko и соавт. [2] приводят многочисленные данные *in vitro* и *in vivo* экспериментов о том, что низкоинтенсивное излучение радиочастотного диапазона, в частности в диапазоне частот, генерируемых мобильными телефонами, вызывает окислительный стресс в различных органах и тканях, в том числе в крови. Увеличение содержания сывороточного железа может быть результатом гемолиза эритроцитов вследствие окислительного стресса, вызванного облучением. Повышение содержания малонового диальдегида и активности каталазы в плазме и форменных элементах крови под действием излучения мобильного телефона и физиотерапевтического аппарата было показано в ряде работ [15, 16].

Наблюдаемое в настоящем исследовании одновременное повышение ОЖСС и НЖСС при облучении

животных в течение 3 недель указывает на увеличение концентрации трансферрина в сыворотке. Положительная корреляция между величинами НЖСС и трансферрина показана при определенных патологиях, течение которых сопровождается анемией и изменением показателей, характеризующих метаболизм железа [17].

При умеренном повышении содержания СЖ после 3 недель облучения и увеличении концентрации трансферрина НТЖ (28,2 %) не отличалось значимо от такового в контрольной группе. НТЖ достоверно повышалось до ~46 % у животных, облученных в течение 4 недель, причем на фоне роста СЖ и при значительном снижении ОЖСС, НЖСС и содержания трансферрина. Уменьшение ОЖСС после 4 недель облучения по сравнению с 3 неделями облучения, сопровождавшееся повышением концентрации СЖ, по-видимому, связано с потерей железосвязывающей способности части трансферрина под влиянием окислительного стресса, вызванного микроволновым облучением. Характеризуемый усилением перекисного окисления липидов в крови окислительный стресс может стать и причиной гемолиза эритроцитов, в результате которого содержание ионов железа в плазме повышается. Последнее при меньшем содержании функционального трансферрина обуславливает больший уровень НТЖ.

Если уменьшение концентрации гаптоглобина в сыворотке является чувствительным маркером внутрисосудистого гемолиза, то повышение сывороточной концентрации гаптоглобина указывает на стимулируемый воспалительным процессом синтез посредством цитокинов. Причем повышение сывороточной концентрации гаптоглобина может наблюдаться не сразу, а через несколько дней после стимуляции. Модулирующее действие микроволнового излучения на продукцию цитокинов (как провоспалительных, так и противовоспалительных) фагоцитирующими клетками крови показано в *in vitro* исследованиях [18]. Повышенные значения провоспалительных показателей (общее количество лейкоцитов, содержание интерлейкина-6) показаны в экспериментах *in vivo*, в которых проводилось длительное облучение крыс [19]. Повышение концентрации гаптоглобина в сыворотке в настоящем исследовании при 3-недельном облучении животных, по-видимому, указывает на возможное провоспалительное действие облучения. С учетом того что увеличение сывороточной концентрации гаптоглобина происходит на фоне усиления перекисного окисления липидов в сыворотке крови, оно может рассматриваться как компенсаторный антиоксидантный «вклад» гаптоглобина, обладающего значительной пероксидазной активностью. Уменьшение сывороточной концентрации гаптоглобина при дальнейшем облучении животных, по-видимому, обусловлено внутрисосудистым гемолизом с выходом в кровь гемоглобина, который связывается гаптоглобином.

Низкая, практически равная таковому у необлученных крыс, степень насыщения железом при относительно высоком по отношению к контролю СЖ после 3 недель облучения может быть обусловлена ферритином, являющимся основным депо железа, и церулоплазмином, осуществляющим окисление двухвалентного железа до Fe^{3+} , чтобы оно могло связаться с апотрансферрином с последующим образованием функционального трансферрина. Об уменьшении концентрации сывороточного ферритина под действием микроволнового излучения у экспериментальных животных и человека было сообщено в некоторых работах [7, 8]. Снижение активности церулоплазмينا в крови крыс, облученных при относительно высокой интенсивности ЭМИ (460 МГц, условия облучения аналогичны условиям данного эксперимента), наблюдалось в нашей ранней работе [20]. Нарушения процессов образования трансферрина и накопления железа в ферритине могут быть причиной низкой насыщаемости сывороточных белков железом при повышенном содержании железа, возможно, за счет гемолиза эритроцитов.

В литературе имеются данные, указывающие на то, что электромагнитные поля влияют на параметры обмена железа в сыворотке крови. Однако практически все эти исследования проводились при различных значениях экспозиции и длительности всего эксперимента, причем среди них совсем немного работ, касающихся непосредственно изучения влияния на трансферрин. D.M. Djordjević и соавт. [21] показали, что у крыс сывороточная концентрация трансферрина повышается под действием статического магнитного поля с напряженностью 16 мТл в течение 28 дней. В двух других работах [22, 23] сообщается об увеличении концентрации трансферрина в сыворотке крови у крыс при действии статического магнитного поля с большей напряженностью (128 мТл) и при более короткой экспозиции — от 5 до 15 дней. Хотя в этих же исследованиях была показана противоположная направленность изменений содержания сывороточного железа. В длительном 10-недельном эксперименте, в котором для облучения крыс использовали излучение мобильного телефона с частотой 900 МГц, причем как в режиме разговора, так и в режиме ожидания, было показано значительное уменьшение НЖСС, которое положительно коррелировало с концентрацией трансферрина сыворотки [7]. В данном случае снижению НЖСС сопутствовало также снижение ОЖСС при неизменном содержании сывороточного железа.

Выявленное в настоящем исследовании уменьшение концентрации трансферрина сыворотки на фоне уменьшения ОЖСС, НЖСС после 4 недель облучения крыс ЭМИ 460 МГц по сравнению с 3 неделями облучения напоминает изменения в упомянутой выше работе [7]. Эти изменения свидетельствуют о том, что на обмен железа влияют как параметры самого ЭМИ, так и длительность облучения. Длительное хро-

ническое облучение, вызывая окислительный стресс, может привести к повреждению печени, в которой синтезируется трансферрин, что и является причиной уменьшения НЖСС и ОЖСС. Связь облучения и синтеза трансферрина могли бы подтвердить исследования, изучающие гистопатологические изменения, возникающие в печени под действием ЭМИ. Однако такие исследования не проводились, хотя интенсификация процессов перекисного окисления липидов и окислительная модификация белков в различных органах, в том числе и печени, под влиянием микроволнового облучения всего тела доказаны в экспериментах [24–26].

Почти 50 %-ное насыщение трансферрина железом на фоне увеличения концентрации СЖ и уменьшения ОЖСС, наблюдавшееся у крыс после 4 недель облучения, по-видимому, связано с повышенным содержанием ферритина, экспрессия которого могла быть вызвана избытком железа в предшествующий период облучения. Повышение содержания ферритина в сыворотке крыс, подверженных длительному (до 5 месяцев) хроническому облучению мобильным телефоном, наблюдалось в другой работе [19]. Одновременное определение сывороточного гепсидина, общего количества лейкоцитов и интерлейкина-6 показало повы-

шенные значения этих провоспалительных показателей [19]. Исследования показателей обмена железа при различных заболеваниях печени [27], лейкозах [28] и других онкологических заболеваниях [17], при которых имеются сопутствующие воспалительные процессы, обнаруживают повышение содержания ферритина в сыворотке на фоне снижения концентрации трансферрина и ОЖСС.

Полученные результаты свидетельствуют, что хроническое облучение крыс дециметровыми микроволнами при относительно высокой интенсивности (плотность потока мощности более 30 мкВт/см²) приводит к изменениям показателей железа в сыворотке крови, которые затрагивают активности системы перекисного окисления липидов и функцию белков, участвующих в обмене железа.

Таким образом, получены экспериментальные данные подтверждающие способность неионизирующего ЭМИ дециметрового диапазона оказывать окислительное действие на организм в условиях тотального хронического облучения. По изменению содержания трансферрина и других параметров обмена железа в сыворотке крови можно судить о степени воздействия неионизирующего ЭМИ на организм, а также о функциональном состоянии системы гомеостаза железа.

Литература

1. Григорьев Ю.Г. От электромагнитного смога до электромагнитного хаоса. К оценке опасности мобильной связи для здоровья населения. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2018; (3): 28–32. DOI: 10.12737/article_5b168a752d92b1.01176625.
2. Yakymenko I., Tsybulin O., Sidorik E. et al. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. Electromagn. Biol. Med. 2016; 35(2): 186–202.
3. Abbasova M.T., Gadzhiev A.M. Study of Changes of Protein Carbonyl Content and Lipid Peroxidation Product in Blood of Rats Exposed to Decimeter Electromagnetic Radiation (460MHz). Int. Sci. J. Med. Biol. Sci. <http://bioscience.scientific-journal.com>.
4. Burchard J.F., Nguyen D.H., Block E. Macro- and trace element concentrations in blood plasma and cerebrospinal fluid of dairy cows exposed to electric and magnetic fields. Bioelectromagnetics. 1999; 20: 358–64.
5. Ganz T. Molecular control of iron transport. J. Am. Soc. Nephrol. 2007; 18(2): 394–400.
6. Gilles A. Iron's ups and downs. Rev. Med. Brux. 2013; 34(4): 328–34.
7. Chetkin M., Demirel C., Kizilkan N. et al. Evaluation of the mobile phone electromagnetic radiation on serum iron parameters in rats. Afri Health Sci. 2017; 17(1): 186–90.
8. Fattahi-Asl J., Baradaran-Ghahfarokhi M., Karbalae M. et al. Diagnostic performance of the human serum ferritin level decreased due to mobile phone exposure. J. Res Med Sci. 2013; 18(1): 84.
9. Hachulla E., Caulier-Leleu M.T., Fontaine O. et al. Pseudo-iron deficiency in a French population living near high-voltage transmission lines: a dilemma for clinicians. Eur J Intern Med. 2000; 11: 351–2.
10. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кашкун А.Л. Модификации метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Лабораторное дело. 1988; (11): 41–3.

References

1. Grigoriev Yu.G. From Electromagnetic Smog to Electromagnetic Chaos. To Evaluating the Hazards of Mobile Communication for Health of the Population. Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'. 2018; (3): 28–32. DOI: 10.12737/article_5b168a752d92b1.01176625 (In Russian).
2. Yakymenko I., Tsybulin O., Sidorik E. et al. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. Electromagn. Biol. Med. 2016; 35(2): 186–202.
3. Abbasova M.T., Gadzhiev A.M. Study of Changes of Protein Carbonyl Content and Lipid Peroxidation Product in Blood of Rats Exposed to Decimeter Electromagnetic Radiation (460MHz). Int. Sci. J. Med. Biol. Sci. <http://bioscience.scientific-journal.com>.
4. Burchard J.F., Nguyen D.H., Block E. Macro- and trace element concentrations in blood plasma and cerebrospinal fluid of dairy cows exposed to electric and magnetic fields. Bioelectromagnetics. 1999; 20: 358–64.
5. Ganz T. Molecular control of iron transport. J. Am. Soc. Nephrol. 2007; 18(2): 394–400.
6. Gilles A. Iron's ups and downs. Rev. Med. Brux. 2013; 34(4): 328–34.
7. Chetkin M., Demirel C., Kizilkan N. et al. Evaluation of the mobile phone electromagnetic radiation on serum iron parameters in rats. Afri Health Sci. 2017; 17(1): 186–90.
8. Fattahi-Asl J., Baradaran-Ghahfarokhi M., Karbalae M. et al. Diagnostic performance of the human serum ferritin level decreased due to mobile phone exposure. J. Res Med Sci. 2013; 18(1): 84.
9. Hachulla E., Caulier-Leleu M.T., Fontaine O. et al. Pseudo-iron deficiency in a French population living near high-voltage transmission lines: a dilemma for clinicians. Eur J Intern Med. 2000; 11: 351–2.
10. Andreeva LI, Kozhemiakin LA, Kishkun AA. Modification of the method of determining lipid peroxidation in a test using thiobarbituric acid. Laboratornoe delo. 1988; (11): 41–3 (In Russian).

11. Горячковский А.М. Клиническая биохимия. Одесса: Астропринт, 1998. 603 с.
12. Прохуровская З.Я., Мовшович В.Л. Исследование гаптоглобина. Лабораторное дело. 1972; 6: 333–5.
13. Орлов Ю.П., Долгих В.Т. Метаболизм железа в биологических системах (биохимические, патофизиологические и клинические аспекты). Биомедицинская химия. 2007; 53(1): 25–38.
14. Рябченко Н.И., Иванник Б.П., Рябченко В.И., Дзиковская Л.А. Влияние ионизирующего излучения, введения ионов железа и их хелатных комплексов на окислительный статус сыворотки крови крыс. Радиационная биология. Радиоэкология. 2011; 51(2): 229–32.
15. Lewicka M., Henrykowska G., Pacholski K. et al. The Impact of Electromagnetic Radiation of Different Parameters on Platelet Oxygen Metabolism – In Vitro Studies. Adv. Clin. Exp. Med. 2015; 24: 31–5.
16. Meral I., Mert H., Mert N. et al. Effects of 900-MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on brain oxidative stress and some vitamin levels of guinea pigs. Brain Res. 2007; 1169: 120–4.
17. Горошинская И.А., Касаткин В.Ф., Тарнопольская О.В. и др. Изменения показателей обмена железа в крови больных раком желудка. Хирургия. 2015; (3): 29–34. DOI: 10.17116/hirurgia2015529-34
18. Бондарь С.С., Терехов И.В. Продукция цитокинов и активность фагоцитирующих клеток цельной крови в условиях субклинического воспаления и их коррекция в эксперименте. Международный научно-исследовательский журнал. 2016; 46(4): 52–7. DOI: 10.18454/IJR.2016.46.296
19. El-Maleky N.F., Ebrahim R.H. Effects of exposure to electromagnetic field from mobile phone on serum hepcidin and iron status in male albino rats. Electromagn Biol Med. 2019; 38(1): 66–73. DOI: 10.1080/15368378.2018.1531423
20. Аббасова М.Т., Гаджиев А.М. Изучение активности церулоплазмينا в крови у крыс при окислительном действии электромагнитного излучения дециметрового диапазона. Материалы XXIII съезда физиологического общества им. И.П. Павлова. Воронеж. 2017; 836–38.
21. Djordjevic D.M., De Luka S.R., Milovanovich I.D. et al. Hematological changes in mice subchronically exposed to static magnetic fields of different orientations. Ecotoxicol Environ Saf. 2012; 81: 98–105.
22. Elferchichi M., Abdelmelek H., Sakly M. Effects of sub-acute exposure to static magnetic field on iron status and hematopoiesis in rats. Turk J. Hematol. 2007; 24: 64–8.
23. El-Seweidy M.M., Asker M.E., Ali S.I., Atteia H.H. Effect of prolonged intake of iron enriched diet on testicular functions of experimental rats. Naturel Science. 2010; 2: 551–556.
24. Boder P., Stankiewicz W., Antkowiak B. et al. Influence of electromagnetic field (1800 MHz) on lipid peroxidation in brain, blood, liver and kidney in rats. Int. J. Occup. Med. Environ. Health. 2015; 28(4): 751–59.
25. Chetin H., Naziroglu M., Chelik O. et al. Liver antioxidant stores protect the brain from electromagnetic radiation (900 and 1800 MHz -induced oxidative stress in rats during pregnancy and the development of offspring. J Matern Fetal Neonatal Med. 2014; 27(18): 1915–21.
26. Ragy M.M. Effect of exposure and withdrawal of 900-MHz-electromagnetic waves on brain, kidney and liver oxidative stress and some biochemical parameters in male rats. Electromagn Biol Med. 2015; 34(4): 279–84. DOI: 10.3109/15368378.2014.906446
27. Полякова С.И., Анушенко А.О., Баканов М.И., Смирнов И.Е. Анализ и интерпретация показателей обмена железа при разных формах патологии у детей. Российский педиатрический журнал. 2014; (3): 17–23.
28. Сависько А.А., Лагутеева Н.Е., Теплякова Е.Д., Шестопалов А.В. Роль нарушения метаболизма железа в нарушении ритма и проводимости у детей с острым лимфобластным лейкозом. Медицинский вестник Юга России. 2015; (3): 95–100. DOI: 10.21886/2219-8075-2015-3-95-100
11. Goryachkovskiy A.M. Clinical biochemistry. Odessa. Astroprint. 1998. 603 p.
12. Prokhurovskaya Z.Ya., Movshovich V.L. Method and diagnostic significance of determining haptoglobin. Laboratornoe delo. 1972; (6): 333–35 (In Russian).
13. Orlov Yu. P. Dolgich V.T. Iron metabolism in biological systems (biochemical, pathophysiological and clinical perspectives. Biomeditsinskaya Khimiya. 2007; 53 (1): 25–38 (In Russian).
14. Ryabchenko N.I., Ivannik B.P., Ryabchenko V.I., Dzikovskaya L.A. Influence of ionizing radiation, application of iron ions and their chelate complexes on the oxidative status of blood serum of rats. Radiatsionnaya Biologiya, Radioekologiya. 2011; 51(2): 229–32 (In Russian).
15. Lewicka M., Henrykowska G., Pacholski K. et al. The Impact of Electromagnetic Radiation of Different Parameters on Platelet Oxygen Metabolism – In Vitro Studies. Adv. Clin. Exp. Med. 2015; 24: 31–5.
16. Meral I., Mert H., Mert N. et al. Effects of 900-MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on brain oxidative stress and some vitamin levels of guinea pigs. Brain Res. 2007; 1169: 120–4.
17. Goroshinskaya I.A., Kasatkin V.F., Tarnopol'skaya O.V. et al. Blood iron metabolism in patients with stomach cancer. Khirurgiya. 2015; (3): 29–34. DOI: 10.17116/hirurgia2015529-34 (In Russian).
18. Bondar S.S., Terekhov I.V. The production of cytokines and the activity of phagocytic cells in whole blood under conditions of inflammation subclinical and their correction in the experiment. Int Res J. 2016; 46(4): 52–7. DOI: 10.18454/IJR.2016.46.296 (In Russian).
19. El-Maleky N.F., Ebrahim R.H. Effects of exposure to electromagnetic field from mobile phone on serum hepcidin and iron status in male albino rats. Electromagn Biol Med. 2019; 38(1): 66–73. DOI: 10.1080/15368378.2018.1531423
20. Abbasova M.T., Gadzhiev A.M. Study of ceruloplasmin activity in blood of Rats Exposed to Decimeter Electromagnetic Radiation. The materials of the XXIII congress of I.P. Pavlov Physiology society. Voronezh. 2017; 836–38 (In Russian).
21. Djordjevic D.M., De Luka S.R., Milovanovich I.D. et al. Hematological changes in mice subchronically exposed to static magnetic fields of different orientations. Ecotoxicol Environ Saf. 2012; 81: 98–105.
22. Elferchichi M., Abdelmelek H., Sakly M. Effects of sub-acute exposure to static magnetic field on iron status and hematopoiesis in rats. Turk J. Hematol. 2007; 24: 64–8.
23. El-Seweidy M.M., Asker M.E., Ali S.I., Atteia H.H. Effect of prolonged intake of iron enriched diet on testicular functions of experimental rats. Naturel Science. 2010; 2: 551–6.
24. Boder P., Stankiewicz W., Antkowiak B. et al. Influence of electromagnetic field (1800 MHz) on lipid peroxidation in brain, blood, liver and kidney in rats. Int. J. Occup. Med. Environ. Health. 2015; 28(4): 751–59.
25. Chetin H., Naziroglu M., Chelik O. et al. Liver antioxidant stores protect the brain from electromagnetic radiation (900 and 1800 MHz -induced oxidative stress in rats during pregnancy and the development of offspring. J Matern Fetal Neonatal Med. 2014; 27(18): 1915–21.
26. Ragy M.M. Effect of exposure and withdrawal of 900-MHz-electromagnetic waves on brain, kidney and liver oxidative stress and some biochemical parameters in male rats. Electromagn Biol Med. 2015; 34(4): 279–84. DOI: 10.3109/15368378.2014.906446
27. Polyakova S.I., Anushenko A. O., Bakanov M.I., Smirnov I.E. Analysis and interpretation of indices of iron metabolism in various forms of pathology in children. Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal. 2014; (3): 17–23 (In Russian).
28. Savisko A.A., Laguteeva N.E., Teplyakova E.D., Shestopalov A.V. Role of impaired iron metabolism in the development of disorders of rhythm and conduction in children with acute lymphoblastic leukemia. Medical Herald of the South of Russia. 2015; (3): 95–100 DOI: 10.21886/2219-8075-2015-3-95-100 (In Russian).

Информация об авторах

Аббасова Мушкуназ Тахир гызы*, кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Лаборатории клеточной физиологии, Институт физиологии им. академика Абдуллы Караева НАН Азербайджана, e-mail: biokimya_65@mail.ru; AZ1100, г. Баку, ул. Шарифзаде, 78.

Гаджиев Ахмед Магомед оглы, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий Лабораторией клеточной физиологии, Институт физиологии им. академика Абдуллы Караева НАН Азербайджана, e-mail: ahmed.hajiyev@yahoo.com

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 10.02.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Information about the authors

Mushkunaz T. Abbasova*, Cand. Sci. (Biol.), Ass. Prof., Leading Researcher, Laboratory for Cell Physiology, A.I. Karaev Institute of Physiology, Azerbaijan National Academy of Sciences, e-mail: biokimya_65@mail.ru; AZ1100, Baku, Sharifzadeh str., 78.

Ahmed M. Gadzhiev, Dr. Sci. (Phys.-Math.), Prof., Head of the Laboratory for Cell Physiology, A.I. Karaev Institute of Physiology, Azerbaijan National Academy of Sciences, e-mail: ahmed.hajiyev@yahoo.com

*** Corresponding author**

Received 10 Feb 2019

Accepted 12 Sep 2019

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФУНКЦИИ ПОЧЕК У БОЛЬНЫХ ВПЕРВЫЕ ДИАГНОСТИРОВАННОЙ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ, ОСЛОЖНЕННОЙ ТЯЖЕЛОЙ И ДИАЛИЗ-ЗАВИСИМОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Семочкин С. В.^{1,2,*}, Желнова Е. И.¹, Мисюрин Е. Н.¹, Марьин Д. С.¹, Ушакова А. И.¹, Каримова Е. А.¹, Барях Е. А.¹, Толстых Т. Н.¹, Маврина Е. С.¹, Юрова Е. В.², Черкасова А. В.¹, Гришина Е. Ю.¹, Гаглоева Д. Э.¹, Яцков К. В.¹, Котенко О. Н.¹, Лысенко М. А.¹

¹ГБУЗ «Городская клиническая больница № 52» ДЗМ, 123182, Москва, Россия

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Поражение почек в дебюте множественной миеломы (ММ) имеет место у 20–40 % больных, что в 2–4 % случаев требует начала проведения заместительной почечной терапии. Ухудшение функции почек ассоциируется с высоким риском ранней смерти, частыми осложнениями и ухудшением качества жизни.

Цель представленной работы — анализ лечения больных впервые диагностированной ММ, осложненной тяжелой и диализ-зависимой почечной недостаточностью.

Материалы и методы. В ретроспективное исследование (11.2014–11.2017) включено 62 больных ММ со скоростью клубочковой фильтрации <30 мл/мин/1,73 м². Критерии включения — концентрация свободных легких цепей в сыворотке крови >500 мг/л и селективный характер протеинурии. Критерий исключения — диагностированный AL-амилоидоз. В зависимости от необходимости проведения гемодиализа больные были разделены на две группы: (I) не нуждающиеся в нём (n = 16) и (II) диализ-зависимые больные (n = 46).

Результаты. В индукции использовали бортезомиб-содержащие программы: VCD — 41 (66,1 %), PAD — 2 (3,2 %), VD — 12 (19,4 %) и VMP — 7 (11,3 %). Высокодозная консолидация с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток реализована у 10 (16,1 %) больных. Частота общего противомиеломного ответа по группам составила 64,3 и 85,3 % (p = 0,047), включая полные и строгие полные ремиссии в 14,3 и 14,7 % случаев. Почечного ответа достигли 57,2 и 23,5 % (p = 0,032) больных. При медиане наблюдения 32,1 мес. по всей когорте медиана выживаемости без прогрессирования (ВБП) составила 14,5 мес., 3-летняя ВБП — 27,4 ± 6,6 %, медиана общей выживаемости (ОВ) — 33,6 мес. и 3-летняя ОВ — 41,5 ± 7,7 %. Различий между группами сравнения по показателям выживаемости нет. По выборке оцененных больных (n = 48) достижение любого почечного ответа ассоциировалось с улучшением показателей 3-летней ВБП 61,1 ± 11,5 % против 17,7 ± 7,7 % (p = 0,045), ОВ 72,2 ± 10,6 % против 38,1 ± 10,4 % (p = 0,069). Предиктором почечного ответа оказалось время, прошедшее между первой процедурой гемодиализа и стартом противомиеломной химиотерапии. В группе больных, достигших почечного ответа, среднее время составило 8,6 (95 % доверительный интервал 3,5–13,7) дня против 42,5 (12,6–72,5) дня больных без ответа (p = 0,045).

Заключение. Применение схем на основе бортезомиба обеспечивает высокую частоту противоопухолевых ответов с вероятностью прекратить диализ у 23,5 % зависимых больных. К возможным причинам низкой частоты почечного ответа можно отнести позднюю диагностику ММ как причины поражения почек и отсутствие доступа к новым противомиеломным препаратам в случае необходимости смены индукционной терапии.

Ключевые слова: множественная миелома, почечная недостаточность, миеломная нефропатия, бортезомиб, дексаметазон, гемодиализ, почечный ответ

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Семочкин С.В., Желнова Е.И., Мисюрин Е.Н., Марьин Д.С., Ушакова А.И., Каримова Е.А., Барях Е.А., Толстых Т.Н., Маврина Е.С., Юрова Е.В., Черкасова А.В., Гришина Е.Ю., Гаглоева Д.Э., Яцков К.В., Котенко О.Н., Лысенко М.А. Клиническое значение восстановления функции почек у больных впервые диагностированной множественной миеломой, осложненной тяжелой и диализ-зависимой почечной недостаточностью. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(3):283–296. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-283-296>

CLINICAL IMPORTANCE OF RENAL RECOVER ON OUTCOMES OF NEWLY DIAGNOSED MULTIPLE MYELOMA PATIENTS WITH SEVERE AND DIALYSIS-DEPENDENT KIDNEY FAILURE

Semochkin S. V.^{1,2,*}, Zhelnova E. I.¹, Misyurina E. N.¹, Maryin D. S.¹, Ushakova A. I.¹, Karimova E. A.¹, Baryakh E. A.¹, Tolstykh T. N.¹, Mavrina E. S.¹, Yurova E. V.², Cherkasova A. V.¹, Grishina E. Yu.¹, Gagloeva D. E.¹, Yatskov K. V.¹, Kotenko O. N.¹, Lysenko M. A.¹

¹Moscow City Hospital #52, 123182, Moscow, Russian Federation

²Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Kidney damage at the onset of multiple myeloma (MM) is observed in 20–40 % of patients, which requires renal replacement therapy in 2–4 % of cases. Deterioration in kidney function is associated with frequent complications and a decline in the quality of life, as well as carries a high risk of early death.

Aim. To analyze the treatment of patients first diagnosed with MM, complicated by severe and dialysis-dependent renal failure.

Materials and methods. 62 MM patients with a glomerular filtration rate of $<30 \text{ ml/min /1.73 m}^2$ participated in a retrospective study (11.2014–11.2017) with the following inclusion criteria: the concentration of free light chains in blood serum being $>500 \text{ mg/l}$ and the selective nature of proteinuria. Diagnosed AL-amyloidosis served as the exclusion criterion. Depending on the need for haemodialysis, patients were divided into two groups: (I) those not requiring it ($n = 16$) and (II) dialysis-dependent patients ($n = 46$).

Results. The induction therapy included the following bortezomib-containing regimens: VCD — 41 (66.1 %), PAD — 2 (3.2 %), VD — 12 (19.4 %) and VMP — 7 (11.3 %). High-dose consolidation along with autologous hematopoietic stem cell transplantation was performed in 10 patients (16.1 %). The overall rate of anti-myeloma response in the groups came to 64.3 % (I) and 85.3 % (II) ($p = 0.047$), including complete and strong complete remissions in 14.3 % (I) and 14.7 % (II) of cases. The renal response was achieved by 57.2 % and 23.5 % ($p = 0.032$) of patients from the first and second groups, respectively. With a median follow-up of 32.1 months, throughout the entire cohort the median of progression-free survival (PFS) amounted to 14.5 months, with a 3-year PFS of $27.4 \pm 6.6 \%$; whereas the median of overall survival (OS) came to 33.6 months, with a 3-year OS of $41.5 \pm 7.7 \%$. There are no differences between the compared groups in terms of the survival rates. In the examined patients ($n = 48$), the achievement of any renal response was associated with an improvement in the 3-year PFS — $61.1 \pm 11.5 \%$ versus $17.7 \pm 7.7 \%$ ($p = 0.045$) — and 3-year OS — $72.2 \pm 10.6 \%$ versus $38.1 \pm 10.4 \%$ ($p = 0.069$). The time elapsed between the first haemodialysis procedure and the onset of anti-myeloma chemotherapy served as the predictor value of the renal response. In the group of patients who achieved a renal response, the average time came to 8.6 (95 % confidence interval of 3.5–13.7) days, as compared to 42.5 (12.6–72.5) days for patients without a renal response ($p = 0.045$).

Conclusion. The use of bortezomib-based regimens provides a high frequency of antitumour responses with a probability of stopping dialysis in 23.5 % of dialysis-dependent patients. Possible reasons for the low frequency of renal response include the late diagnosis of MM as a cause of kidney damage, as well as the lack of access to new anti-myeloma drugs if the induction therapy needs to be changed.

Keywords: multiple myeloma, renal failure, myeloma nephropathy, bortezomib, dexamethasone, dialysis, renal response

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Semochkin S.V., Zhelnova E.I., Misyurina E.N., Maryin D.S., Ushakova A.I., Karimova E.A., Baryakh E.A., Tolstykh T.N., Mavrina E.S., Yurova E.V., Cherkasova A.V., Grishina E.Yu., Gagleova D.E., Yatskov K.V., Kotenko O.N., Lysenko M.A. Clinical importance of renal recover on outcomes of newly diagnosed multiple myeloma patients with severe and dialysis-dependent kidney failure. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(3):283–296 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-283-296>

Введение

Почечная недостаточность (ПН) представляет собой жизнеугрожающее и достаточно частое осложнение симптоматической множественной миеломы (ММ). Ухудшение функции почек имеет место у 20–40 % больных впервые диагностированной ММ, которая в 2–4 % случаев может манифестировать с тяжелого острого повреждения почек (ОПП), требующего проведения заместительной почечной терапии [1]. Кроме того, ПН может развиваться еще у четверти больных уже на этапе рецидивирующей и рефрактерной ММ у которых исходно подобной проблемы не было [2]. Поражение почек при ММ ассоциируется с высоким риском ранней смерти, частыми госпитализациями вследствие осложнений, обусловленных центральным венозным катетером, инфекций, белковых и электролитных нарушений, с ухудшением качества жизни и удорожанием лечения [3, 4].

Чаще всего ОПП при ММ является следствием избыточной продукции миеломными клетками свободных легких цепей (СЛЦ) моноклонального иммуноглобулина, превышающей способности клеток канальцев их реабсорбировать и катаболизировать. Усиленный эндоцитоз СЛЦ клетками проксимальных канальцев приводит к активации в них сигнальных каскадов NF- κ B и MAPK, секреции провоспалительных цитокинов (IL-6, CCL2, IL-8 и TGF β) и, в итоге, к развитию интерстициального фиброза и гибели перегруженных белком клеток [5]. Нерабсорбированные СЛЦ соединяются с белком Тамма–Хорсфалла, образуя в просвете канальцев восковидные цилиндры (“cast” нефропатия) [6]. Развитие восходящей обструкции на фоне усиливающегося фиброза и прогрессивной гибели клеток проксимальных канальцев со временем приводит к формированию необратимой хронической болезни почек (ХБП) [5, 6].

Современная химиотерапия позволяет в части случаев восстановить функцию почек, что ассоциируется с улучшением общей выживаемости (ОВ) таких больных. В силу очевидных обстоятельств больных с тяжелым повреждением почек, как правило, исклю-

чают из клинических исследований, поэтому данные по эффективности терапии с помощью новых режимов в этой ситуации отсутствуют. Текущие рекомендации фактически основаны на опыте небольших исследований или ретроспективном анализе серии клинических наблюдений. Чаще всего для лечения больных впервые диагностированной ММ, осложненной умеренной и тяжелой ПН, используются триплеты на основе комбинации ингибитора протеасомы бортезомиба и дексаметазона [1]. Данные в отношении диализ-зависимых больных носят ограниченный характер. Эффективность высокоселективных мембран (high cut-off) для гемодиализа, способных задерживать легкие цепи иммуноглобулинов, вызывает сомнения [7, 8]. Таким образом, оптимальная терапия обсуждаемой категории больных очевидным образом нуждается в уточнении.

Целью работы явился анализ лечения больных впервые диагностированной ММ, осложненной тяжелой и диализ-зависимой ПН с помощью бортезомиб-содержащих программ.

Больные и методы

В ретроспективное исследование, проведенное в период с ноября 2014 г. по ноябрь 2017 г., было включено 62 больных тяжелой ПН со скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) <30 мл/мин/1,73 м². Для расчета СКФ использовали формулу CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) [9]. Условием включения больного в представленный анализ была концентрация вовлеченной СЛЦ в сыворотке крови >500 мг/л и селективный характер протеинурии (альбумин <25 %), что при отсутствии других очевидных причин позволяет предполагать “cast” нефропатию. В качестве критерия исключения рассматривался диагностированный на любом этапе ведения AL-амилоидоз любой анатомической локализации. Для целей последующего анализа больные были разделены на две группы: (I) которым не требовалось проведение гемодиализа ($n = 16$) и (II) которым заместительная почечная терапия была необходима ($n = 46$).

Больные получали индукционную противомиеломную химиотерапию и заместительную почечную терапию в условиях ГБУЗ ГКБ №52 ДЗМ (г. Москва). Обеспечивалась сходная сопроводительная терапия и проведение индукции с помощью бортезомиб-содержащих программ. В работе использовались стандартные высокопоточные гемодиализаторы с модифицированными полисульфоновыми мембранами площадью 1,5–2,0 м².

Инициальный сбор данных включал сведения анамнеза, результаты физикального осмотра, определение стандартных лабораторных параметров, включая концентрацию β_2 -микроглобулина, общего белка и белковых фракций крови, иммунохимическое исследование белков сыворотки крови и мочи, СЛЦ сыворотки крови, кальция и креатинина крови, стандартное рентгенологическое обследование костной системы, а при наличии показаний — компьютерную томографию или магнитно-резонансную томографию костей и мягких тканей и биопсию костного мозга. Молекулярно-генетическое исследование выполнено по костному мозгу с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization — FISH) зондов к t(4;14), t(14;16), del(17p) и +1q21 у 18 (29,0 %) больных. Данные по нежелательным явлениям выбраны из первичной медицинской документации и ограничены первыми 4 циклами индукции. События классифицировали в соответствии с общими критериями токсичности NCI (версия 4.0) [10].

Для оценки почечного ответа использовали критерии Международной рабочей группы по множественной миеломе (International Myeloma Working Group, IMWG) 2010 г. [1]. Полный почечный ответ (ППО) диагностировали при значительном увеличении СКФ по сравнению с базовым уровнем до >60 мл/мин/1,73 м²; частичный почечный ответ (ЧПО) — как увеличение СКФ с <15 до 30–50 мл/мин/1,73 м² и минимальный почечный ответ (МПО) в случае улучшения базовой СКФ с <15 до 15–29 мл/мин/1,73 м² или, если исходное значение составляло 15–29 мл/мин/1,73 м², то улучшение до 30–59 мл/мин/1,73 м². Любой почечный ответ предусматривал отсутствие зависимости от гемодиализа. Противоопухолевый ответ оценивали по стандартным критериям IMWG 2006 г. [11].

Статистический анализ. Количественные переменные, если не указано специально, представлены в статье как среднее с 95 % доверительным интервалом (ДИ) среднего. Оценку значимости различий между качественными характеристиками выборки выполняли с помощью непараметрического теста хи-квадрат Пирсона. Общую выживаемость (ОВ) оценивали от даты начала терапии до даты смерти или последнего контакта с больным. Выживаемость без прогрессирования (ВБ) рассчитывали от момента начала противомиеломной терапии до прогрессирования ММ или смерти от любой причины. Сравнение показателей

выживаемости между группами проводили с помощью теста log rank. Показатели выживаемости рассчитаны с помощью метода Каплана—Мейера по состоянию на 01.07.2019. Поиск потенциальных прогностических факторов в отношении вероятности достижения почечного ответа проводили с помощью дисперсионного анализа (Analysis of Variance, ANOVA). Равенство дисперсий между группами оценивали с помощью *F*-критерия Ливиня. Для проверки нулевой гипотезы, отсутствия значимости отдельных предикторов ответа использовали непараметрический критерий согласия Колмогорова — Смирнова. Для статистического анализа использовано программное обеспечение IBM SPSS v23.

Результаты

Инициальные характеристики больных представлены в таблице 1.

Медиана возраста больных составила 62 года (разброс 42–78 лет). Старше 65 лет был 21 (33,9 %) больной. Тридцать четыре больных (54,8 %) были лицами мужского пола. Группы сравнения по демографическим показателям не различались.

В когорте диализ-зависимых больных (группа II) средняя СКФ была значимо ниже — 6,0 (95 % доверительный интервал (ДИ) 4,4–7,6) мл/мин/1,73 м², чем у независимых (группа I) — 22,2 (95 % ДИ 16,4–29,2) мл/мин/1,73 м² ($p < 0,001$), а секреция СЛЦ в сыворотке крови выше — 7400 (95 % ДИ 3440–10840) против 2900 (95 % ДИ 780–5020) мг/л ($p < 0,001$). Средняя величина экскреции белка с мочой составила 2,7 (95 % ДИ 1,7–3,8) г/сутки без различия между группами. Секреция каппа СЛЦ имела место в 40 (64,6 %) случаях, лямбда — 18 (29,0 %). Средняя концентрация β_2 -микроглобулина в сыворотке крови составила 17,6 (95 % ДИ 14,8–20,4) мг/л также без отличий по группам.

Гиперкальциемия имела место в 8 случаях (12,9 %). Остеодеструктивный синдром подтвержден у 42 больных (71,2 %). Почти у всех больных наблюдалась анемия — 55 (88,7 %) со средним значением концентрации гемоглобина 82 (95 % ДИ 77–86) г/л. Миелома высоко-го цитогенетического риска верифицирована при исследовании трети исследованных аспиратов костного мозга. Большинство больных имели клинически значимую кардиологическую патологию — 38 (61,3 %), включая ишемическую болезнь сердца — 22 (35,5 %) и артериальную гипертензию — 28 (45,2 %). Существенных различий между группами сравнения по вышеперечисленным параметрам не было.

Сведения по особенностям проведения первой линии терапии ММ представлены в таблице 2. Среднее время от момента диагностики повреждения почек до начала противомиеломной терапии в группе I составило 45,7 (95 % ДИ 2,7–88,7) дня против 93,4 (95 % ДИ 41,7–145,1) дня в группе II ($p = 0,004$). В качестве индукции программу VD (бортезомиб, дексаметазон)

Таблица 1. Инициальные характеристики больных впервые диагностированной ММ
Table 1. Baseline characteristics of the patients with newly diagnosed multiple myeloma

Параметры Parameters	Группа I Group I (n = 16)	Группа II Group II (n = 46)	Всего All patients (n = 62)
Медиана возраста (разброс), лет Median age (range), years	62 (42–76)	62 (46–78)	62 (42–78)
старше 65 лет >65 years	5 (31,3 %)	16 (34,8 %)	21 (33,9 %)
Мужской пол, n (%) Male sex, n (%)	7 (43,8 %)	27 (58,7 %)	34 (54,8 %)
Скорость клубочковой фильтрации (СКД-EPI)*, мл/мин/1,73 м² Glomerular filtration rate (CKD-EPI), ml/min/1.73 m ²	22,8 (16,4–29,2)	6,0 (4,4–7,6)**	10,5 (7,8–13,2)
Креатинин крови*, мкмоль/л Blood creatinine*, μmol/l	273 (195–351)	902 (782–1021)**	734 (619–849)
Стадия по ISS: ISS stage:			
II, n (%)	3 (18,7 %)	0 (0 %)	3 (4,8 %)
III, n (%)	12 (75,0 %)	39 (84,8 %)	51 (82,3 %)
Неизвестно, n (%) Unknown, n (%)	1 (6,3 %)	7 (15,2 %)	8 (12,9 %)
Зависимость от диализа, n (%) Dialysis dependence, n (%)	0 (0 %)	46 (100 %)	46 (74,2 %)
Свободные легкие цепи (СЛЦ)*: Free light chains (FLC)*:			
кровь, мг/л blood, mg/l	2900 (780–5020)	7400 (3440–10840)	5600 (2290–8910)
моча, г/сутки urine, g/24 hours	3,7 (0,7–6,6)	2,4 (1,5–3,3)	2,7 (1,7–3,8)
Тип секретируемой ЛЦ: Type of FLC:			
лямбда, n (%) lambda, n (%)	5 (31,2 %)	13 (28,3 %)	18 (29,0 %)
каппа, n (%) kappa, n (%)	11 (68,8 %)	29 (63,0 %)	40 (64,6 %)
лямбда и каппа, n (%) lambda and kappa, n (%)	0 (0 %)	1 (2,2 %)	1 (1,6 %)
неизвестно, n (%) unknown, n (%)	0 (0 %)	3 (6,5 %)	3 (4,8 %)
β₂-микроглобулин сыворотки крови*, мг/л Serum β ₂ -microglobulin*, mg/l	19,3 (10,5–28,1)	16,8 (15,1–18,4)	17,6 (14,8–20,4)
Кальций крови >2,65 ммоль/л Serum calcium >2.65 mmol/l	2 (12,5 %)	6 (13,0 %)	8 (12,9 %)
Гемоглобин*, г/л Hemoglobin*, g/l	88 (82–95)	79 (72–85)	82 (77–86)
<100 г/л <100 g/l	14 (87,5 %)	41 (89,1 %)	55 (88,7 %)
Остеодеструктивный синдром: Bone lesions:			
экстрамедуллярные плазмочитомы extramedullary plasmocytoma	0 (0 %)	3 (6,8 %)	3 (5,1 %)
плазмочитомы кости bone plasmacytoma	3 (18,8 %)	5 (11,1 %)	8 (13,1 %)
Группа высокого цитогенетического риска (n = 18)*** High cytogenetic risk group (n = 18)***	2 (33,3 %) из 6	4 (33,3 %) из 12	6 (33,3 %) из 18

Продолжение таблицы 1 на с. 288

Параметры Parameters	Группа I Group I (n = 16)	Группа II Group II (n = 46)	Всего All patients (n = 62)
Сопутствующая кардиопатология, n (%): <i>Concomitant cardiopathology, n (%):</i>	10 (62,5 %)	28 (60,9 %)	38 (61,3 %)
ишемическая болезнь сердца, n (%): <i>coronary artery disease (CAD), n (%):</i>	3 (18,8 %)	19 (41,3 %)	22 (35,5 %)
хроническая сердечная недостаточность (≥2 NY), n (%): <i>congestive heart failure (≥2 NY), n (%):</i>	2 (12,5 %)	9 (19,6 %)	11 (17,7 %)
нарушения ритма, n (%): <i>arrhythmia, n (%):</i>	1 (6,3 %)	7 (15,2 %)	8 (12,9 %)
артериальная гипертензия, n (%): <i>arterial hypertension, n (%):</i>	9 (56,3 %)	19 (41,3 %)	28 (45,2 %)

Примечание. * — данные представлены как среднее (95 % доверительный интервал для среднего значения); ** — $p < 0,001$; *** $t(4;14)$, $t(14;16)$, $del(17p)$ и/или $+1q21$.

Note. *data are presented as mean (95 % Confidence Interval); ** $p < 0.001$; *** $t(4;14)$, $t(14;16)$, $del(17p)$ and/or $+1q21$; CKD-EPI — Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration.

получили 12 (19,4 %), VCD (VD плюс циклофосфамид) — 41 (66,1 %), PAD (VD плюс доксорубин) — 2 (3,2 %) и VMP (бортезомиб, мелфалан, преднизолон) — 7 (11,3 %) больных.

Смена индукционной терапии на программу VRD (VD плюс леналидомид) и BBD (VD плюс бендамустин) ввиду неэффективности стартовой комбинации потребовалась в 8 (12,9 %) и 1 (1,6 %) случаях соответственно. Высокодозную терапию с последующей трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) удалось реализовать у 10 (16,1 %) больных, включая 3 случая тандемных трансплантаций. Индукционная летальность за первые 60 дней терапии составила 9,7 %. Выбыли из исследования за первые 6 мес. вследствие смерти либо по причине чрезмерной токсичности (ранний перевод на низкоинтенсивное поддерживающее лечение) — 2 (12,5 %) и 12 (26,1 %) больных I и II групп. В результате их исключения ответ на терапию оценен у 14 (87,5 %) и 34 (73,9 %) больных в соответствующих группах сравнения.

Данные по ответу на противомиеломную терапию представлены на рисунке 1. Частота общего ответа (≥ЧР, частичная ремиссия) была ниже в группе больных, независимых от гемодиализа — 64,3 %, по сравнению с зависимыми — 85,3 % ($p = 0,047$). Полной ремиссии (ПР) и строгой ПР (сПР) достигли 14,3 и 14,7 % больных, как минимум очень хорошей частичной ремиссии (≥ОХЧР) — 42,9 и 58,8 % соответственно.

В общей сложности почечного ответа в процессе индукционной терапии достигли 16 (33,3 %) человек (табл. 3). Среди субъектов, исходно независимых от гемодиализа (группа I), почечный ответ был получен у 8 (57,1 %) больных, включая 28,6 % ППО, 7,1 % ЧПО и 21,4 % МПО. В результате проведения индукционной химиотерапии стали независимыми от гемодиализа 8 (23,5 %) больных группы II, достигнув ППО — 2,9 %, ЧПО — 8,8 % и МПО — 11,8 %. В це-

лом частота ответов в группе больных, нуждавшихся в гемодиализе, была ниже, чем в группе не нуждавшихся в заместительной почечной терапии (23,5 % против 57,1 %; $p = 0,032$). В более поздние сроки наблюдения МПО достигли еще 2 больных из группы II. У первого ответ был зарегистрирован после реализации высокодозной химиотерапии и ауто-ТГСК, а у второго — в процессе проведения второй линии терапии с помощью комбинации леналидомида и дексаметазона через 16 мес. от старта первой линии. Таким образом, в общей сложности независимыми от гемодиализа стали 10 (29,4 %) из 34 оцененных больных группы II.

Анализ клинически значимых нежелательных явлений, развившихся на протяжении первых 4 циклов химиотерапии, представлен в таблице 4. Гематологическая токсичность, включая нейтропению и тромбоцитопению 4 ст., имела место в 11,3 и 17,7 % случаев

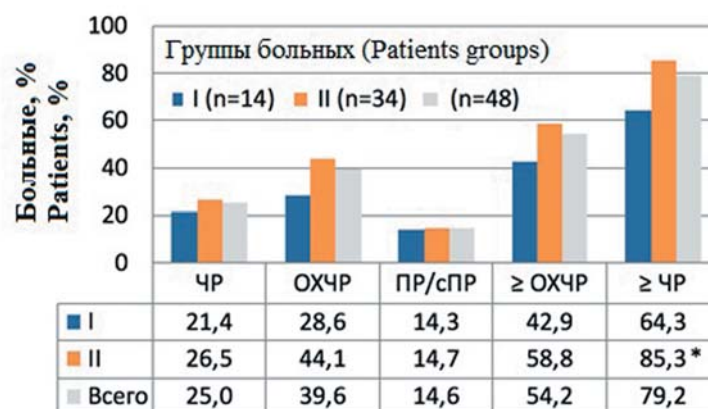


Рисунок 1. Лучший противомиеломный ответ на первую линию терапии

Примечание. * — $p = 0,047$; ЧР — частичная ремиссия, ОХЧР — очень хорошая частичная ремиссия, ПР — полная ремиссия и сПР — строгая полная ремиссия.

Figure 1. Best confirmed myeloma response on the first line therapy

Note. * — $p = 0.047$; PR — partial response, VGPR — very good partial response, CR — complete response and sCR — strong complete response.

Таблица 2. Сведения по индукционной терапии множественной миеломы
Table 2. Information on induction therapy of multiple myeloma

Параметры Parameters	Группа I Group I (n = 16)	Группа II Group II (n = 46)	Всего All patients (n = 62)
Период набора больных Patient recruitment period	11.2014–10.2017	12.2014–11.2017	11.2014–11.2017
Медиана времени от диагностики ПН до начала химиотерапии ММ (разброс), дней Median time from the diagnosis of renal failure to the beginning of MM chemotherapy (range), days	21 (1–287)	39 (1–940)	25 (1–940)
Медиана времени от 1-й процедуры гемодиализа до начала химиотерапии ММ (разброс), дней Median time from the first hemodialysis procedure to the start of MM chemotherapy (range), days	–	12 (1–318)	12 (1–318)
Индукционная терапия: Induction therapy:			
VCD, n (%)	12 (75,0 %)	29 (63,0 %)	41 (66,1 %)
PAD, n (%)	0 (0 %)	2 (4,3 %)	2 (3,2 %)
VD, n (%)	2 (12,5 %)	10 (21,7 %)	12 (19,4 %)
VMP, n (%)	2 (12,5 %)	5 (10,9 %)	7 (11,3 %)
Смена индукционного режима в случае недостаточного ответа, n (%): Change of induction therapy in case of insufficient response, n (%):			
VRD, n (%)	3 (18,8 %)	5 (10,9 %)	8 (12,9 %)
BBD, n (%)	0 (0 %)	1 (2,2 %)	1 (1,6 %)
Медиана количества циклов индукционной терапии (разброс) Median number of cycles of induction therapy (range)	4 (1–6)	5 (1–8)	5 (1–8)
Высокодозная химиотерапия и ауто-ТГСК, n (%) High dose chemotherapy and auto-HSCT, n (%)	2 (12,5 %)	8 (17,4 %)	10 (16,1 %)
Поддерживающая терапия: Maintenance:			
бортезомиб (монотерапия), n (%) bortezomib (monotherapy), n (%)	5 (31,3 %)	19 (41,3 %)	24 (38,7 %)
леналидомид (монотерапия), n (%) lenalidomide (monotherapy), n (%)	2 (12,5 %)	5 (10,9 %)	7 (11,3 %)
схема МР, n (%) protocol MP, n (%)	3 (18,8 %)	8 (17,4 %)	11 (17,7 %)
Индукционная летальность (первые 60 дней), n (%) Induction mortality (first 60 days), n (%)	0 (0 %)	6 (13,0 %)	6 (9,7 %)
Выбыли из исследования в пределах первых 6 мес. (не оценен ответ на терапию), n (%) Excluded from the study within the first 6 mon. (response not evaluated), n (%)	2 (12,5 %)	12 (26,1 %)	14 (22,6 %)

соответственно, без различий между группами. Частота инфекционных осложнений была выше в группе диализ-зависимых больных, включая случаи фебрильной нейтропении (4,3 % против 0 %), пневмонии (28,3 % против 6,3 %), сепсиса (13,0 % против 0 %) и клостридиального энтероколита (13,0 % против 0 %). Тромботические осложнения имели место исключительно у диализ-зависимых больных, включая тромбозы артериовенозной фистулы (7,1 % против 0 %) и подключичной вены (4,3 % против 0 %). Острые психические нарушения возникли у двух больных каждой группы, что не позволило в дальнейшем проводить исходно назначенную терапию. Вторая первичная злокачественная опухоль (аденокарцинома толстого кишечника)

была диагностирована у одного больного группы II при сроке наблюдения 1,5 мес.

При медиане наблюдения за выжившими больными 32,1 мес. по всей группе медиана ВБП составила 14,5 мес., 3-летняя ВБП — $27,4 \pm 6,6$ %. Статистически значимых различий по показателям ВБП между группами сравнения не получено (рис. 2). Медиана ВБП составила 11,9 и 15,0 мес. для I и II группы соответственно, а 3-летняя ВБП — $26,7 \pm 11,4$ и $30,5 \pm 7,5$ % ($p = 0,568$). Наилучшие показатели 3-летней ВБП получены для больных, достигших ПР или лучшего ответа, — $57,1 \pm 15,7$ % и ОХЧР — $52,6 \pm 11,5$ %.

Медиана ОВ по всем больным составила 33,6 мес., 3-летняя ОВ — $41,5 \pm 7,7$ %. Различий между груп-

Таблица 3. Лучший почечный ответ на индукционную противомиеломную терапию**Table 3.** Best confirmed renal response on induction therapy of multiple myeloma

Параметры Parameters	Группа I Group I (n = 16)	Группа II Group II (n = 46)	Всего All patients (n = 62)
Оценено больных, n (%) Patients evaluated, n (%)	14 (100 %)	34 (100 %)	48 (100 %)
ППО, n (%) CRrenal, n (%)	4 (28,6 %)	1 (2,9 %)	5 (10,4 %)
ЧПО, n (%) PRrenal, n (%)	1 (7,1 %)	3 (8,8 %)	4 (8,3 %)
МПО, n (%) MRrenal, n (%)	3 (21,4 %)	4 (11,8 %)	7 (14,6 %)
Общий почечный ответ (≥МПО), n (%) Overall renal response (≥MRrenal), n (%)	8 (57,1 %)	8 (23,5 %)*	16 (33,3 %)**

Примечание. * — $p < 0,05$; ППО — полный, ЧПО — частичный и МПО — минимальный почечный ответ; ** — дополнительно 2 (4,2 %) больных достигли МПО в поздние сроки.

Note. * — $p < 0.05$; CRrenal — complete, PR — partial, and MPR — minimal renal response; ** — additionally, 2 (4.2 %) patients achieved a late MPRrenal.

Таблица 4. Клинически значимая гематологическая и негематологическая токсичность индукционной терапии ММ (циклы 1–4)**Table 4.** Clinical significantly hematological and non-hematological toxicities following induction therapy of multiple myeloma (cycles 1–4)

Параметры Parameters	Группа I Group I (n = 16)	Группа II Group II (n = 46)	Всего All patients (n = 62)
Нейтропения (4 ст.), n (%) Neutropenia (Gr. 4), n (%)	2 (12,5 %)	5 (10,9 %)	7 (11,3 %)
Тромбоцитопения (4 ст.), n (%) Thrombocytopenia (Gr. 4), n (%)	3 (18,8 %)	8 (17,4 %)	11 (17,7 %)
Фебрильная нейтропения, n (%) Febrile neutropenia, n (%)	0 (0 %)	2 (4,3 %)	2 (3,2 %)
Пневмония, n (%) Pneumonia, n (%)	1 (6,3 %)	13 (28,3 %)	14 (22,6 %)
Сепсис, n (%) Sepsis, n (%)	0 (0 %)	6 (13,0 %)	6 (9,7 %)
Инфекция <i>Clostridium difficile</i> , n (%) <i>Clostridium difficile</i> infection, n (%)	0 (0 %)	6 (13,0 %)	6 (9,7 %)
Энтеропатия, ассоциированная с применением бортезомиба, n (%) <i>Herpes zoster</i> , n (%)	3 (18,8 %) 2 (12,5 %)	3 (6,5 %) 3 (6,5 %)	6 (9,7 %) 3 (4,8 %)
Тромбоз артериовенозной фистулы, n (%) Thrombosis of arteriovenous fistulas, n (%)	-	5 (7,1 %)	5 (8,1 %)
Тромбоз подключичной вены, n (%) Subclavian vein thrombosis, n (%)	0 (0 %)	2 (4,3 %)	2 (3,2 %)
Нарушения ритма, n (%) Arrhythmia, n (%)	0 (0 %)	2 (4,3 %)	2 (3,2 %)
Декомпенсация хронической сердечной недостаточности, n (%) Decompensated heart failure, n (%)	2 (12,5 %)	2 (4,3 %)	4 (6,5 %)
Периферическая нейропатия (2–3 ст.), n (%) Peripheral neuropathy (Gr. 2–3), n (%)	4 (25,0 %)	4 (8,7 %)	8 (12,9 %)
Острые психические нарушения, n (%) Acute mental disorders, n (%)	2 (12,5 %)	2 (6,5 %)	4 (6,5 %)

пами сравнения также не выявлено (рис. 3). Медиана ОВ в обеих группах составила 33,6 мес., показатели 30 мес. ОВ — $52,5 \pm 13,5$ и $42,3 \pm 8,3$ % соответственно. По состоянию на момент проведения настоящего анализа умерло в общей сложности 7 (43,8 %) и 22 (47,8 %)

больных из двух групп. Причинами смерти в группе I была непосредственно прогрессия ММ — 5 (31,3 %) и инфекционные осложнения, связанные с противоопухолевой терапией — 2 (12,5 %). В группе II вследствие прогрессии ММ умерло 11 (23,9 %), инфекций —

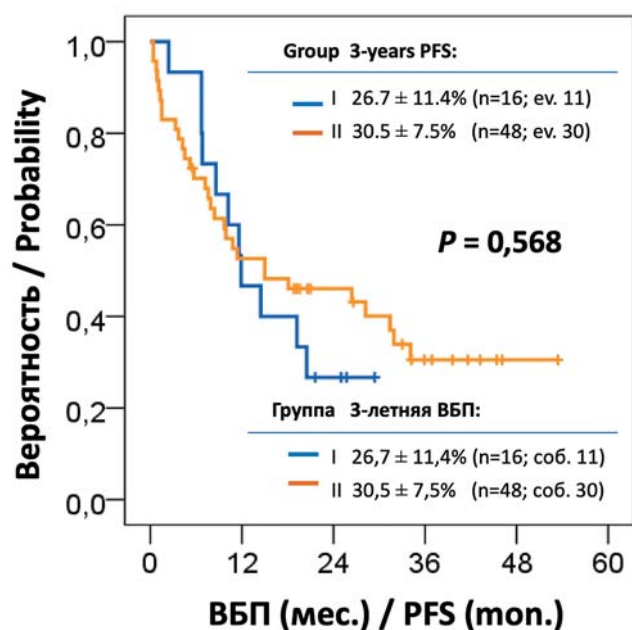


Рисунок 2. Выживаемость без прогрессирования (ВБП) больных с впервые диагностированной ММ, осложненной тяжелой ПН

Figure 2. Progression free survival (PFS) for patients with newly diagnosed multiple myeloma complicated by severe kidney failure

8 (17,4 %), сердечно-сосудистых и тромботических осложнений — соответственно 1 (2,2 %) и 2 (4,3 %) больных.

По всей выборке оцененных больных ($n = 48$) достижение любого почечного ответа ассоциировалось с существенным улучшением показателей 3-летней ВБП $61,1 \pm 11,5\%$ против $17,7 \pm 7,7\%$ ($p = 0,045$), медиана ВБП при текущем сроке наблюдения в когорте больных с почечным ответом не была достигнута против 11,4 мес.

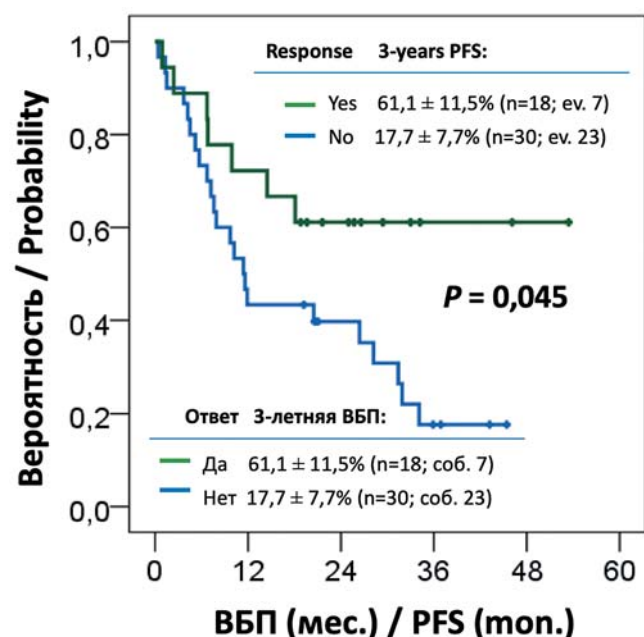


Рисунок 4. Выживаемость без прогрессирования (ВБП) в соответствии с почечным ответом

Figure 4. Progression free survival (PFS) according to renal response

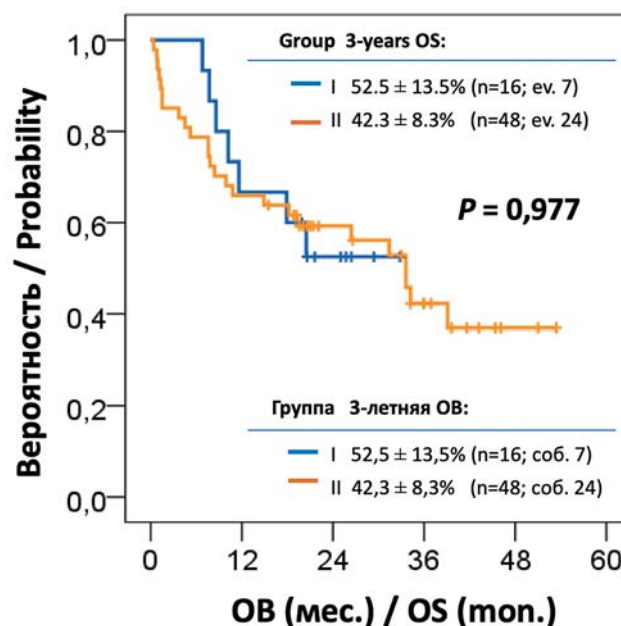


Рисунок 3. Общая выживаемость (ОВ) с впервые диагностированной ММ, осложненной тяжелой ПН

Figure 3. Overall survival (OS) for patients with newly diagnosed multiple myeloma complicated by severe kidney failure

для больных без такового (рис. 4). Для диализ-зависимых больных ($n = 34$) достижение независимости от гемодиализа также улучшало показатели выживаемости: 3-летняя ВБП $57,2 \pm 10,1\%$ против $14,3 \pm 13,2\%$ ($p = 0,028$) и медиана ВБП 31,6 против 6,2 мес. В отношении ОВ достоверных различий не выявлено, но прослеживалась сходно направленная тенденция: 3-летняя ОВ $72,2 \pm 10,6\%$ против $38,1 \pm 10,4\%$ ($p = 0,069$).

Единственным предиктором почечного ответа, идентифицированным в настоящем исследовании, оказалось время, прошедшее между первой процедурой гемодиализа и стартом противомиеломной химиотерапии. В группе больных, достигших почечного ответа, в условиях однофакторного дисперсионного анализа среднее время составило 8,6 (95 % ДИ 3,5–13,7) дня против 42,5 (95 % ДИ 12,6–72,5) дня ($p = 0,038$ для F -критерия Ливеня; $p = 0,045$ для критерия Колмогорова — Смирнова). Ни один из других исследованных параметров, включая время от появления первых признаков ПН до начала химиотерапии, демографические показатели, СКФ, концентрацию СЛЦ и β_2 -микроглобулина в сыворотке крови, вариант конкретной бортезомиб-содержащей схемы, отдельные симптомы ММ (анемия, остеодеструкция), стадию по ISS и глубину противомиеломного ответа (ЧР или $\geq$ ОХЧР), не влияли на вероятность восстановления функции почек.

Обсуждение

Миеломная нефропатия потенциально обратима, что определяет важность ранней диагностики и незамедлительного начала системной противоопухолевой

терапии [1]. На протяжении индукционной химиотерапии важны все компоненты сопроводительной терапии, включая коррекцию гиперкальциемии, адекватную гидратацию, заместительную терапию препаратами крови и фармакологический контроль системы гемостаза [12].

Цель противоопухолевой терапии в случае миеломной “cast” нефропатии заключается в том, чтобы максимально быстро прервать секрецию СЛЦ [1, 12]. Отсрочки в инициации терапии резко снижают вероятность восстановления функции почек. Высокие дозы дексаметазона очень быстро подавляют секрецию СЛЦ, что особенно важно в неотложных ситуациях [13]. Наиболее изученным у больных ММ, осложненной тяжелой ПН, является ингибитор протеазы первого поколения бортезомиб [14]. В одном из ранних исследований [15] было показано, что схема PAD (бортезомиб, доксорубин, дексаметазон) позволяет получить у больных ($n = 68$) впервые диагностированной ММ, осложненной ОПП, противомиеломный ответ в 72 % и почечный ответ в 62 % случаев. Сравнение индукционных режимов PAD и VAD (винкристин, доксорубин, дексаметазон) с последующей высокодозной терапией и ауто-ТГСК было целью рандомизированного исследования III фазы NOVON-65/GMMG-HD4 ($n = 746$). Подгрупповой анализ показал очевидное преимущество схемы PAD по сравнению с VAD как в отношении 3-летней ВВП (48 % против 16 %; $p = 0,004$), так и ОВ (74 % против 34 %; $p < 0,001$) у больных с почечной недостаточностью (креатинин ≥ 2 мг/дл) [16]. Процитированные работы подтверждают, что миеломную “cast” нефропатию оптимально лечить «триплетами», содержащими бортезомиб и дексаметазон, а в качестве третьего агента в указанных исследованиях использовать доксорубин, преимущество которого заключается в отсутствии необходимости коррекции доз при любой степени тяжести ПН [15, 16].

Менее токсичной альтернативой доксорубину является циклофосфамид (схема VCD). В немецком рандомизированном исследовании MM5 ($n = 504$) было показано, что VCD эффективнее PAD как в отношении большей частоты $\geq$ ОХЧР (37,0 % против 34,3 %; $p = 0,001$), так и меньшего риска прогрессии ММ (0,4 % против 4,8 %; $p = 0,003$) и более благоприятного профиля нежелательных явлений [17]. В исследовании Греческой миеломной группы [18] 83 больных с впервые диагностированной ММ, осложненной тяжелой ПН (СКФ < 30 мл/мин/1,73 м²), включая 31 (37 %) с диализ-зависимой формой заболевания, получали различные бортезомиб-содержащие комбинации, в том числе VCD в 45 % случаев. В соответствии с критериями IMWG почечного ответа в целом достигли 65 % больных, включая 48 % в диализ-зависимой группе [18]. В нашем исследовании в сходной

по характеристикам когорте больных на бортезомиб-содержащей терапии (VCD — 66 %) почечного ответа достигли 33,3 % больных по всей группе и 23,5 % среди диализ-зависимых больных. По данным НМИЦ гематологии Минздрава России, из 40 больных впервые диагностированной ММ, осложненной диализ-зависимой ПН, на бортезомиб-основанной индукции (VCD — 38 %) достигли почечного ответа 26 % больных [19]. В работе исследователей из МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского на терапии RVP (леналидомид, бортезомиб, преднизолон) независимо от гемодиализа достигли 2 (22 %) из 9 больных *de novo* ММ [20]. Назначение леналидомида требует редукции дозы препарата в соответствии с текущей СКФ [21]. Помалидомид представляет собой противоопухолевый иммуномодулятор третьего поколения в несколько раз превышающий по биологической активности леналидомид [22]. В исследовании MM-013 у больных с рецидивирующей и рефрактерной ММ было показано, что фармакокинетика помалидомида в дозе 4 мг/день в комбинации с дексаметазоном не различалась у больных при любой степени тяжести ПН, включая ситуацию с заместительной почечной терапией [23]. Комбинация PVd (помалидомид, бортезомиб, дексаметазон) может быть прекрасной альтернативой у больных ПН [24]. Тяжелая ПН не является препятствием для выполнения ауто-ТГСК, а её выполнение несет очевидную пользу в отношении показателей выживаемости [25].

По данным Греческой группы [18], предиктором неудачи достижения почечного ответа была инициальная концентрация СЛЦ в сыворотке крови ≥ 11550 мг/л, а достижение противомиеломного ответа ($\geq$ ЧР) в пределах первого месяца терапии, наоборот, было благоприятным прогностическим фактором. В работе авторов из НМИЦ гематологии [19] благоприятными предикторами почечного ответа были минимальная выраженность тубулоинтерстициального фиброза в нефробиоптате и противоопухолевый ответ в пределах первых 2 мес. терапии. Вероятность почечного ответа в настоящем исследовании была существенно выше в случае быстрого начала противоопухолевой терапии (8,6 против 42,5 дня; $p = 0,045$). Большинство больных в силу исходной симптоматики на первичном этапе обращаются к терапевтам или нефрологам, и закономерным образом диагностика и лечение ММ начинались с определенной задержкой, что снижало конечную эффективность лечения.

Достижение почечного ответа, по всей видимости, коррелирует с лучшей выживаемостью. В настоящем исследовании для диализ-зависимых больных с почечным ответом медиана ВВП составила 31,6 против 6,2 мес. ($p = 0,028$) для сохранивших зависимость от гемодиализа. По нашим ранее опубликованным данным [26], факторами неблагоприятного прогноза у боль-

ных ММ, осложненной диализ-зависимой ПН, были уровень NT-proBNP в сыворотке крови >7000 пг/мл (2-летняя ВБП 0 ± 0 % против $60,0 \pm 18,2$ %; $p = 0,001$) и суточный диурез на момент начала химиотерапии <925 мл/сут. ($11,4 \pm 10,7$ % против $37,5 \pm 16,1$ %). В одном из сообщений Греческой миеломной группы [27] достижение почечного ответа у больных с диализ-зависимой ПН ассоциировалось с лучшей медианой ОВ (63 против 22 мес.; $p = 0,002$). Для больных с противоопухолевым ответом, но без почечного ответа, медиана ОВ составила 47 мес. против 62 мес. ($p = 0,047$) для больных с одновременным противоопухолевым и почечным ответами. Влияние почечного ответа на ОВ в нашем исследовании не выявлено, возможно, в связи с ограниченностью и гетерогенностью представленной выборки.

Литература

1. Dimopoulos M.A., Terpos E., Chanan-Khan A. et al. Renal impairment in patients with multiple myeloma: A consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol.* 2010; 28(33): 4976–84. DOI: 10.1200/JCO.2010.30.8791.
2. Gavriatopoulou M., Terpos E., Kastritis E., Dimopoulos M.A. Current treatments for renal failure due to multiple myeloma. *Expert Opin Pharmacother.* 2016; 17(16): 2165–77. DOI: 10.1080/14656566.2016.1236915.
3. Haynes R.J., Read S., Collins, G.P. et al. Presentation and survival of patients with severe acute kidney injury and multiple myeloma: a 20-year experience from a single centre. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25(2): 419–26. DOI: 10.1093/ndt/gfp488.
4. Горошинская И.А., Франциянц Е.М., Зудерман Н.Е. и др. Показатели повреждения почек у больных множественной миеломой в процессе химиотерапевтического лечения. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2018; 63(12): 741–9. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-12-741-749.
5. Walk J.C., Ayati B.P., Holstein S.A. Modeling the Effects of Multiple Myeloma on Kidney Function. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 1726. DOI: 10.1038/s41598-018-38129-7
6. Рехтина И.Г., Менделеева Л.П., Бидерман Б.В. и др. Полиморфизмы гена уромодулина у больных хронической почечной недостаточностью при множественной миеломе. *Терапевтический архив.* 2017; 89(8): 68–71. DOI: 10.17116/terarkh201789868-71.
7. Krieter D.H., Devine E., Wanner C. et al. Clearance of drugs for multiple myeloma therapy during in vitro high-cutoff hemodialysis. *Artif Organs.* 2014; 38(10): 888–93. DOI: 10.1111/aor.12248.
8. Hutchison C.A., Cockwell P., Moroz V. et al. High cutoff versus high-flux haemodialysis for myeloma cast nephropathy in patients receiving bortezomib-based chemotherapy (EuLITE): a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Haematol.* 2019; 6(4): 217–28. DOI: 10.1016/S2352-3026(19)30014-6.
9. Levey A.S., Stevens L.A., Schmid C.H. et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009; 150(9): 604–12. DOI: 10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006.
10. https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf.
11. Durie B.G., Harousseau J.L., Miguel J.S. et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia.* 2006; 20(9): 1467–73. DOI: 10.1038/sj.leu.2404284.
12. Салогуб Г.Н., Степанова Н.В., Подгаецкая О.Ю. Поражение почек при множественной миеломе. *Гематология и трансфузиология.* 2010; 55(3): 25–33.

Таким образом, применение «триплетов» на основе бортезомиба позволяет получить высокую частоту противоопухолевых ответов (79,2 %) с вероятностью прекратить диализ приблизительно у четверти зависимых от данной процедуры больных ММ. К возможным причинам низкой частоты почечного ответа (23,5 %) у диализ-зависимых больных можно отнести позднюю диагностику ММ (медиана 39 дней от дебюта ОПП), обусловленную ограниченными возможностями определения СЛЦ на уровне амбулаторных нефрологов и гематологов городской сети и отсутствие адекватного доступа к противоопухолевым иммуномодуляторам (леналидомид, помалидомид), что требуется для ранней модификации терапии в случае неудовлетворительного ответа уже после первых 1–2 циклов индукционного лечения.

References

1. Dimopoulos M.A., Terpos E., Chanan-Khan A. et al. Renal impairment in patients with multiple myeloma: A consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol.* 2010; 28(33): 4976–84. DOI: 10.1200/JCO.2010.30.8791.
2. Gavriatopoulou M., Terpos E., Kastritis E., Dimopoulos M.A. Current treatments for renal failure due to multiple myeloma. *Expert Opin Pharmacother.* 2016; 17(16): 2165–77. DOI: 10.1080/14656566.2016.1236915.
3. Haynes R.J., Read S., Collins, G.P. et al. Presentation and survival of patients with severe acute kidney injury and multiple myeloma: a 20-year experience from a single centre. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25(2): 419–26. DOI: 10.1093/ndt/gfp488.
4. Goroshinskaya I.A., Franzintz E.M., Zuderman N.E. et al. Indicators of kidney damage in patients with multiple myeloma in the process of chemotherapeutic treatment. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2018; 63(12): 741–9 (In Russian).
5. Walk J.C., Ayati B.P., Holstein S.A. Modeling the Effects of Multiple Myeloma on Kidney Function. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 1726. DOI: 10.1038/s41598-018-38129-7
6. Rekhtina I.G., Mendeleeva L.P., Biderman B.V. et al. Uromodulin gene polymorphisms in patients with cast nephropathy in multiple myeloma. *Ter Arkh.* 2017; 89(8): 68–71. DOI: 10.17116/terarkh201789868-71 (In Russian).
7. Krieter D.H., Devine E., Wanner C. et al. Clearance of drugs for multiple myeloma therapy during in vitro high-cutoff hemodialysis. *Artif Organs.* 2014; 38(10): 888–93. DOI: 10.1111/aor.12248.
8. Hutchison C.A., Cockwell P., Moroz V. et al. High cutoff versus high-flux haemodialysis for myeloma cast nephropathy in patients receiving bortezomib-based chemotherapy (EuLITE): a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Haematol.* 2019; 6(4): 217–28. DOI: 10.1016/S2352-3026(19)30014-6.
9. Levey A.S., Stevens L.A., Schmid C.H. et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009; 150(9): 604–12. DOI: 10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006.
10. https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf.
11. Durie B.G., Harousseau J.L., Miguel J.S. et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia.* 2006; 20(9): 1467–73. DOI: 10.1038/sj.leu.2404284.
12. Salogub G.N., Stepanova N.V., Podgayetskaya O.Yu. Kidney involvement in multiple myeloma. *Gematologiya i transfusiologiya.* 2010; 55(3): 25–33 (In Russian).

13. Sanders P.W., Booker B.B. Pathobiology of cast nephropathy from human Bence Jones proteins. *J Clin Invest.* 1992; 89(2): 630–9. DOI: 10.1172/JCI115629.
14. Chanan-Khan A.A., Kaufman J.L., Mehta J. et al. Activity and safety of bortezomib in multiple myeloma patients with advanced renal failure: A multicenter retrospective study. *Blood.* 2007; 109(6): 2604–6. DOI: 10.1182/blood-2006-09-046409.
15. Ludwig H., Adam Z., Hajek R. et al. Light chain-induced acute renal failure can be reversed by bortezomib-doxorubicin-dexamethasone in multiple myeloma: Results of a phase II study. *J Clin Oncol.* 2010; 28(3): 4635–41. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.1238.
16. Scheid C., Sonneveld P., Schmidt-Wolf I.G. et al. Bortezomib before and after autologous stem cell transplantation overcomes the negative prognostic impact of renal impairment in newly diagnosed multiple myeloma: a subgroup analysis from the HOVON-65/GMMG-HD4 trial. *Haematologica.* 2014; 99(1): 148–54. DOI: 10.3324/haematol.2013.087585.
17. Mai E.K., Bertsch U., Durig J. et al. Phase III trial of bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone (VCD) versus bortezomib, doxorubicin and dexamethasone (PAD) in newly diagnosed myeloma. *Leukemia.* 2015; 29(8): 1721–9. DOI: 10.1038/leu.2015.80.
18. Dimopoulos M.A., Roussou M., Gavriatopoulou M. et al. Bortezomib-based triplets are associated with a high probability of dialysis independence and rapid renal recovery in newly diagnosed myeloma patients with severe renal failure or those requiring dialysis. *Am J Hematol.* 2016; 91(5): 499–502. DOI: 10.1002/ajh.24335.
19. Рехтина И.Г., Менделеева Л.П., Бирюкова Л.С. Диализзависимая почечная недостаточность у больных множественной миеломой: факторы обратимости. *Терапевтический архив.* 2015; 87(7): 72–6. DOI: 10.17116/terarkh201587772-76.
20. Белоусов К.А., Митина Т.А., Чуксина Ю.Ю. и др. Эффективность лениалидомида, бортезомиба и преднизолона (RVP) при лечении пациентов с впервые выявленной множественной миеломой. *Онкогематология.* 2019; 14(1): 14–9. DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-1-14-19.
21. Mikhael J., Manola J., Dueck A.C. et al. Lenalidomide and dexamethasone in patients with relapsed multiple myeloma and impaired renal function: PrE1003, a PrECOG study. *Blood Cancer J.* 2018; 8(9): 86. DOI: 10.1038/s41408-018-0110-7
22. Семочкин С.В. Биологические основы применения иммуномодулирующих препаратов в лечении множественной миеломы. *Онкогематология.* 2010; 5(1): 21–31.
23. Dimopoulos M., Weisel K., van de Donk N.W.C.J. et al. Pomalidomide Plus Low-Dose Dexamethasone in Patients With Relapsed/Refractory Multiple Myeloma and Renal Impairment: Results From a Phase II Trial. *J Clin Oncol.* 2018; 36(20): 2035–43. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.174.
24. Richardson P.G., Oriol A., Beksac M. et al. Pomalidomide, bortezomib, and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma previously treated with lenalidomide (OPTIMISMM): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2019; 20(6): 781–94. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30152-4.
25. Anlanger M., Dust T., Reiter T. et al. Impact of renal impairment on outcomes after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: a multi-center, retrospective cohort study. *BMC Cancer.* 2018; 18(1): 1008. DOI: 10.1186/s12885-018-4926-0.
26. Semochkin S.V., Misyurina E.N., Zhelnova E.I. et al. N-Terminal Fragment of Brain-Type Natriuretic Peptide (NT-proBNP) as a Prognostic Marker in Patients with Newly Diagnosed Multiple Myeloma Complicated by Dialysis-Dependent Renal Failure. *Bull Exp Biol Med.* 2019; 167(2): 267–71. DOI: 10.1007/s10517-019-04506-z.
13. Sanders P.W., Booker B.B. Pathobiology of cast nephropathy from human Bence Jones proteins. *J Clin Invest.* 1992; 89(2): 630–9. DOI: 10.1172/JCI115629.
14. Chanan-Khan A.A., Kaufman J.L., Mehta J. et al. Activity and safety of bortezomib in multiple myeloma patients with advanced renal failure: A multicenter retrospective study. *Blood.* 2007; 109(6): 2604–6. DOI: 10.1182/blood-2006-09-046409.
15. Ludwig H., Adam Z., Hajek R. et al. Light chain-induced acute renal failure can be reversed by bortezomib-doxorubicin-dexamethasone in multiple myeloma: Results of a phase II study. *J Clin Oncol.* 2010; 28(3): 4635–41. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.1238.
16. Scheid C., Sonneveld P., Schmidt-Wolf I.G. et al. Bortezomib before and after autologous stem cell transplantation overcomes the negative prognostic impact of renal impairment in newly diagnosed multiple myeloma: a subgroup analysis from the HOVON-65/GMMG-HD4 trial. *Haematologica.* 2014; 99(1): 148–54. DOI: 10.3324/haematol.2013.087585.
17. Mai E.K., Bertsch U., Durig J. et al. Phase III trial of bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone (VCD) versus bortezomib, doxorubicin and dexamethasone (PAD) in newly diagnosed myeloma. *Leukemia.* 2015; 29(8): 1721–9. DOI: 10.1038/leu.2015.80.
18. Dimopoulos M.A., Roussou M., Gavriatopoulou M. et al. Bortezomib-based triplets are associated with a high probability of dialysis independence and rapid renal recovery in newly diagnosed myeloma patients with severe renal failure or those requiring dialysis. *Am J Hematol.* 2016; 91(5): 499–502. DOI: 10.1002/ajh.24335.
19. Rekhina I.G., Mendeleeva L.P., Biryukova L.S. Dialysis-dependent renal failure in patients with multiple myeloma: Reversibility factors. *Ter Arkh.* 2015; 87(7): 72–6. DOI: 10.17116/terarkh201587772-76 (In Russian).
20. Belousov K.A., Mitina T.A., Chuksina Y.Y. et al. Efficiency of lenalidomide, bortezomib and prednisone (RVP) in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Oncohematologiya.* 2019; 14(1): 14–9. DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-1-14-19 (In Russian).
21. Mikhael J., Manola J., Dueck A.C. et al. Lenalidomide and dexamethasone in patients with relapsed multiple myeloma and impaired renal function: PrE1003, a PrECOG study. *Blood Cancer J.* 2018; 8(9): 86. DOI: 10.1038/s41408-018-0110-7
22. Semochkin S.V. Biological basis of immunomodulatory drugs using in treatment of multiple myeloma. *Oncohematologiya.* 2010; 5(1): 21–31 (In Russian).
23. Dimopoulos M., Weisel K., van de Donk N.W.C.J. et al. Pomalidomide Plus Low-Dose Dexamethasone in Patients With Relapsed/Refractory Multiple Myeloma and Renal Impairment: Results From a Phase II Trial. *J Clin Oncol.* 2018; 36(20): 2035–43. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.1742.
24. Richardson P.G., Oriol A., Beksac M. et al. Pomalidomide, bortezomib, and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma previously treated with lenalidomide (OPTIMISMM): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2019; 20(6): 781–94. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30152-4.
25. Anlanger M., Dust T., Reiter T. et al. Impact of renal impairment on outcomes after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: a multi-center, retrospective cohort study. *BMC Cancer.* 2018; 18(1): 1008. DOI: 10.1186/s12885-018-4926-0.
26. Semochkin S.V., Misyurina E.N., Zhelnova E.I. et al. N-Terminal Fragment of Brain-Type Natriuretic Peptide (NT-proBNP) as a Prognostic Marker in Patients with Newly Diagnosed Multiple Myeloma Complicated by Dialysis-Dependent Renal Failure. *Bull Exp Biol Med.* 2019; 167(2): 267–71. DOI: 10.1007/s10517-019-04506-z.

27. Dimopoulos M.A., Roussou M., Gavriatopoulou M. et al. Outcomes of newly diagnosed myeloma patients requiring dialysis: renal recovery, importance of rapid response and survival benefit. *Blood Cancer J.* 2017; 7(6): 571. DOI: 10.1038/bcj.2017.49.

Информация об авторах

Семочкин Сергей Вячеславович*, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: semochkin_sv@rsmu.ru; 123182, г. Москва, Пехотная ул., д. 3, корп. 16, комната 648. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8129-8114>

Желнова Евгения Ивановна, кандидат медицинских наук, заведующий отделением гематологии и высокодозной химиотерапии ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ, e-mail: ez13z@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0343-9348>

Мисюрина Елена Николаевна, кандидат медицинских наук, руководитель гематологической службы ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ, e-mail: misyurina_elena@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2419-4850>

Марьин Дмитрий Сергеевич, заведующий дневным стационаром по гематологии ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ, e-mail: 52gema@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4380-0019>

Ушакова Анжела Ильинична, заведующая нефрологическим отделением ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ, e-mail: anzhela_52@inbox.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3959-6281>

Каримова Екатерина Алексеевна, врач-гематолог ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ, e-mail: 52gema@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7603-1741>

Барях Елена Александровна, кандидат медицинских наук, доцент, заведующая отделением гематологии и химиотерапии ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ, e-mail: ebaryakh@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6880-9269>

Толстых Татьяна Николаевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ, e-mail: t.perestoronina@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7308-0927>

Маврина Елена Сергеевна, врач-гематолог ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ, e-mail: mavrina.ale@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3996-0239>

Юрова Елена Викторовна, аспирант ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: elena_yurova83@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3064-5112>

27. Dimopoulos M.A., Roussou M., Gavriatopoulou M. et al. Outcomes of newly diagnosed myeloma patients requiring dialysis: renal recovery, importance of rapid response and survival benefit. *Blood Cancer J.* 2017; 7(6): 571. DOI: 10.1038/bcj.2017.49.

Information about the authors

Sergey V. Semochkin*, Dr. Sci. (Med.), Prof., Department for Oncology, Hematology and Radiation Therapy, Pirogov Russian National Research Medical University, e-mail: semochkin_sv@rsmu.ru; 123182, Moscow, Pekhotnaya str., 3, build. 16, room 648. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8129-8114>

Evgeniya I. Zhelnova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department for Hematology and High-dose Chemotherapy, Moscow City Hospital No. 52, email: ez13z@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0343-9348>

Elena N. Misyurina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Hematology Service, Moscow City Hospital No. 52, email: misyurina_elena@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2419-4850>

Dmitry S. Maryin, Head of the Hematology Day Patient Department, Moscow City Hospital No. 52, email: 52gema@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4380-0019>

Anzhela I. Ushakova, Head of the Nephrology Department, Moscow City Hospital No. 52, email: anzhela_52@inbox.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3959-6281>

Ekaterina A. Karimova, Hematologist, Moscow City Hospital No. 52, email: 52gema@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7603-1741>

Elena A. Baryakh, Cand. Sci. (Med.), Ass. Prof., Head of the Department for Hematology and Chemotherapy, Moscow City Hospital No. 52, email: ebaryakh@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6880-9269>

Tatyana N. Tolstykh, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Moscow City Hospital No. 52, email: t.perestoronina@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7308-0927>

Elena S. Mavrina, Hematologist, Moscow City Hospital No. 52, email: mavrina.ale@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3996-0239>

Elena V. Yurova, Postgraduate Researcher, Pirogov Russian National Research Medical University, email: elena_yurova83@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3064-5112>

Черкасова Алла Вячеславовна, врач-гематолог ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ,
e-mail: alina-zwer.89@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5983-4953>

Гришина Екатерина Юрьевна, врач-гематолог ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ,
e-mail: Grishinae.y@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9104-1216>

Гяглоева Диана Эльзаровна, врач-гематолог ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ,
e-mail: gaglo-92@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6254-5362>

Яцков Константин Владимирович, заведующий отделением реанимации
и интенсивной терапии ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ,
e-mail: 52gema@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0125-9068>

Котенко Олег Николаевич, кандидат медицинских наук, доцент, главный
внештатный специалист, нефролог Департамента здравоохранения города
Москвы,
e-mail: olkotenko@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8264-7374>

Лысенко Марьяна Анатольевна, доктор медицинских наук, главный врач
ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ,
email: info@gkb52.mosgorzdrav.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6010-7975>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 20.07.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Alla V. Cherkasova, Hematologist, Moscow City Hospital No. 52,
email: alina-zwer.89@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5983-4953>

Ekaterina Yu. Grishina, Hematologist, Moscow City Hospital No. 52,
email: Grishinae.y@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9104-1216>

Diana E. Gagloeva, Hematologist, Moscow City Hospital No. 52,
email: gaglo-92@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6254-5362>

Konstantine V. Yatskov, Head of the Resuscitation and Intensive Care Unit, Mos-
cow City Hospital No. 52,
email: 52gema@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0125-9068>

Oleg N. Kotenko, Cand. Sci. (Med.), Ass. Prof., Leading External Expert, Ne-
phrologist, Moscow City Health Department,
email: olkotenko@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8264-7374>

Maryana A. Lysenko, Dr. Sci. (Med.), Head Doctor, Moscow City Hospital No. 52,
email: info@gkb52.mosgorzdrav.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6010-7975>

*** Corresponding author**

Received 20 Jul 2019

Accepted 12 Sep 2019

ПРИМЕНЕНИЕ РОТАЦИОННОЙ ТРОМБОЭЛАСТОМЕТРИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ДЕФИЦИТА ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ И КОНТРОЛЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ НАСЛЕДСТВЕННЫМИ КОАГУЛОПАТИЯМИ

Галстян Г. М.*, Полеводова О. А., Яковлева Е. В., Щекина А. Е.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Ротационная тромбоэластометрия (РОТЭМ) является методом исследования гемостаза, который выполняется по месту лечения и позволяет выявлять нарушения по внешнему и/или внутреннему пути свертывания крови.

Цель работы — изучить возможность использования РОТЭМ для диагностики дефицита отдельных факторов свертывания крови и мониторинга эффективности и безопасности гемостатической терапии, проводимой при этих коагулопатиях.

Материалы и методы. В исследование было включено 9 больных с врожденным дефицитом различных факторов свертывания крови. Проводили коагулологические тесты (определение активированного частичного тромбопластинного времени, протромбина по Квику, фибриногена, плазменной активности факторов свертывания FV, FVII, FVIII, FIX, FXI и FXII) и РОТЭМ. Для исключения влияния гепарина или гипофибриногенемии выполняли НЕРТЕМ и/или FIBТЕМ. Для выявления дефицита отдельных факторов свертывания крови использовали образцы стандартной плазмы и плазмы, дефицитной по одному из факторов свертывания крови. Исследуемую цитратную кровь смешивали в соотношении 2:1 со стандартной плазмой и с дефицитной по одному из исследуемых факторов плазмой, повторно выполняли тесты EXTEM и/или INTEM. Дефицит фактора свертывания крови подтверждали по изменению параметра СТ.

Результаты. Изолированное удлинение СТ в тесте EXTEM выявлялось при дефиците FVII, удлинение СТ только в INTEM возникало при дефиците FVIII, FIX, FXI, FXII, одновременное удлинение EXTEM и INTEM определялось при дефиците FV. При выполнении пробы со смесью цитратной крови и стандартной плазмы параметр СТ укорачивался в тесте EXTEM при дефиците FVII, в тесте INTEM — при дефиците FVIII, FIX, FXI, FXII, в обоих тестах — при дефиците FV. В пробе со смесью цельной крови и дефицитной по исследуемому фактору плазмой интервал СТ сохранялся удлиненным либо увеличивался. Приведены клинические примеры диагностики дефицита факторов свертывания с помощью РОТЭМ.

Заключение. Нормализация показателей РОТЭМ в пробе со стандартной плазмой и сохранение гипокоагуляции в пробе с дефицитной по фактору плазмой позволяет подтвердить дефицит фактора свертывания крови. С помощью РОТЭМ возможно проведение мониторинга эффективности гемостатической терапии при врожденных дефицитах отдельных факторов свертывания крови.

Ключевые слова: ротационная тромбоэластометрия, дефицит факторов свертывания, наследственная коагулопатия

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Галстян Г.М., Полеводова О.А., Яковлева Е.В., Щекина А.Е. Применение ротационной тромбоэластометрии для диагностики дефицита факторов свертывания и контроля гемостатической терапии у больных наследственными коагулопатиями. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(3):297–316. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-297-316>

ROTATION THROMBOELASTOMETRY FOR THE DIAGNOSIS OF FACTOR DEFICIENCY AND MANAGEMENT OF THE HEMOSTATIC THERAPY IN PATIENTS WITH INHERITED COAGULATION DISORDERS

Galstyan G. M.*, Polevodova O. A., Yakovleva E. V., Shchekina A. E.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Rotation thromboelastometry (ROTEM) is a method for studying haemostasis at the place of providing care, which allows identification of disorders on the basis of extrinsic and / or intrinsic coagulation pathways.

Aim. To study the possibility of using ROTEM for diagnosing the deficiency of individual blood coagulation factors, as well as for monitoring the efficacy and safety of haemostatic therapy in such coagulopathies.

Materials and methods. The study included 9 patients with a congenital deficiency in various coagulation factors. The authors performed ROTEM, as well as coagulological tests to determine activated partial thromboplastin time, Quick's value, fibrinogen and the plasma activity of coagulation factors FV, FVII, FVIII, FIX, FXI and FXII. In order to exclude the effects of heparin or hyperfibrinogenaemia, HEPTM and / or FIBTEM were conducted. In order to identify the deficiency of individual coagulation factors, the authors used standard plasma samples and plasma deficient in one of the coagulation factors. The citrated blood under study was mixed with standard plasma and that deficient in one of the studied factors in a 2:1 ratio for subsequent repetition of the EXTEM and / or INTEM tests. Coagulation factor deficiency was confirmed by a change in the CT parameter.

Results. Isolated prolongation of EXTEM CT was detected in the setting of FVII deficiency; while INTEM CT prolongation occurred under the deficiency of FVIII, FIX, FXI, FXII, with simultaneous EXTEM and INTEM CT prolongation being observed in the context of FVII deficiency. The test of a mixture of citrated blood and standard plasma revealed shortened EXTEM CT in the setting of FVII deficiency and shortened INTEM CT under the deficiency of FVIII, FIX, FXI, FXII, with the shortening of both EXTEM and INTEM CT being detected in the setting of FV deficiency. In a sample containing a mixture of whole blood and plasma deficient in the studied factor, CT remained prolonged or increased. Clinical examples of using ROTEM for diagnosing coagulation factor deficiency are presented.

Conclusion. The normalisation of ROTEM parameters in a standard plasma sample along with the preservation of hypocoagulation in a factor-deficient plasma sample confirms the coagulation factor deficiency. ROTEM provides the possibility of monitoring the efficacy of haemostatic therapy for congenital deficiencies in individual blood coagulation factors.

Keywords: rotation thromboelastometry, inherited coagulopathy, coagulation factor deficiency

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Galstyan G.M., Polevodova O.A., Yakovleva E.V., Shchekina A.E. Rotation thromboelastometry for the diagnosis of factor deficiency and management of the hemostatic therapy in patients with inherited coagulation disorders. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(3):297–316 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-297-316>

Введение

Ротационная тромбоэластометрия (РОТЭМ) позволяет оценить нарушения гемостаза у больных в критических состояниях, выбрать тот или иной метод лечения, мониторировать его эффективность [1]. РОТЭМ является *point-of-care* тестированием, т.е. исследованием, которое проводится по месту лечения, медицинским персоналом, не имеющим лабораторного образования [2]. Для его выполнения не требуется центрифугировать кровь, а результаты могут быть получены в течение короткого промежутка времени. В отличие от традиционных коагулологических тестов, с помощью РОТЭМ оценивают не активность отдельных факторов свертывающей или противосвертывающей систем, а систему гемостаза в целом как результат взаимодействия этих факторов [3]. Метод позволяет графически представить процесс образования и лизиса сгустка и с помощью соответствующих активаторов дифференцированно оценивать внешний и внутренний пути свертывания крови. В тесте INTEM после предварительной рекальцификации с помощью реагента star-tem добавляется реактив in-TEM, содержащий фосфолипиды, выделенные из мозга кроликов, и эллаговую кислоту. То есть, по сути, это реагент активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), инициирующий внутренний путь свертывания. Таким образом, в тесте INTEM свертывание по внутреннему пути запускается эллаговой кислотой на фосфолипидах, введенных в образец крови. В тесте EXTEM после реагента star-tem добавляется реактив ex-TEM, содержащий фосфолипиды, тканевой фактор, запускающий свертывание по внешнему пути, и гепариназу, которая нивелирует возможное действие присутствующего гепарина. Таким образом, тесты EXTEM и INTEM можно использовать как скрининг для выявления нарушений свертывания крови по внешнему и/или внутреннему путям свертывания. При выявлении гипокоагуляции в тесте INTEM можно с помощью теста НЕРТЕМ исключить или подтвердить действие гепарина. При наличии в крови гепарина гипокоагуляция будет устранена добавлением гепариназы, при дефиците факторов свертывания крови она сохранится. Дефицит фактора, который привел к гипокоагуляции, выясняется обычно с помощью коагулологических тестов, при которых количественно оценивается активность факторов в плазме крови. Однако далеко не во всех стационарах есть лаборатории, которые могут определять дефицит отдельных факторов свертывания, прежде всего при врожденных коагулопатиях. Подобные больные, поступая в стационар для планового или экстренного хирургического вмешательства или в связи с геморрагическим синдромом, часто либо не получают адекватной помощи и перенаправляются в другие специализированные стационары, либо их лечат трансфузиями плазмы, которые не всегда эффективны.

Простота, удобство и информативность вискоэластичных методов оценки гемостаза способствовали их широкому распространению в клинической практике. Они востребованы для выявления нарушений гемостаза и мониторинга проводимой гемостатической терапии в акушерстве и гинекологии [4–6], интенсивной терапии и анестезиологии [7–10], сердечно-сосудистой хирургии [11–14], травматологии [15–18], при трансплантации печени [1, 19, 20]. Учитывая их большое значение, приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 15 ноября 2012 г. № 919н регламентировано обязательное наличие тромбоэластографа или тромбоэластометра в отделениях анестезиологии-реаниматологии [21].

В этой связи представляется актуальным адаптировать метод РОТЭМ, доступный в большинстве стационаров, для определения дефицита отдельных факторов свертывания крови и мониторинга проводимой целенаправленной гемостатической терапии.

Цель настоящей работы — изучить возможность использования ротационной тромбоэластометрии для диагностики врожденного дефицита отдельных факторов свертывания крови и мониторинга эффективности и безопасности проводимой при этих коагулопатиях гемостатической терапии.

Материалы и методы

Работа состояла из двух этапов. Задачей первого этапа была разработка алгоритма определения дефицита отдельных факторов свертывания крови с помощью РОТЭМ. Задача второго этапа — показать на клинических примерах, как с помощью РОТЭМ можно диагностировать дефицит отдельных факторов свертывания крови и мониторировать эффективность и безопасность гемостатической терапии при этих коагулопатиях.

В исследование было включено 9 больных (4 мужчин и 5 женщин) в возрасте от 15 до 54 лет с врожденным дефицитом различных факторов свертывания крови (FV, FVII, FVIII, FIX, FXI и FXII). У 8 больных плазменная активность дефицитного фактора не превышала 1 %, у 1 больной плазменная активность FV составила 1,7 %.

Для исследований гемостаза кровь у больных получали путем венепункции одной из периферических вен и собирали в пробирки S-Monovette с 3,2 % раствором цитрата натрия в соотношении 1 часть раствора цитрата натрия, 9 частей крови. Для выполнения тестов на РОТЭМ использовали цельную цитратную кровь. Для выполнения коагуляционных тестов получали бедную тромбоцитами плазму. Бедную тромбоцитами плазму приготавливали путем центрифугирования цитратной крови со скоростью 1200 *g* (3000 об./мин) в течение 15 мин при температуре 15–25 °С. АЧТВ

определяли в условиях стандартной активации калином и фосфолипидами. Исследование выполняли на автоматическом коагулометре Sysmex CA-600 фирмы Sysmex Corporation (Япония) с использованием Pathromtin* SL фирмы Siemens Healthcare (Германия) [22].

Протромбиновое время (ПВ) определяли с тромбопластином, стандартизованным по международному индексу чувствительности (МИЧ 1,1) с расчетным показателем, выраженным в %, рассчитывали международное нормализованное отношение (МНО). Исследование выполняли на автоматическом коагулометре Sysmex CA-600 фирмы Sysmex Corporation (Япония) с использованием реагента ThromborelR S фирмы Siemens Healthcare (Германия).

Концентрацию фибриногена в плазме определяли по Клауссу. Исследование выполняли на автоматическом коагулометре Sysmex CA-600 фирмы Sysmex Corporation (Япония) с использованием реагента DadeR Thrombin Reagent фирмы Siemens Healthcare (Германия).

Определение активности факторов свертывания крови выполняли на автоматическом коагулометре Sysmex CA-600 фирмы Sysmex Corporation (Япония) одностадийным клоттинговым методом с использованием субстратных (дефицитных) образцов плазмы, лишенных одного из факторов свертывания крови. Исследование выполняли с использованием реагентов

Coagulation Factors Deficient Plasma фирмы Siemens Healthcare (Германия).

Тромбоэластометрию выполняли на 4-канальном анализаторе ROTEM delta фирмы Pentapharm GmbH (Германия). В исследовании были использованы пять основных тестов: EXTEM (внешний путь свертывания), INTEM (внутренний путь свертывания), FIBTEM (контроль полимеризации фибрина), НЕРТЕМ (мониторинг гепарина). Тесты выполняли согласно рекомендациям производителя. При проведении анализа использовали автоматическое пипетирование цельной цитратной крови в комбинации с различными специфическими реагентами. При постановке тестов для исследования использовали образцы стандартной плазмы (Standard human plasma, FII 100 %, FV 90 %, FVII 90 %, FVIII 85–93 %, FIX 94 %, FX 101 %, FXI 90 %, FXII 97 %, FXIII 121 %, Siemens Healthcare Diagnostic Products GmbH, Германия) и дефицитной по одному из факторов свертывания плазмы (Coagulation Factor Deficient Plasma, Siemens Healthcare Diagnostic Products GmbH, Германия).

Результаты

Поскольку РОТЭМ позволяет выявить нарушения как внутреннего, так и внешнего пути свертывания с помощью соответствующих тестов ИНТЕМ и ЕХТЕМ, они были использованы как скрининговые тесты для выявления коагулопатии (рис. 1).

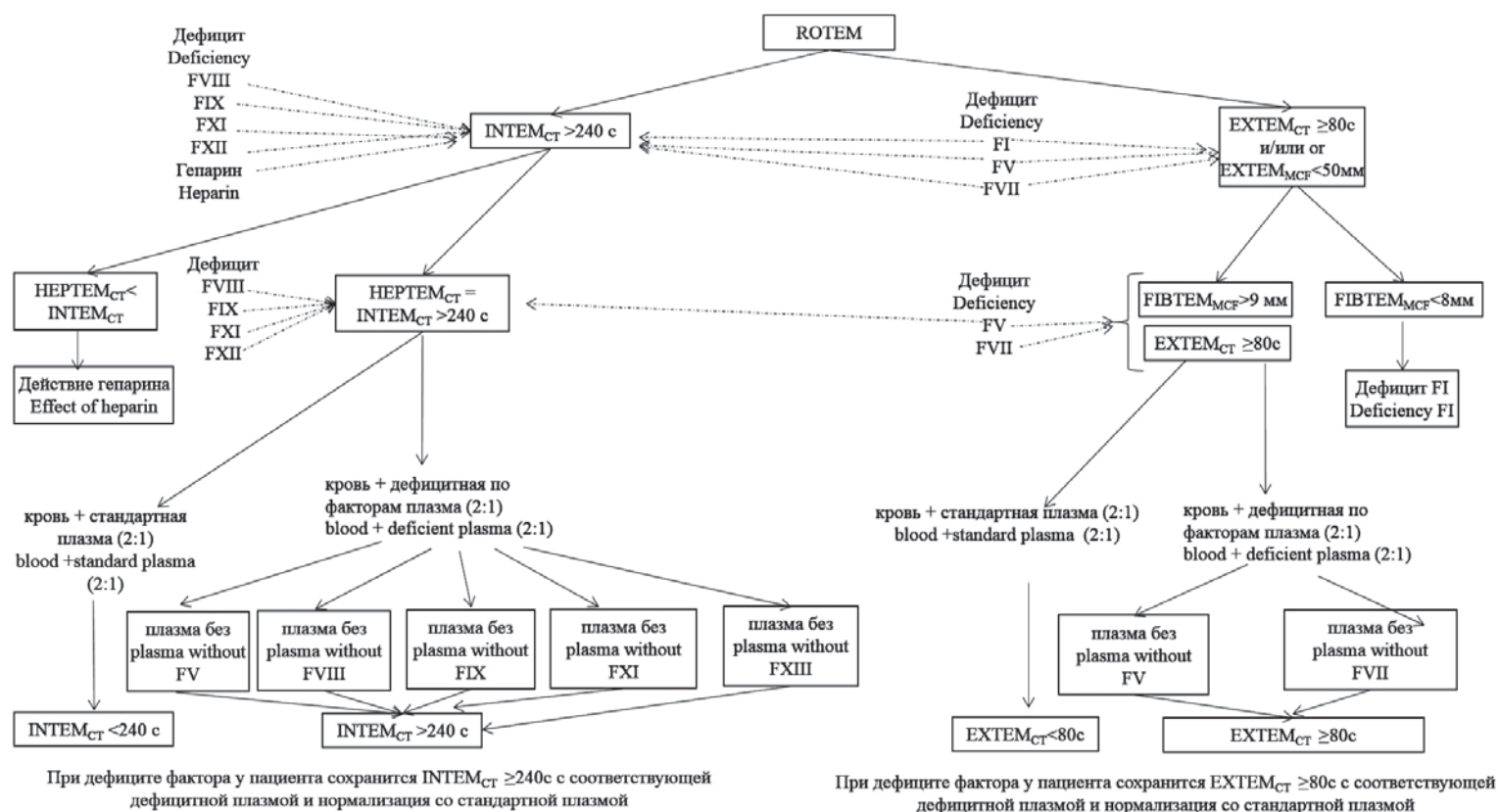


Рисунок 1. Алгоритм диагностики дефицитов факторов свертывания крови на основе РОТЭМ

Figure 1. Diagnostic algorithm of coagulation factor deficiencies based on ROTEM

В зависимости от выявленной гипокоагуляции в INTEM или EXTEM выполнялись тесты НЕРТЕМ и/или FIVТЕМ для исключения таких причин гипокоагуляции, как гипофибриногенемия и/или наличие гепарина в образце крови. Значения теста FIVТЕМ_{МСF} >9 мм и отсутствие укорочения НЕРТЕМ_{СТ} по сравнению INTEM_{СТ} позволяли исключить *гипофибриногеномию и действие гепарина* как причины гипокоагуляции. Дальнейшие исследования были направлены на выявление дефицита отдельных факторов свертывания крови (рис. 1).

Принцип выявления дефицита отдельных факторов свертывания с помощью РОТЭМ был одинаков для каждого фактора. При выявлении удлинения в тестах внешнего пути (EXTEM) и/или внутреннего пути свертывания (INTEM), исследуемую цитратную кровь смешивали в соотношении 2:1 со стандартной плазмой, в которой активность всех факторов свертывания была в норме, и с дефицитной по одному из исследуемых факторов плазмой (рис. 2).

После чего повторяли тесты EXTEM и/или INTEM в зависимости от участия исследуемого фактора в каскаде свертывания. При наличии дефицита одного из факторов свертывания в тесте, выполненном со смесью цельной крови и стандартной плазмой, параметр СТ укорачивался в тесте EXTEM и/или INTEM, а в пробе со смесью цельной крови и плазмой, дефицитной по исследуемому фактору, интервал СТ сохранялся удлиненным либо даже увеличивался еще больше вследствие дилуции.

Удлинение только EXTEM_{СТ} выявляется при дефиците FVII

Для подтверждения дефицита FVII на одном канале тромбоэластометра выполняли тест EXTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части стандартной плазмы, а на другом канале выполняли тест EXTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части плазмы, дефицитной по FVII. При дефиците FVII в тесте, выполненном со смесью крови с дефицитной плазмой, сохранялось удлинение EXTEM_{СТ}, а в тесте со смесью крови со стандартной плазмой происходила нормализация EXTEM_{СТ}.

Одновременное удлинение EXTEM_{СТ} и INTEM_{СТ} выявляется при тяжелом дефиците FV

Для определения дефицита FV на двух каналах РОТЭМ выполняли тесты EXTEM и INTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части стандартной плазмы, а на других двух каналах — тесты EXTEM и INTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части плазмы, дефицитной по FV. При дефиците FV в тестах EXTEM и INTEM, выполненных со смесью крови с дефицитной плазмой, сохранялось удлинение EXTEM_{СТ} и INTEM_{СТ}, а в тестах EXTEM и INTEM, выполненных со смесью исследуемой крови со стандартной плазмой, происходила нормализация EXTEM_{СТ} и INTEM_{СТ}.

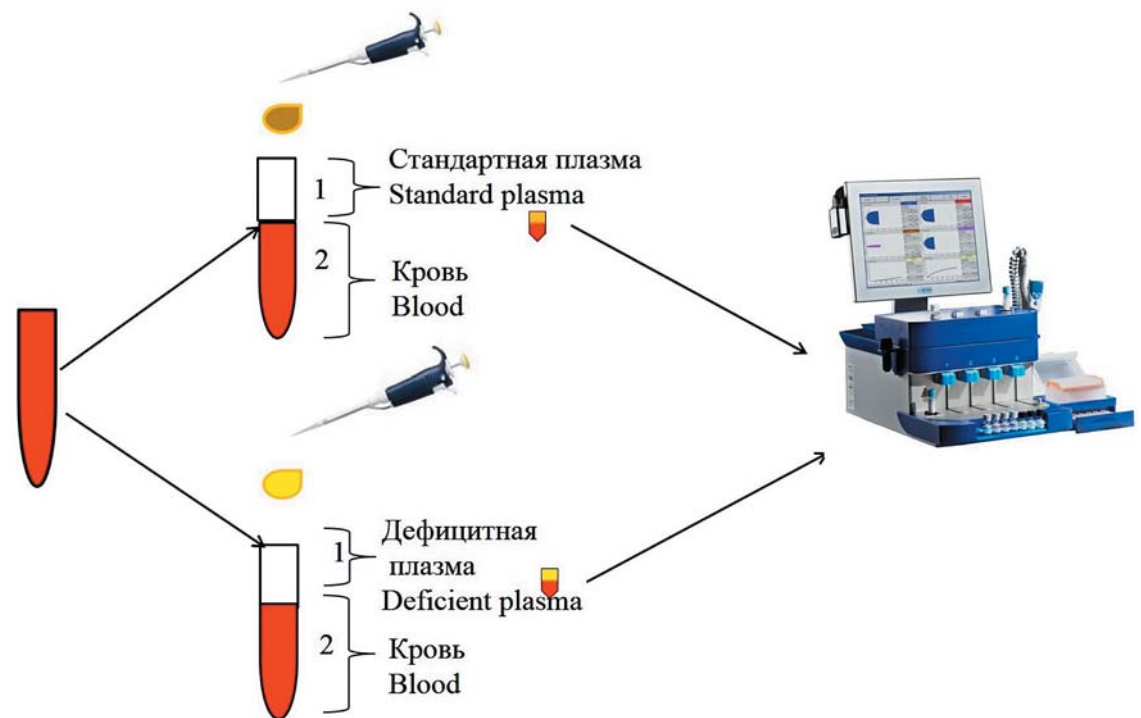


Рисунок 2. Схема выполнения исследования
Figure 2. Scheme of the blood dilution

Удлинение только $INTEM_{CT}$ возникает при дефиците FVIII, FIX, FXI и FXII

Для выявления дефицита FVIII на одном канале РОТЭМ выполняли тест INTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части стандартной плазмы, а на другом канале выполняли тест INTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части плазмы, дефицитной по FVIII. При дефиците FVIII в тесте INTEM, выполненном со смесью крови с дефицитной плазмой, сохранялось удлинение $INTEM_{CT}$, а в тесте INTEM, выполненном со смесью исследуемой крови со стандартной плазмой, происходила нормализация $INTEM_{CT}$.

Для выявления дефицита FIX на одном канале РОТЭМ выполняли тест INTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части стандартной плазмы, а на другом канале выполняли тест INTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части плазмы, дефицитной по FIX. При дефиците FIX в тесте INTEM, выполненном со смесью крови с дефицитной плазмой, сохранялось удлинение $INTEM_{CT}$, а в тесте INTEM, выполненном со смесью исследуемой крови со стандартной плазмой, происходила нормализация $INTEM_{CT}$.

Для выявления дефицита FXI на одном канале РОТЭМ выполняли тест INTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части стандартной плазмы, а на другом канале выполняли тест INTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной

исследуемой крови и одной части плазмы, дефицитной по FXI. При дефиците FXI в тесте INTEM, выполненном со смесью крови с дефицитной плазмой, сохранялось удлинение $INTEM_{CT}$, а в тесте INTEM, выполненном со смесью исследуемой крови со стандартной плазмой, происходила нормализация $INTEM_{CT}$.

Для выявления дефицита FXII выполняли на одном канале РОТЭМ выполняли тест INTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части стандартной плазмы, а на другом канале выполняли тест INTEM из пробирки, содержащей смесь двух частей цельной цитратной исследуемой крови и одной части плазмы, дефицитной по FXII. В тесте INTEM, выполненном со смесью крови с дефицитной плазмой, сохранялось удлинение $INTEM_{CT}$, а в тесте INTEM, выполненном со смесью исследуемой крови со стандартной плазмой, происходила нормализация $INTEM_{CT}$.

Ниже приведены примеры диагностики дефицита факторов у больных врожденными коагулопатиями.

Диагностика дефицита FVII

Больной О., 28 лет, страдает гипопроконвертинемией. Заболевание протекает с геморрагическим синдромом в виде желудочно-кишечных и носовых кровотечений. Основные показатели системы гемостаза: АЧТВ 31 с, протромбин по Квику 14,5 %, МНО 4,6, фибриноген 2,3 г/л, плазменная активность FVII 1,7 %. В тесте INTEM не выявлено отклонений от нормы, в тесте EXTEM выявлено удлинение $EXTEM_{CT}$ до 809 с (норма до 79 с), в тесте FIBTEM показатель MCF был в пределах нормы (12 мм), что исключило гипофибриногению как причину гипокоагуляции (рис. 3).

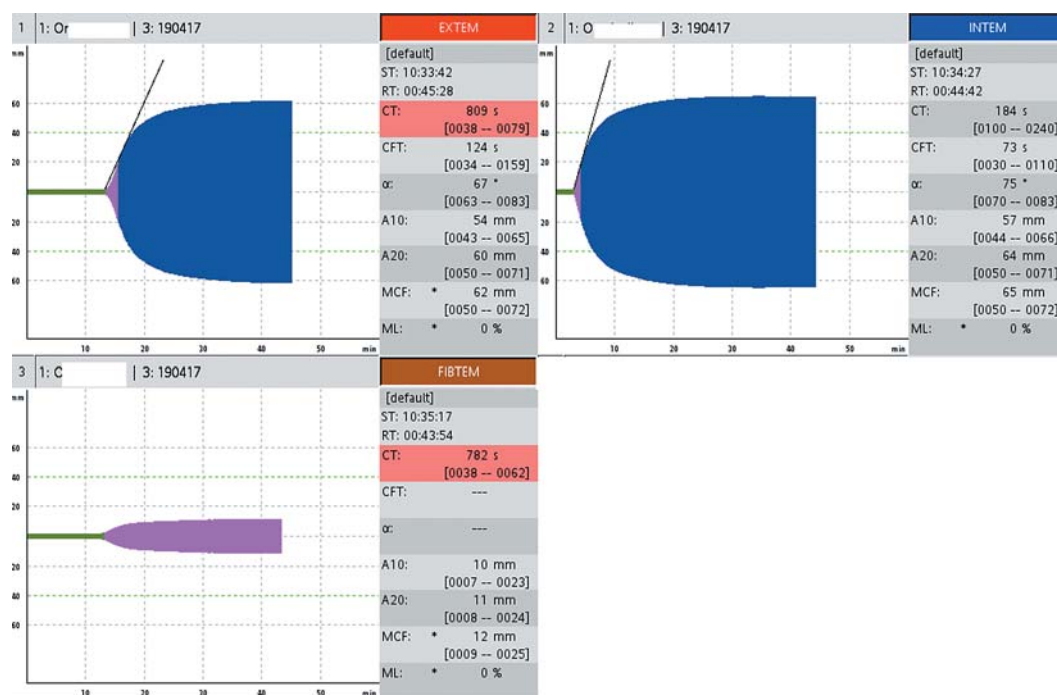


Рисунок 3. Показатели РОТЭМ больного гипопроконвертинемией: удлинение $EXTEM_{CT}$, нормальные $INTEM_{CT}$ и $FIBTEM_{MCF}$

Figure 3. ROTEM patterns of patient with hypoproconvertinemia, prolonged $EXTEM_{CT}$, normal $INTEM_{CT}$ and $FIBTEM_{MCF}$

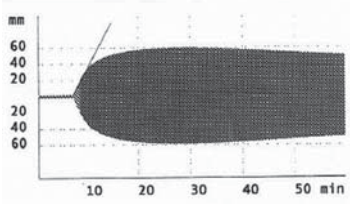
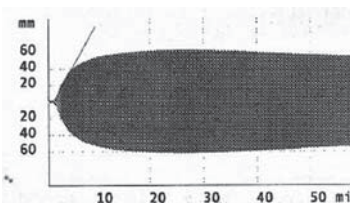
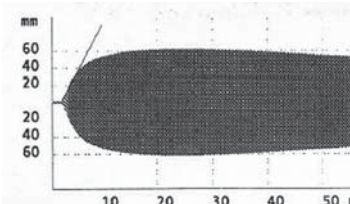
В тесте ЕХТЕМ, выполненном со смесью цельной цитратной крови со стандартной плазмой, ЕХТЕМ_{СТ} сократился до 75 с, а в тесте ЕХТЕМ, выполненном со смесью цельной цитратной крови с плазмой, дефицитной по FVII, ЕХТЕМ_{СТ} остался удлиненным до 490 с, что свидетельствует об изолированном дефиците FVII. На рисунке 4 представлен тест ЕХТЕМ при постановке со смесью цельной крови больного с дефицитом FVII со стандартной плазмой и смесью цельной крови больного с дефицитом FVII и плазмой, дефицитной по FVII. Происходит нормализация СТ в смеси со стандартной плазмой и сохраняется гипокоагуляция в смеси с дефицитной плазмой (рис. 4).

Оценка эффективности гемостатической терапии у больной гипопроконвертинемией

Больной З., 27 лет, страдающей гипопроконвертинемией, выполнено лапароскопическое удаление кисты яичника. До и после оперативного вмешательства выполнялись коагулологические исследования, измерялась плазменная активность FVII, выполнялась тромбоэластометрия. Как видно из таблицы 1, до введения рекомбинантного активированного фактора свертывания VII (rFVIIa) отмечалось выраженное удлинение ЕХТЕМ_{СТ} до 405 с. После введения rFVIIa у больной уменьшился ЕХТЕМ_{СТ} с 405 до 71 с, т.е. до нормы, и лишь через 12 ч возникли показания к повторному введению rFVIIa

Таблица 1. Мониторинг гемостатической терапии rFVIIa у больной с гипопроконвертинемией

Table 1. Monitoring of rFVIIa hemostatic treatment of patient with hypoproconvertinemia

До операции Before surgery																																															
Параметры Parameters	Значения Values	Норма Reference ranges	ТЭМограммы ROTEM patterns																																												
АЧТВ, с aPTT, s	27	34–41	 <table><tr><th colspan="2">EXTEM [default]</th><th colspan="2">190220</th></tr><tr><th>RT:</th><th>01:19:04</th><th>ST:</th><th>2019</th></tr><tr><td>CT</td><td>: 405 s</td><td>[38 - 79]</td><td></td></tr><tr><td>CFT</td><td>: 79 s</td><td>[34 - 159]</td><td></td></tr><tr><td>α</td><td>: 74 °</td><td>[63 - 83]</td><td></td></tr><tr><td>A10</td><td>: 54 mm</td><td>[43 - 65]</td><td></td></tr><tr><td>A20</td><td>: 59 mm</td><td>[50 - 71]</td><td></td></tr><tr><td>MCF</td><td>: 59 mm</td><td>[50 - 72]</td><td></td></tr><tr><td>ML</td><td>: 23 %</td><td>[0 - 15]</td><td></td></tr><tr><td>LI30</td><td>: 97 %</td><td>[94 - 100]</td><td></td></tr><tr><td>LI45</td><td>: 89 %</td><td></td><td></td></tr></table>	EXTEM [default]		190220		RT:	01:19:04	ST:	2019	CT	: 405 s	[38 - 79]		CFT	: 79 s	[34 - 159]		α	: 74 °	[63 - 83]		A10	: 54 mm	[43 - 65]		A20	: 59 mm	[50 - 71]		MCF	: 59 mm	[50 - 72]		ML	: 23 %	[0 - 15]		LI30	: 97 %	[94 - 100]		LI45	: 89 %		
EXTEM [default]		190220																																													
RT:	01:19:04	ST:		2019																																											
CT	: 405 s	[38 - 79]																																													
CFT	: 79 s	[34 - 159]																																													
α	: 74 °	[63 - 83]																																													
A10	: 54 mm	[43 - 65]																																													
A20	: 59 mm	[50 - 71]																																													
MCF	: 59 mm	[50 - 72]																																													
ML	: 23 %	[0 - 15]																																													
LI30	: 97 %	[94 - 100]																																													
LI45	: 89 %																																														
Протромбин по Квику, % Prothrombin Quick test, %	5	70–130																																													
МНО INR	10,25	0,85–1,35																																													
Активность FVII, % Factor VII plasma activity, %	0,1	70–120																																													
EXTEM _{CT} , с EXTEM _{CT} , s	405	38–79																																													
6 часов после операции 6 h after surgery																																															
АЧТВ, с aPTT, s	26	34–41	 <table><tr><th colspan="2">EXTEM [default]</th><th colspan="2">190220</th></tr><tr><th>RT:</th><th>03:00:00</th><th>ST:</th><th>2019</th></tr><tr><td>CT</td><td>: 71 s</td><td>[38 - 79]</td><td></td></tr><tr><td>CFT</td><td>: 82 s</td><td>[34 - 159]</td><td></td></tr><tr><td>α</td><td>: 73 °</td><td>[63 - 83]</td><td></td></tr><tr><td>A10</td><td>: 56 mm</td><td>[43 - 65]</td><td></td></tr><tr><td>A20</td><td>: 61 mm</td><td>[50 - 71]</td><td></td></tr><tr><td>MCF</td><td>: 62 mm</td><td>[50 - 72]</td><td></td></tr><tr><td>ML</td><td>: 31 %</td><td>[0 - 15]</td><td></td></tr><tr><td>LI30</td><td>: 99 %</td><td>[94 - 100]</td><td></td></tr><tr><td>LI45</td><td>: 92 %</td><td></td><td></td></tr></table>	EXTEM [default]		190220		RT:	03:00:00	ST:	2019	CT	: 71 s	[38 - 79]		CFT	: 82 s	[34 - 159]		α	: 73 °	[63 - 83]		A10	: 56 mm	[43 - 65]		A20	: 61 mm	[50 - 71]		MCF	: 62 mm	[50 - 72]		ML	: 31 %	[0 - 15]		LI30	: 99 %	[94 - 100]		LI45	: 92 %		
EXTEM [default]		190220																																													
RT:	03:00:00	ST:		2019																																											
CT	: 71 s	[38 - 79]																																													
CFT	: 82 s	[34 - 159]																																													
α	: 73 °	[63 - 83]																																													
A10	: 56 mm	[43 - 65]																																													
A20	: 61 mm	[50 - 71]																																													
MCF	: 62 mm	[50 - 72]																																													
ML	: 31 %	[0 - 15]																																													
LI30	: 99 %	[94 - 100]																																													
LI45	: 92 %																																														
Протромбин по Квику, % Prothrombin Quick test, %	95	70–130																																													
МНО INR	1,04	0,85–1,35																																													
Активность FVII, % Factor VII plasma activity, %	66,8	70–120																																													
EXTEM _{CT} , с EXTEM _{CT} , s	71	38–79																																													
12 часов после операции 12 h after operation																																															
АЧТВ, с aPTT, s	31	34–41	 <table><tr><th colspan="2">EXTEM [default]</th><th colspan="2">190220</th></tr><tr><th>RT:</th><th>02:46:04</th><th>ST:</th><th>2019</th></tr><tr><td>CT</td><td>: 116 s</td><td>[38 - 79]</td><td></td></tr><tr><td>CFT</td><td>: 77 s</td><td>[34 - 159]</td><td></td></tr><tr><td>α</td><td>: 74 °</td><td>[63 - 83]</td><td></td></tr><tr><td>A10</td><td>: 57 mm</td><td>[43 - 65]</td><td></td></tr><tr><td>A20</td><td>: 62 mm</td><td>[50 - 71]</td><td></td></tr><tr><td>MCF</td><td>: 62 mm</td><td>[50 - 72]</td><td></td></tr><tr><td>ML</td><td>: 35 %</td><td>[0 - 15]</td><td></td></tr><tr><td>LI30</td><td>: 98 %</td><td>[94 - 100]</td><td></td></tr><tr><td>LI45</td><td>: 89 %</td><td></td><td></td></tr></table>	EXTEM [default]		190220		RT:	02:46:04	ST:	2019	CT	: 116 s	[38 - 79]		CFT	: 77 s	[34 - 159]		α	: 74 °	[63 - 83]		A10	: 57 mm	[43 - 65]		A20	: 62 mm	[50 - 71]		MCF	: 62 mm	[50 - 72]		ML	: 35 %	[0 - 15]		LI30	: 98 %	[94 - 100]		LI45	: 89 %		
EXTEM [default]		190220																																													
RT:	02:46:04	ST:		2019																																											
CT	: 116 s	[38 - 79]																																													
CFT	: 77 s	[34 - 159]																																													
α	: 74 °	[63 - 83]																																													
A10	: 57 mm	[43 - 65]																																													
A20	: 62 mm	[50 - 71]																																													
MCF	: 62 mm	[50 - 72]																																													
ML	: 35 %	[0 - 15]																																													
LI30	: 98 %	[94 - 100]																																													
LI45	: 89 %																																														
Протромбин по Квику, % Prothrombin Quick test,	68	70–130																																													
МНО INR	1,23	0,85–1,35																																													
Активность FVII, % Factor VII plasma activity, %	39,4	70–120																																													
EXTEM _{CT} , с EXTEM _{CT} , s	116	38–79																																													

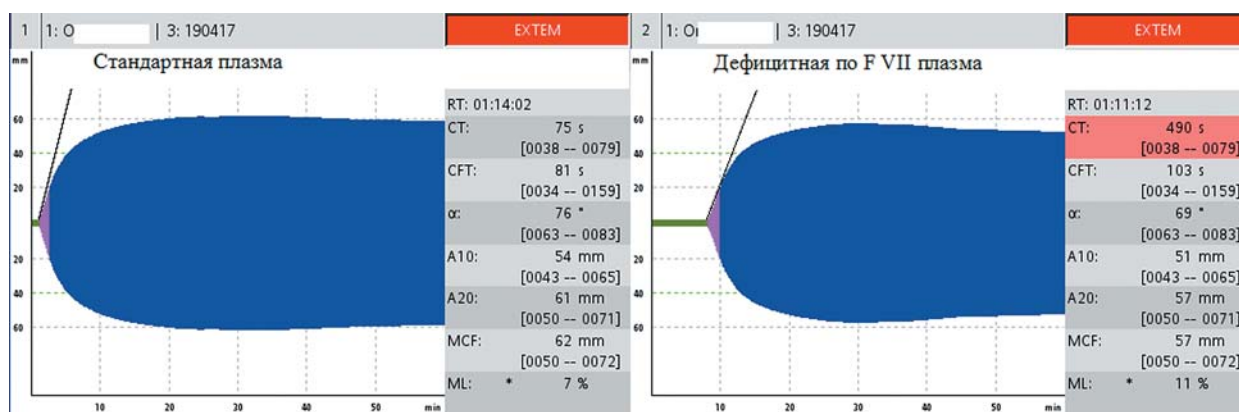


Рисунок 4. Изменения CT в EXTEM в смеси крови больного гипопроконвертинемией со стандартной плазмой (нормализация CT) и плазмой, дефицитной по FVII (сохраняется удлинение CT)

Figure 4. Changes of $EXTEM_{CT}$ in the mixture of patient's blood with standard plasma (CT normalization) and with coagulation factor deficient plasma in hypoproconvertinemia

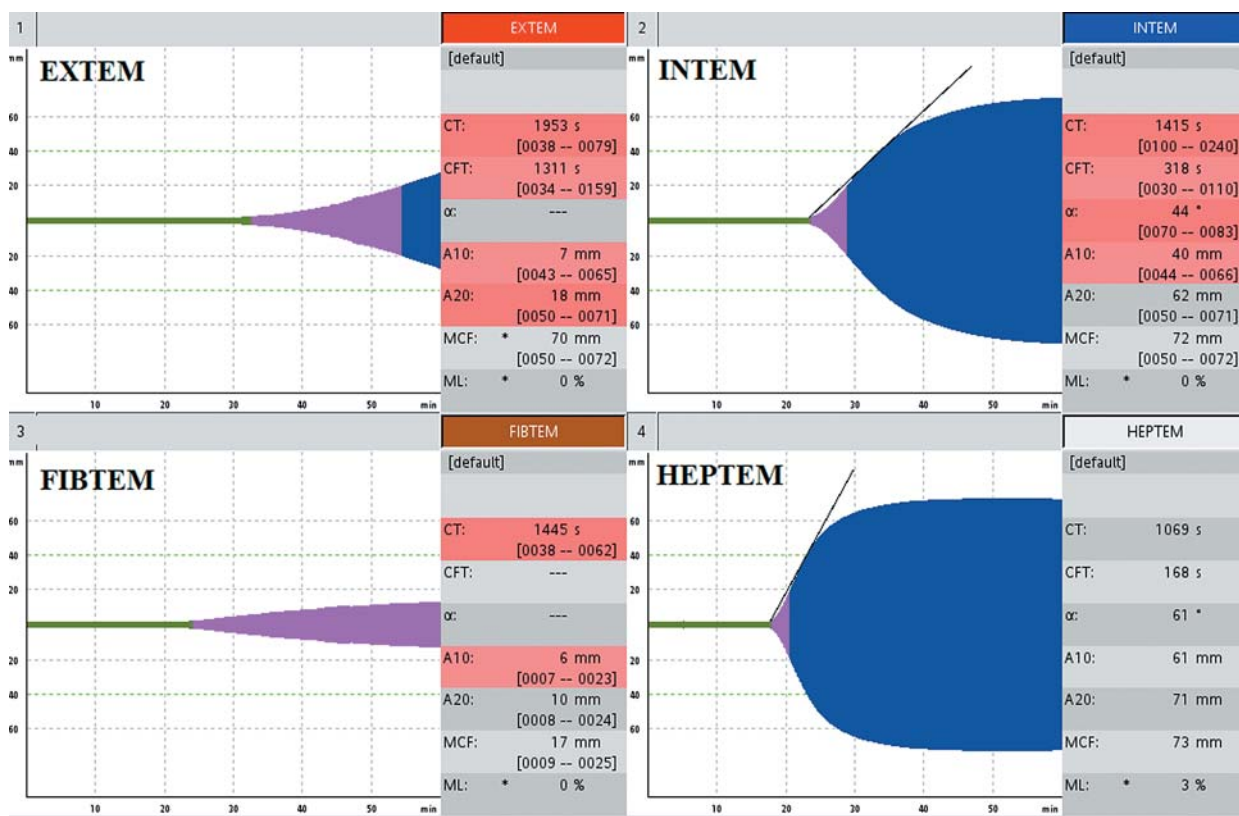


Рисунок 5. РОТЕМ у больной с дефицитом FV: удлинение $EXTEM_{CT}$ и $INTEM_{CT}$, нормальный $FIBTEM_{MCF}$, отсутствует нормализация CT в тесте HEPTM

Figure 5. ROTEM patterns of patient with factor V deficiency: prolonged $EXTEM_{CT}$ and $INTEM_{CT}$, normal $FIBTEM_{MCF}$, the lack of CT normalization in HEPTM test

(удлинение $EXTEM_{CT}$ до 116 с), хотя активность FVII в плазме была при этом 39 %, а МНО 1,23.

Таким образом, использование РОТЕМ позволило контролировать гемостаз во время операции и в послеоперационном периоде и принять решение о повторном введении rFVIIa.

Диагностика дефицита FV

Больная Д., 18 лет, врожденный дефицит FV у нее был выявлен в возрасте 7 лет. Геморрагический синдром проявляется маточными кровотечениями, гематомами различной локализации (плазменная активность FV 0,5 %, АЧТВ 200 с, протромбин по Квику 10,7 %). В тесте EXTEM выявлено удлинение CT

до 1953 с (норма до 79 с), в тесте INTEM — удлинение CT до 1415 с (норма до 240 с). Показатель $FIBTEM_{MCF}$ 17 мм позволил исключить дефицит фибриногена. Сохраняющееся удлинение CT до 1069 с в тесте HEPTM позволило исключить действие гепарина как причины гипокоагуляции (рис. 5).

При выполнении тестов со смесью цельной цитратной крови со стандартной плазмой интервал $EXTEM_{CT}$ укоротился до 79 с, $INTEM_{CT}$ — до 202 с, т.е. нормализовались. При выполнении тестов со смесью цельной цитратной крови с плазмой, дефицитной по FV, сохранилось патологическое удлинение $EXTEM_{CT}$ до 475 с и $INTEM_{CT}$ до 1060 с, что подтвердило дефицит FV (рис. 6).

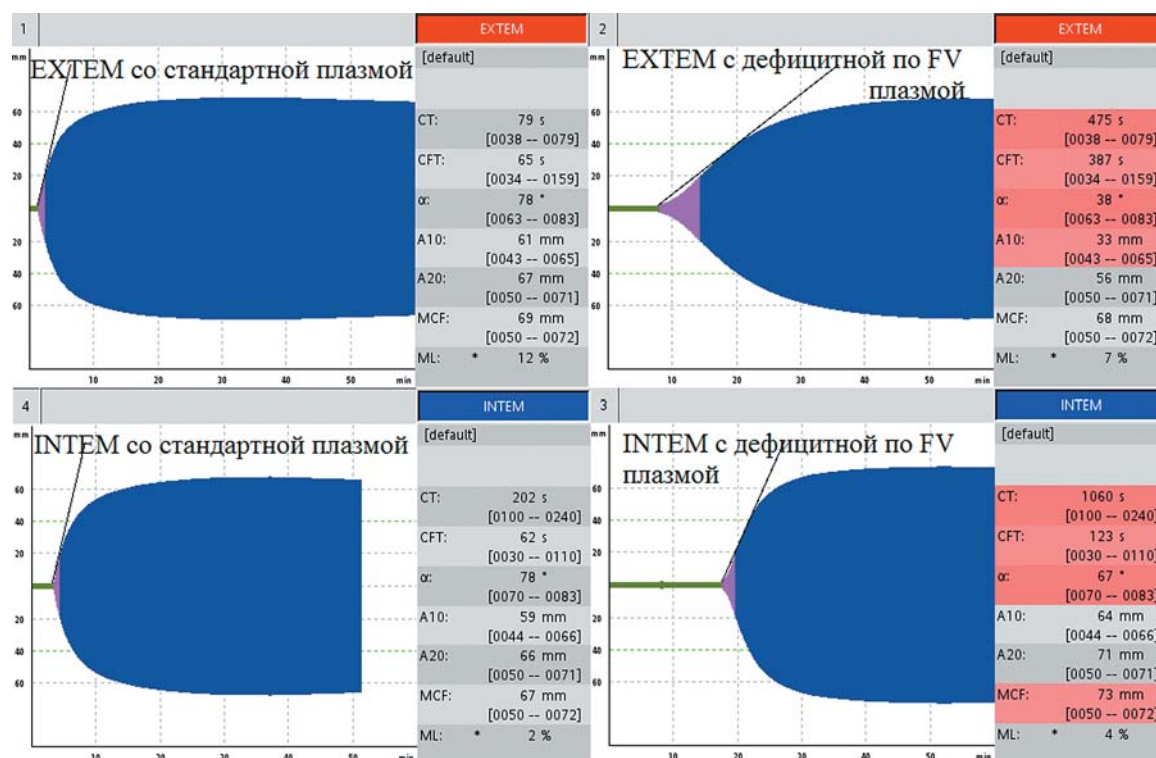


Рисунок 6. EXTEM и INTEM при постановке тестов смеси цельной крови больной с врожденным дефицитом FV со стандартной плазмой и смеси цельной крови больной с врожденным дефицитом FV с плазмой, дефицитной по FV: нормализация CT в смеси со стандартной плазмой и сохраняется гипокоагуляция в смеси с дефицитной плазмой
Figure 6. EXTEM and INTEM data for a mixture of whole blood collected from a patient with congenital FV deficiency and standard plasma, as well as for a mixture of whole blood collected from a patient with congenital FV and plasma deficient in FV: CT normalization in the mixture with standard plasma and persisting hypocoagulation in the mixture with deficient plasma

Оценка эффективности гемостатической терапии у больной с дефицитом FV

Больной И., 21 года, с врожденным дефицитом FV (плазменная активность FV 0,5 %) была выполнена имплантация венозной порт-системы. Коррекция гипокоагуляции проводилась трансфузией свежезамороженной плазмы (СЗП) и концентратом тромбоцитов. В таблице 2 представлены основные коагулологические показатели и результаты тромбоэластометрии до и после заместительных трансфузий. Особенностью данного клинического примера являлось то, что у больной в анамнезе были эпизоды венозных тромбозов после лечения СЗП. Поэтому основной задачей лечения было компенсировать гипокоагуляцию таким образом, чтобы избежать гиперкоагуляции. До операции отмечалось выраженное удлинение EXTEM_{CT} до 484 с (норма до 79 с). После трансфузии СЗП и концентрата тромбоцитов у больной уменьшился EXTEM_{CT} до 116 с, активность FV в плазме стала 19,5 %, МНО — 1,58 (табл. 2). Установлена порт-система без осложнений.

Пример 5. Диагностика дефицита FVIII

Больному А., 32 лет, диагноз гемофилия А был установлен в детском возрасте. В анамнезе отмечались рецидивирующие гемартрозы, кровотечения после экстракции зубов. Плазменная активность FVIII составляла 0,7–1,5 %. При настоящем обследовании в результате профилактической гемостатической терапии концентратом FVIII: АЧТВ 57 с, протромбин по Квику 110 %, фибриноген 2,4 г/л, активность FVIII 11 %. При обследовании в соот-

ветствии с алгоритмом диагностики дефицита факторов свертывания с помощью РОТЭМ (рис. 1) в тесте EXTEM не выявлено отклонений от нормы, в тесте INTEM выявлено удлинение CT до 872 с (норма до 240 с) (рис. 7).

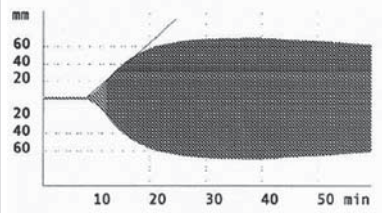
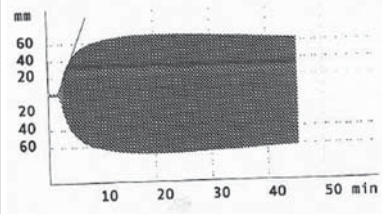
Сохранение гипокоагуляции в тесте НЕРТЕМ исключило влияние гепарина (рис. 7). При выполнении теста INTEM со стандартной плазмой и плазмой, дефицитной по FVIII, выявлено укорочение INTEM_{CT} до 232 с в пробе со стандартной плазмой и сохранение удлинения INTEM_{CT} до 1929 с в пробе с плазмой, дефицитной по FVIII (рис. 8), что подтвердило дефицит FVIII. Дальнейшее увеличение INTEM_{CT} в пробе с дефицитной плазмой можно объяснить дилуцией и уменьшением концентрации FVIII.

Диагностика дефицита FIX

Больной И., 15 лет, с рождения возникали спонтанные внутримышечные гематомы, носовые кровотечения, гемартрозы обоих коленных суставов. Диагностирована гемофилия В, тяжелая форма (FIX <1 %). При настоящем обследовании АЧТВ 151 с, протромбин по Квику 71 %, фибриноген 2,9 г/л, плазменная активность FIX 0,5 %. При обследовании в соответствии с алгоритмом диагностики дефицита факторов свертывания (рис. 1) в тесте EXTEM не выявлено отклонений от нормы, выявлено удлинение INTEM_{CT} до 505 с (норма до 240 с) (рис. 9).

С помощью теста НЕРТЕМ было исключено действие гепарина. При исследовании цельной крови со стандартной плазмой INTEM_{CT} — 185 с, в тесте с дефицитной плазмой INTEM_{CT} — 485 с (рис. 10), что подтвердило диагноз гемофилии В.

Таблица 2. Изменения показателей после гемостатической терапии СЗП и концентратом тромбоцитов у больной с дефицитом FV
Table 2. Changes of coagulation parameters of patient with factor V deficiency after hemostatic treatment with fresh frozen plasma and platelet concentrate

До операции Before surgery			
Параметры Parameters	Значения Values	Норма Reference ranges	ТЭМограммы ROTEM patterns
АЧТВ, с aPTT, s	160	34–41	 EXTEM RT: 02:01:20 ST: 2019 CT : 484 s [38 - 79] CFT : 201 s [34 - 159] α : 56 ° [63 - 83] A10 : 54 mm [43 - 65] A20 : 68 mm [50 - 71] MCF : 69 mm [50 - 72] ML : * 29 % [0 - 15] LI30 : 100 % [94 - 100] LI45 : 93 %
Протромбин по Квику, % Prothrombin Quick test, %	11,3	70–130	
МНО INR	5,8	0,85–1,35	
Активность FVII, % Factor VII plasma activity, %	0,5	70–120	
EXTEM _{CT} , с EXTEM _{CT} , s	484	38–79	
Через 30 минут после введения СЗП и концентрата тромбоцитов 30 minutes after FFP and platelet concentrate			
АЧТВ, с aPTT, c	42,3	34–41	 EXTEM RT: 00:44:43 ST: 2019 CT : 116 s [38 - 79] CFT : 55 s [34 - 159] α : 79 ° [63 - 83] A10 : 66 mm [43 - 65] A20 : 69 mm [50 - 71] MCF : 69 mm [50 - 72] ML : * 10 % [0 - 15] LI30 : 96 % [94 - 100] LI45 : %
Протромбин по Квику, % Prothrombin Quick test, %	47,1	70–130	
МНО INR	1,58	0,85–1,35	
Активность FVII, % Factor VII plasma activity, %	19,5	70–120	
EXTEM _{CT} , с EXTEM _{CT} , s	116	38–79	

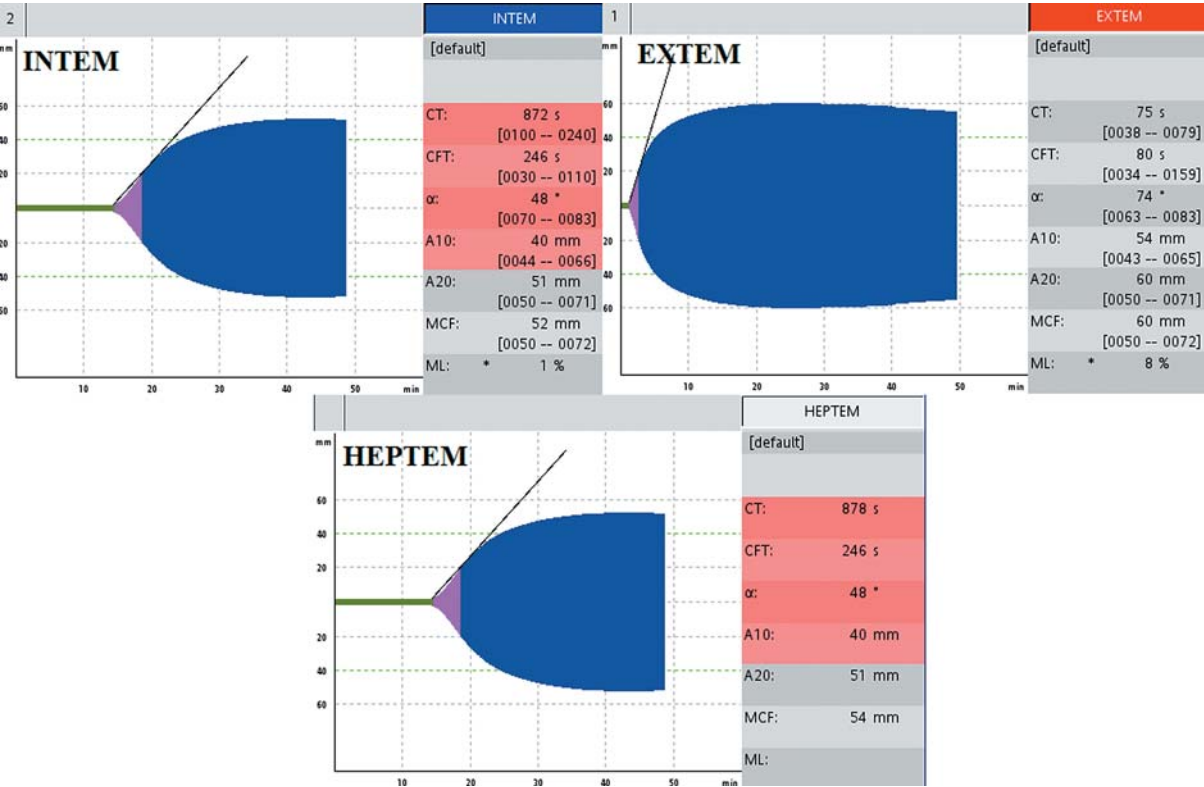


Рисунок 7. Показатели РОТЭМ больного гемофилией А: удлинение INTEM_{CT}, нормальный EXTEM_{CT}, отсутствует нормализация CT в тесте HEPTM
Figure 7. ROTEM in patient with hemophilia A: prolonged INTEM_{CT}, normal EXTEM_{CT}, the lack of CT normalization in HEPTM test

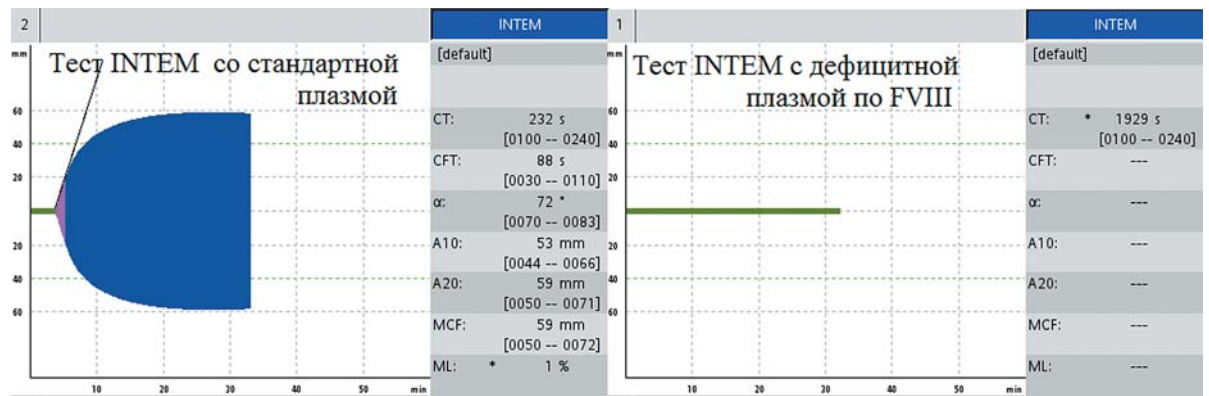


Рисунок 8. Тесты INTEM при постановке со смесью цельной крови больного гемофилией А со стандартной плазмой и смесью цельной крови больного гемофилией А и плазмой, дефицитной по FVIII: нормализация CT в смеси со стандартной плазмой и гипокоагуляция в смеси с дефицитной плазмой

Figure 8. INTEM of patient with hemophilia A in the mixture of patient's blood with standard plasma and in the mixture of patient's blood with coagulation factor VIII deficient plasma: CT normalization in the mixture with standard plasma and hypocoagulation in the mixture with coagulation factor deficient plasma

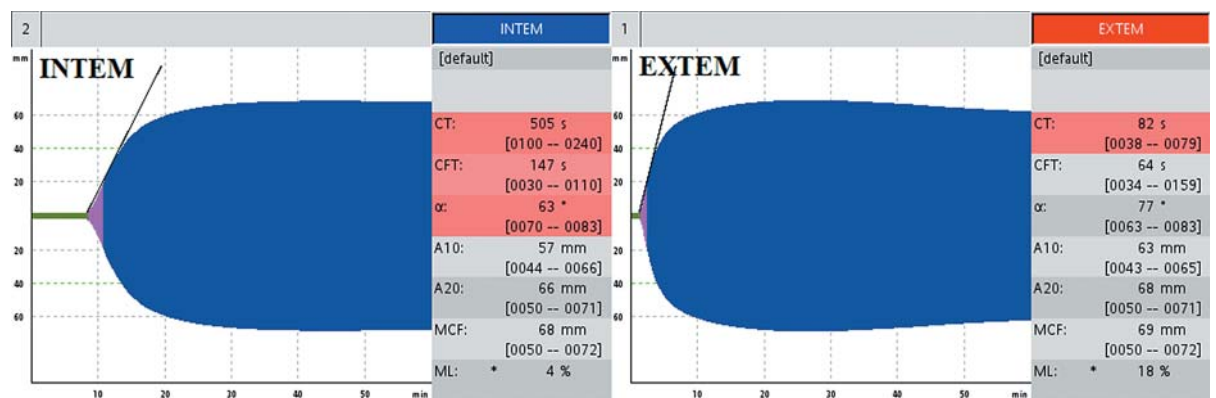


Рисунок 9. Показатели РОТЭМ у больного гемофилией В: удлинение $INTEM_{CT}$, нормальный $EXTEM_{CT}$

Figure 9. ROTEM in patient with hemophilia B: prolonged $INTEM_{CT}$, normal $EXTEM_{CT}$

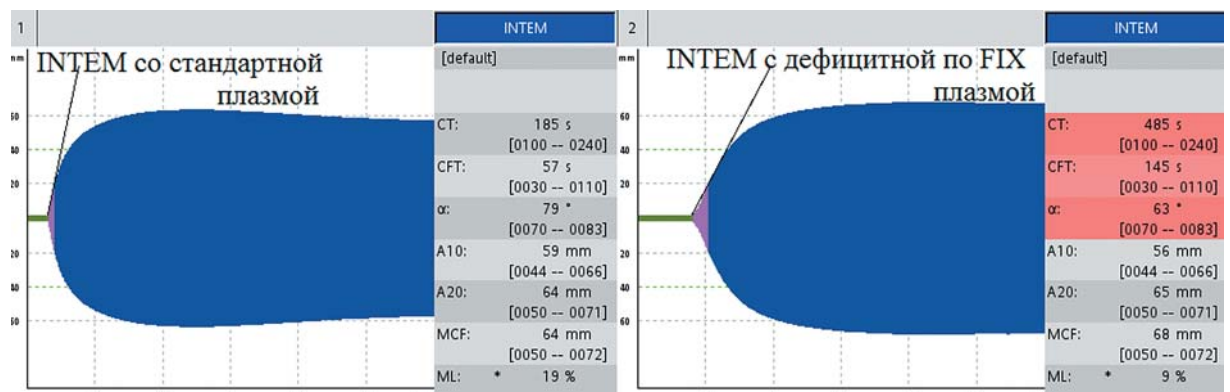


Рисунок 10. Тесты INTEM при постановке со смесью цельной крови больного гемофилией В со стандартной плазмой и смесью цельной крови больного и плазмой, дефицитной по FIX: нормализация CT в смеси со стандартной плазмой и гипокоагуляция в смеси с дефицитной плазмой

Figure 10. INTEM of patient with hemophilia B in the mixture of patient's blood with standard plasma and in the mixture of patient's blood with coagulation FIX deficient plasma: CT normalization in the mixture with standard plasma and hypocoagulation in the mixture with coagulation factor deficient plasma

Диагностика дефицита фактора свертывания XI

Больная К., 44 лет, страдает гемофилией С (дефицит XI). Жалоб на спонтанную кровоточивость не предъявляла, считала себя здоровой. Диагноз был установлен при обследовании перед хирургическим вмешательством: АЧТВ удлинено до 90 с, протромбин по Квику 92 %, фибриноген 3,3 г/л, активность FXI составила 0,7 %. При обследовании в соответствии с алгоритмом

диагностики дефицита факторов свертывания (рис. 1) в тесте EXTEM не выявлено отклонений от нормы, выявлено удлинение $INTEM_{CT}$ до 472 с (норма до 240 с).

С помощью теста НЕРТЕМ было исключено действие гепарина. При исследовании цельной крови больной со стандартной плазмой $INTEM_{CT}$ составил 203 с, в то время как в тесте с дефицитной плазмой $INTEM_{CT}$ — 637 с (рис. 12), что подтвердило наличие дефицита FXI как причины гипокоагуляции.

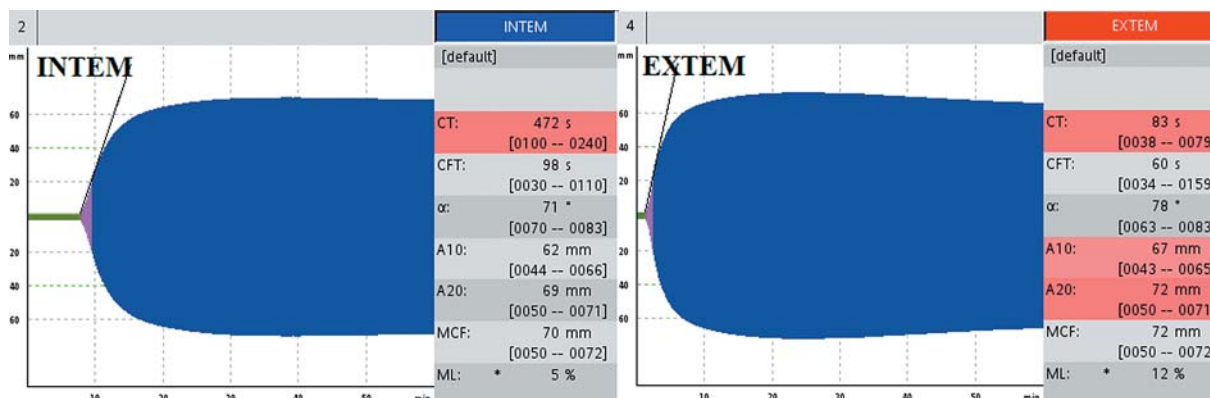


Рисунок 11. Показатели РОТЭМ у больной гемофилией C: удлинение $INTEM_{CT}$, нормальный $EXTEM_{CT}$
Figure 11. ROTEM in patient with hemophilia C: prolonged $INTEM_{CT}$, normal $EXTEM_{CT}$

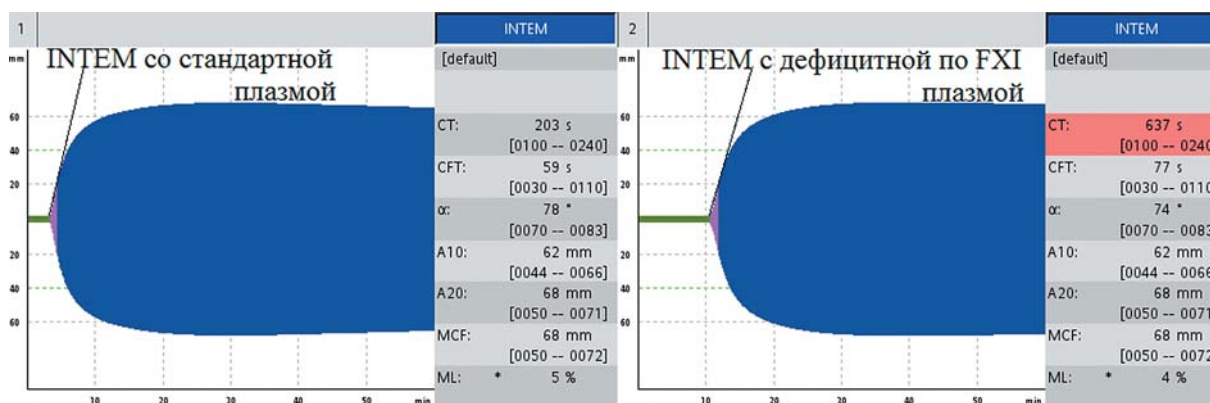


Рисунок 12. INTEM при постановке тестов со смесью цельной крови больной гемофилией C со стандартной плазмой и смеси цельной крови больной гемофилией C и плазмой, дефицитной по FXI: нормализация CT в смеси со стандартной плазмой и гипокоагуляция в смеси с дефицитной плазмой

Figure 12. INTEM of patient with hemophilia C in the mixture of patient's blood with standard plasma and in the mixture of patient's blood with coagulation FXI deficient plasma: CT normalization in the mixture with standard plasma and hypocoagulation in the mixture with coagulation factor deficient plasma

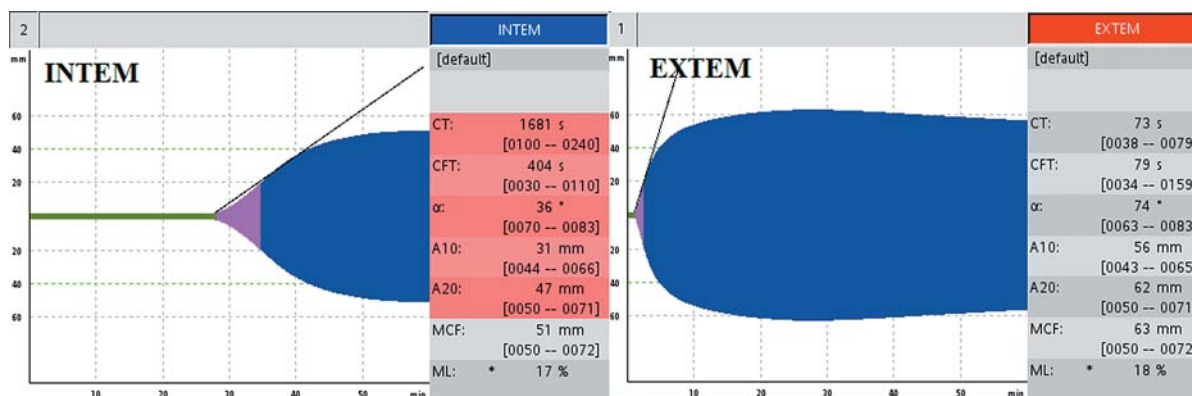


Рисунок 13. Показатели РОТЭМ у больной болезнью Хагемана (дефицит FXII): удлинение $INTEM_{CT}$, нормальный $EXTEM_{CT}$
Figure 13. ROTEM in patient with Hageman's disease (factor XII deficiency): prolonged $INTEM_{CT}$, normal $EXTEM_{CT}$

Диагностика дефицита FXII

Больная Д., 47 лет, страдает болезнью Хагемана (дефицит FXII). Заболевание впервые диагностировано в возрасте 37 лет, когда накануне оперативного вмешательства было выявлено удлинение АЧТВ до 86 с, активность FXII составляла менее 1 %. В соответствии с алгоритмом диагностики дефицита факторов свертывания (рис. 1) в тесте EXTEM не выявлено отклонений от нормы, выявлено удлинение $INTEM_{CT}$ до 1681 с (норма до 240 с) (рис. 13).

С помощью теста НЕРТЕМ было исключено действие гепарина. При исследовании цельной крови больной со стандартной плазмой $INTEM_{CT}$ нормализовался — 243 с, в то время как в тесте с плазмой, дефицитной по FXII, $INTEM_{CT}$ остался удлиненным — 694 с (рис. 14), что подтвердило дефицит FXII.

Оценка эффективности гемостатической терапии у больного с врожденным дефицитом FXII

Больному В., 54 лет, с диагнозом болезнь Хагемана, выполнено эндопротезирование коленного сустава.

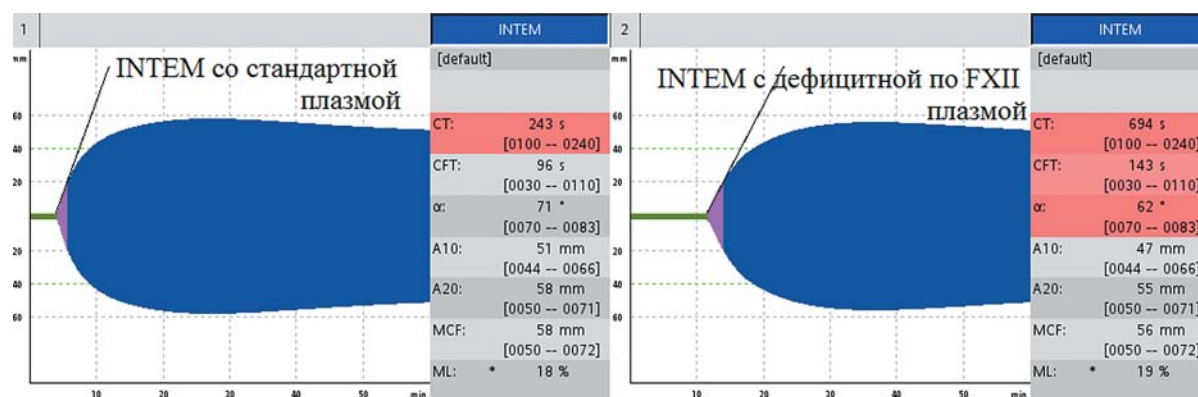


Рисунок 14. INTEM при постановке тестов со смесью цельной крови больной с дефицитом FXII со стандартной плазмой и смесью цельной крови плазмой, дефицитной по FXII: нормализация CT в смеси со стандартной плазмой и гипокоагуляция в смеси с дефицитной плазмой

Figure 14. INTEM of patient with factor XII deficiency in the mixture of patient's blood with standard plasma and in the mixture of patient's blood with coagulation FXII deficient plasma: CT normalization in the mixture with standard plasma and hypocoagulation in the mixture with coagulation factor deficient plasma

До операции в коагулограмме: АЧТВ 164 с, концентрация фибриногена 3,8 г/л; протромбин по Квику 90 %, МНО 1,06; плазменная активность FXII 1 %. При исследовании методом РОТЭМ цельной крови удлинение INTEM_{CT} 933 с (рис. 15).

После трансфузии СЗП в коагулограмме АЧТВ сократилось до 45 с. При исследовании методом РОТЭМ после терапии СЗП уменьшился до нормальных значений INTEM_{CT} 193 с (рис. 16). В послеоперационном периоде каких-либо геморрагических и тромботических осложнений не наблюдалось.

Обсуждение

К наследственным (врожденным) коагулопатиям относятся моногенные коагулопатии, которые вызваны дефицитом плазменных белков, участвующих в гемостазе [23]. Наиболее распространенным заболеванием в этой группе является гемофилия, редкие наследственные коагулопатии включают дефицит FI, FII, FV, FVII, FX, FXI, FXII. Причиной их развития является, как правило, рецессивное наследование уникального или редких нуклеотидных изменений в генах, кодирующих коагуляционные факторы, или в белках, необходимых для посттрансляционных модификаций данных факторов. Эти заболевания наиболее распространены в этнических группах, в которых приняты близкородственные браки, вследствие вероятности гомозиготного носительства дефекта гена [23]. До недавнего времени описания редких коагулопатий состояли из исследований случай-контроль или малочисленных когортных исследований. Однако в последние годы появилось несколько специфических регистров. К ним можно отнести регистр Европейской сети редких геморрагических заболеваний (European Network of the Rare Bleeding Disorders) [24], североамериканский регистр [25], английский (UKHDCO, www.ukhdc.org), итальянский (<http://www.aiceonline.it>), швейцарский (www.aekreg.ch), бразильский и международный (<http://www.factorxi.org>) регистры [26, 27]. Инцидентность этих редких врожденных коагулопатий

колеблется от 1 : 500 000 до 1 : 2 000 000 населения [26]. Даже среди остальных врожденных коагулопатий редкие нарушения свертывания крови встречаются нечасто. По данным итальянского регистра [28], в который в 2016 г. было включено 10 300 больных орфанными нарушениями свертывания крови, а именно гемофилией, болезнью Виллебранда и дефицитом отдельных факторов свертывания, больные с дефицитом отдельных факторов составляли всего 2093 человека, или 20,2 %.

В настоящей работе разработан алгоритм диагностики дефицита FV, FVII, FXI, FXII.

При тяжелой форме дефицита FV (болезнь Оверена) у больных обнаруживают удлинение ПВ и АЧТВ. Удлинение времени в обоих тестах связано с тем, что FV входит в состав протромбиназного комплекса общего пути свертывания, который катализирует превращение тромбина из протромбина. Диапазон нормальных значений плазменной активности FVII составляет 70–120 % [22, 29, 30].

При дефиците FVII, или гипопроконвертинемии, спонтанные кровотечения встречаются редко. Заболевание у мужчин часто протекает бессимптомно, у женщин проявляется обильными менометроррагиями, геморрагический синдром может проявиться при травме или хирургических вмешательствах [29]. Диагностика основана на результатах определения плазменной активности FVII, диапазон нормальных значений которой составляет 70–120 %. При гипопроконвертинемии выраженность клинических проявлений слабо коррелирует с выраженностью дефицита FVII [31], а при проведении заместительной терапии rFVIIa лабораторные тесты (АЧТВ, ПВ, плазменная активность FVII) не коррелируют с его гемостатическим эффектом [32].

При дефиците FVIII (гемофилия А) отмечается снижение плазменной активности FVIII и удлинение АЧТВ при сохранении других показателей в пределах нормальных значений. Для тяжелой формы гемофилии А характерно снижение активности FVIII менее 1 %,

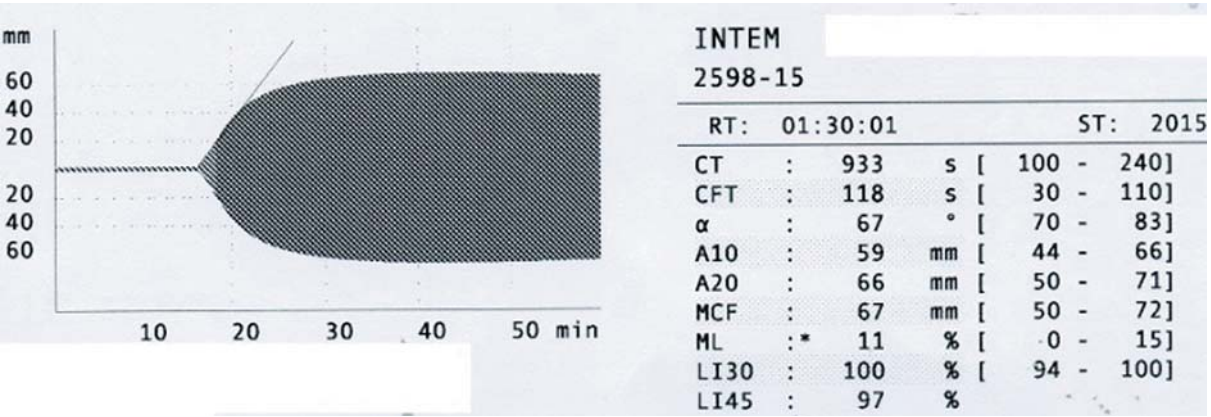


Рисунок 15. INTEM_{CT} у больного болезнью Хагемана до начала гемостатической терапии
Figure 15. INTEM_{CT} in patient with Hageman’s disease before hemostatic treatment

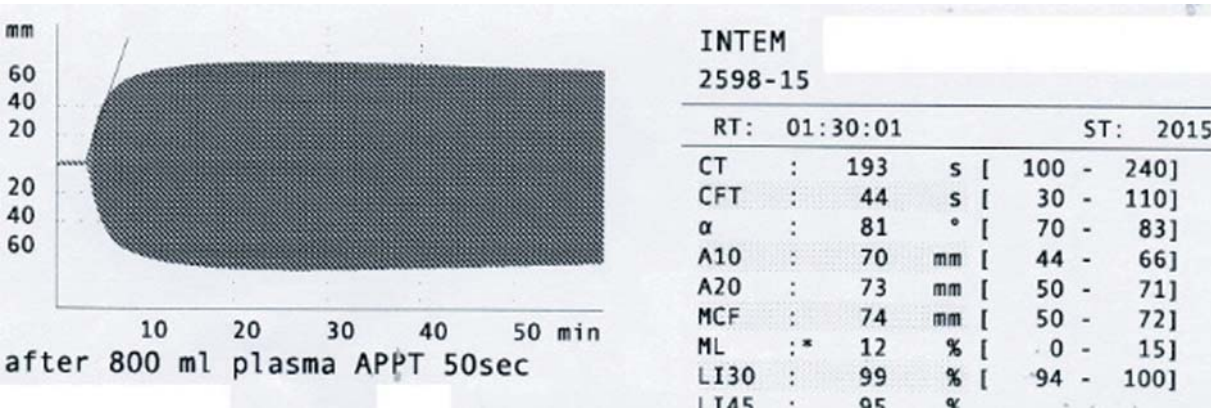


Рисунок 16. Нормализация INTEM_{CT} у больного болезнью Хагемана после трансфузии СЗП
Figure 16. INTEM_{CT} normalization in patient with Hageman’s disease after FFP transfusion

для средней степени тяжести 1–5 %, для легкой степени тяжести >5 % [23].

При дефиците *FIX* (гемофилия В) отмечается снижение плазменной активности *FIX* и удлинение АЧТВ. Диапазон нормальных значений плазменной активности *FIX* составляет 50–120 %. Для тяжелой формы гемофилии В характерно снижение активности *FIX* менее 1 %, для средней степени тяжести 1–5 %, для легкой степени тяжести >5 % [23].

При дефиците *FXI* (гемофилия С) геморрагический синдром редко возникает спонтанно, как правило, после хирургических манипуляций, травм. Диапазон нормальных значений плазменной активности *FXI* составляет 70–120 %. Диагноз устанавливается на основании удлинения АЧТВ и сниженной плазменной активности *FXI* [29].

FXII (фактор Хагемана) активирует *FXI*, который затем триггирует фактор IX и приводит к тромбин-опосредованному образованию фибрина [33]. Однако ведущая физиологическая роль *FXII* — участие в процессах фибринолиза. Поэтому дефицит *FXII* рассматривается как протромботическое состояние. В то время как геморрагические проявления случаются редко, обычно при инвазивных вмешательствах

или операциях, нарушения гемостаза часто обнаруживают случайно при предоперационном скрининге. Диапазон нормальных значений плазменной активности *FXI* составляет 70–120 % [29]. Удлинение АЧТВ регистрируется при снижении активности *FXII* в плазме крови ниже 42,5 % [34].

В основу методов определения активности факторов свертывания крови положено проведение тестов (*FII*, *FV*, *FVII*, *FX*) и/или АЧТВ (*FVIII*, *FIX*, *FXI*, *FXII*) в разбавленном исследуемом образце. При этом снижение активности факторов свертывания компенсируют внесением в инкубационную среду субстратной плазмы, не содержащей соответствующего фактора, но имеющей полноценную активность других факторов свертывания. Таким образом, активность анализируемых факторов в исследуемом образце оказывается единственной неизвестной величиной, определяющей скорость процесса свертывания. Количественное определение активности факторов проводят по калибровочному графику разведений плазмы-калибратора с аттестованной активностью соответствующего фактора [35].

Распространенным способом определения дефицита факторов свертывания является одностадийный клоттинговый метод исследования с использованием суб-

стратных (дефицитных) образцов плазмы, лишенных одного из факторов свертывания крови [36]. Принцип метода заключается в определении промежутка времени после добавления стартового реактива, запускающего каскад свертывания плазмы по внутреннему или внешнему пути, в смесь субстратной (дефицитной) плазмы, в которой отсутствует исследуемый фактор, и исследуемой плазмы больного. Степень коррекции зависит от активности исследуемого фактора свертывания, поскольку активность других факторов свертывания в этой системе в норме. Активность дефицитного фактора в исследуемой плазме определяют по кривой разведения.

Двухстадийный клоттинговый метод определения активности факторов свертывания крови не требует использования субстратной дефицитной плазмы и не зависит от наличия активированного фактора свертывания в исследуемом образце [37].

Хромогенный метод определения активности факторов свертывания крови рекомендуется использовать только как ориентировочный и предпочтительный для оценки концентратов факторов свертывания, а не с диагностическими целями [35].

Концентрация факторов может также определяться иммуноферментным методом.

С помощью линейной регрессии показано [24], что имеется сильная ассоциация между выраженностью геморрагического синдрома и сниженной активностью FII и слабая ассоциация между выраженностью дефицита FV и FVII и клиническими проявлениями кровоточивости. Минимальная концентрация факторов, ниже которой у больных возникал геморрагический синдром, составила для фибриногена 1 г/л, для FV — 12 ед/дл, FVII — 25 ед/дл, FXI — 26 ед/дл, FXII — 31 ед/дл, а концентрация факторов в плазме крови, которая соответствует выраженному геморрагическому синдрому, составляет <10 ед/дл для FVII, <25 ед/дл для FXI, а для факторов свертывания FI, FV и FXII выраженный геморрагический синдром возникает, когда их концентрация в крови не определяется вообще [24].

Более того, ни один из вышеперечисленных методов нельзя отнести к методам *point-of-care*. Во многих стационарах нет условий, оборудования и специалистов для исследования активности факторов свертывания. В результате при выявлении нарушений в системе гемостаза, особенно если до обследования не известен диагноз, отменяются или откладываются инвазивные вмешательства либо лечение проводится без установленного диагноза и может оказаться неэффективным [38]. В то же время согласно приказу Министерства здравоохранения РФ от 15 ноября 2012 г. № 919н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи взрослому населению по профилю “анестезиология и реаниматология”» в стандарт оснащения отделения анестезиологии-реанимации с палатами ре-

анимации и интенсивной терапии входит тромбоэластограф или тромбоэластометр. В литературе описаны попытки использовать глобальные тесты исследования гемостаза для диагностики дефицита отдельных факторов свертывания [30]. Но большинство из них относится к применению теста генерации тромбина [39–41] и лишь единичные — к применению тромбоэластометрии [42].

Белорусские исследователи [43] изучили параметры тромбоэластометрии во время операции трансплантации печени, при которых отмечались изменения в крови содержания факторов свертывания (фибриногена, FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI, FXII). Авторы [43] отметили, что наибольшей диагностической эффективностью обладали следующие параметры: EXTEM_{CT} >80 с и INTEM_{CT} >240 с. Чувствительность изменения EXTEM_{CT} составила всего 19 %, т.е. по данным тромбоэластометрии восполнение дефицита факторов будет проводиться лишь в каждом пятом случае, когда имеются показания согласно общепринятым рекомендациям (МНО >2,0). Чувствительность изменения INTEM_{CT} составила 51 %. Однако авторы [43] не пытались по параметрам ROTЭМ дифференцировать дефицит отдельных факторов крови, а лишь оценивали их изменения в совокупности. Кроме того, в этом исследовании дефицит факторов был невыраженный, минимально факторы снижались через 15 минут после реперфузии (медианы FII 44 %, FV 17 %, FVII 29 %, FIX 59 %, FX 39 %, FXI 56 %, FXII 66 %), т.е. их содержание было значительно больше, чем у больных с врожденным дефицитом, чем можно объяснить низкую чувствительность тестов.

Оценить возможность использования ROTЭМ для диагностики дефицита FV попытались Т. Наас и соавт. [44]. Авторы смешивали плазму, дефицитную по FV, с нормальной человеческой плазмой (активность FV 96 %) в разных пропорциях, чтобы получить плазму с активностью фактора 0, 10, 16, 25, 50 и 100 %. Затем исследовали каждое из разведений плазмы на ROTЭМ, чтобы оценить влияние разного количества фактора на СТ. Низкая активность FV ассоциировалась с удлинением СТ. Уменьшение активности FV со 100 до 25 % сопровождалось удлинением СТ лишь с 50 до 65 с, но при уменьшении активности FV менее 10 % период СТ удлинялся до 140 с и более.

Эти данные согласуются с результатами, полученными нами в настоящем исследовании: при смешивании цельной крови больного с дефицитом FV с дефицитной по FV плазмой сохранялось удлинение СТ, а при смешивании с нормальной плазмой происходила нормализация СТ.

Л. Spiezia и соавт. [42] исследовали возможность использования ROTЭМ для выявления нарушений гемостаза у 9 больных с дефицитом FV, используя для этого их цельную кровь и бедную тромбоцитами плазму. При постановке тестов с цельной кровью они выявили значимое удлинение СТ в трех стандартных тестах

(INTEM, EXTEM, FIBTEM), в то время как показатель CFT был удлинен только в тесте INTEM и был неизмеряемым в тесте FIBTEM. При исследованиях *in vitro* с плазмой больных с дефицитом FV, бедной тромбоцитами, авторы выявили удлинение СТ и укорочение MCF в тестах INTEM, EXTEM и FIBTEM по сравнению с аналогичными показателями, выполненными с бедной тромбоцитами плазмой здоровых людей. Добавление при пробоподготовке к обоим образцам бедной тромбоцитами плазмы тромбоцитов больных либо тромбоцитов здоровых людей приводило к укорочению СТ, которое было более выражено при использовании тромбоцитов здоровых людей, причем СТ больше сокращался в EXTEM, чем в INTEM. Полученный эффект связан с тем, что 20 % всего пула FV хранится в α -гранулах тромбоцитов в частично активированной форме [45]. Аналогичные изменения на РОТЭМ зафиксировано было и в настоящей работе после трансфузии СЗП и концентрата тромбоцитов у больной с дефицитом фактора V при установке порт-системы.

Однако в работах по изучению влияния дефицита FV на показатели РОТЭМ исследователи не предлагали непосредственно методику диагностики дефицита фактора на основе РОТЭМ и не использовали ее для оценки эффективности и безопасности терапии. Особенностью представленного в настоящей работе клинического примера лечения больной дефицитом FV являлось то, что у больной в анамнезе были эпизоды венозных тромбозов после трансфузии свежезамороженной плазмы. Поэтому основной задачей лечения было компенсировать гипокоагуляцию таким образом, чтобы избежать гиперкоагуляции, сохраняя умеренную гипокоагуляцию, которая позволила бы выполнить оперативное вмешательство.

В нашем исследовании РОТЭМ использовали для диагностики и контроля за гемостатической терапией rFVIIa во время оперативного вмешательства у больной гипопроконвертинемией. В литературе мало сообщений об использовании вискоэластичных методов у больных гипопроконвертинемией. Н.Т.Т. Tran и соавт. [46] обследовали с помощью модифицированных тестов РОТЭМ 12 больных с плазменной активностью FVII <1 %. Как и в нашем исследовании, они выявили двукратное удлинение СТ в тесте с тканевым фактором (аналог теста EXTEM) по сравнению со здоровым контролем, при этом параметр MCF между группами не различался.

Описаны изменения РОТЭМ у больных гемофилией A и B [47], причем изменения параметров INTEM коррелируют с тяжестью гемофилии и выраженностью дефицита FVIII. Более того, отмечается, что использование вискоэластичных методов позволяет подобрать индивидуально дозы дефицитных факторов [47].

Данные по влиянию дефицита FXI фактора на INTEM были получены D. Dirkmann и соавт. [48]. Авторы использовали ROTEM для оценки влияния

дефицита FXI на коагуляцию у пятилетней девочки с врожденным тяжелым дефицитом FXI, у которой отмечалось удлинение АЧТВ до 65–99 с, МНО составило 0,98, концентрация фибриногена плазмы — 3,5 г/л, плазменная активность FXI — 2 %. При обследовании с помощью РОТЭМ у нее были нормальные значения EXTEM_{СТ} и более чем в три раза увеличен показатель INTEM_{СТ} (776 с). При добавлении *in vitro* rFVIIa к пробе крови в концентрациях от 0,25 до 1 мкг/мл, что соответствует концентрации препарата в крови при внутривенном введении в дозе 15–70 мкг/кг массы тела. Было показано, что доза концентрации в крови 0,5 мкг/мл (что соответствует внутривенному введению rFVIIa в дозе 30 мкг/кг массы тела) столь же эффективно нормализовала параметр INTEM_{СТ}, как и концентрация 1 мкг/мл [49]. Имеется сообщение об использовании ROTEM для мониторинга терапии малыми дозами rFVIIa у больных с тяжелым дефицитом FXI при хирургических вмешательствах [49]. В нашем исследовании дефицит FXI проявлялся удлинением INTEM_{СТ}, которое компенсировалось при добавлении стандартной плазмы в пробирку.

В литературе имеются лишь единичные сообщения о применении тромбоэластографии для диагностики изолированного дефицита FXII и мониторинга проводимой терапии у людей [50, 51] и животных [52]. Помимо того что при этом заболевании выявляется гипокоагуляция, дефицит FXII рассматривается как протромботическое состояние, ввиду того что FXII участвует в процессах фибринолиза. Преимущество использования РОТЭМ заключается в том, что, не измеряя непосредственно активности факторов, метод позволяет не только диагностировать нарушения гемостаза, но и контролировать эффективность и безопасность гемостатической терапии. Он позволяет дозировать гемостатическую терапию таким образом, чтобы удерживаться в «терапевтическом окне», в котором достигается приемлемый гемостаз, и в то же время не возникает гиперкоагуляция. Переход из состояния гипокоагуляции в гиперкоагуляцию не всегда соответствует концентрации фактора в плазме, и лучше оценивать его функционально, с помощью РОТЭМ.

Ограничения исследования. Одним из ограничений исследования является небольшая выборка больных, поскольку это редко встречающиеся нарушения свертывания крови.

Другим ограничением метода может явиться сочетанный дефицит нескольких факторов, и хотя он также встречается крайне редко, для его диагностики будет необходимо усложнить алгоритм обследования.

Наконец, третьим ограничением может явиться наличие ингибиторов к факторам свертывания, когда представленный алгоритм не будет работать, поскольку в этих условиях добавление стандартной плазмы не приведет к нормализации активности факторов свертывания.

Таким образом, с помощью РОТЭМ возможно определение дефицита отдельных факторов свертывания крови. После выявления удлинения СТ в ЕХТЕМ и/или ИНТЕМ, исключения действия гепарина и гипофибриногенемии, необходимо выполнить смешивание исследуемой свежей цитратной крови в соотношении

2:1 со стандартной плазмой и с дефицитной по одному из исследуемых факторов плазмой. Нормализация показателей РОТЭМ в пробе со стандартной плазмой и сохранение гипокоагуляции в пробе с дефицитной по фактору плазмой позволяет подтвердить дефицит фактора свертывания крови.

Литература

1. Saner F.H., Kirchner C. Monitoring and Treatment of Coagulation Disorders in End-Stage Liver Disease. *Visc Med.* 2016; 32(4): 241–8.
2. Дементьева И.И., Морозов Ю.А., Чарная М.А., Гончарова А.В. Технологии point of care в клинике неотложных состояний. Клиническая лабораторная диагностика. 2013; (7): 5–10.
3. Lang T., Bauters A., Braun S.L. et al. Multi-centre investigation on reference ranges for ROTEM thromboelastometry. *Blood coagulation & fibrinolysis: Int. J Haemost Thromb.* 2005; 16(4): 301–10.
4. Butwick A.J., Goodnough L.T. Transfusion and coagulation management in major obstetric hemorrhage. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2015; 28(3): 275–84.
5. Allard S., Green L., Hunt B.J. How we manage the haematological aspects of major obstetric haemorrhage. *Br J Haematol.* 2014; 164(2): 177–88.
6. Guasch E., Gilsanz F. Massive obstetric hemorrhage: Current approach to management. *Med Intensiva.* 2016; 40(5): 298–310.
7. Kander T., Larsson A., Taune V. et al. Assessment of Haemostasis in Disseminated Intravascular Coagulation by Use of Point-of-Care Assays and Routine Coagulation Tests, in Critically Ill Patients; A Prospective Observational Study. *PloS One.* 2016; 11(3): e0151202.
8. Wikkelsø A., Wetterslev J., Møller A.M., Afshari A. Thromboelastography (TEG) or rotational thromboelastometry (ROTEM) to monitor haemostatic treatment in bleeding patients: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Anaesthesia.* 2017; 72(4): 519–31. DOI: 10.1111/anae.13765
9. Meybohm P., Zacharowski K., Weber C.F. Point-of-care coagulation management in intensive care medicine. *Crit care.* 2013; 17(2): 218.
10. Curry N.S., Davenport R., Pavord S. et al. The use of viscoelastic haemostatic assays in the management of major bleeding. *Br J Haematol.* 2018; 182(6): 789–806.
11. Korpallova B., Samos M., Bolek T. et al. Role of Thromboelastography and Rotational Thromboelastometry in the Management of Cardiovascular Diseases. *Clin Appl Thromb Hemos.* 2018; 24(8): 1199–207.
12. Zaky A. Thromboelastometry Versus Rotational Thromboelastography in Cardiac Surgery. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* 2017; 21(3): 206–11.
13. Weber C.F., Görlinger K., Meininger D. et al. Point-of-Care Testing. *Anesthesiology.* 2012; 117(3): 531–47.
14. Görlinger K., Jambor C., Hanke A.A. et al. Perioperative Coagulation Management and Control of Platelet Transfusion by Point-of-Care Platelet Function Analysis. *Transfus Med Hemother.* 2007; 34(6): 396–411. DOI: 10.1159/000109642
15. Rugeri L., Levrat A., David J.S. et al. Diagnosis of early coagulation abnormalities in trauma patients by rotation thrombelastography. *J Thromb Haemost.* 2007; 5(2): 289–95.
16. Rizoli S., Min A., Perez Sanchez A. et al. In Trauma, Conventional ROTEM and TEG Results Are Not Interchangeable But Are Similar in Clinical Applicability. *Mil Med.* 2016; 181(5S): 117–26.
17. da Luz L.T., Nascimento B., Rizoli S. Thrombelastography (TEG®): practical considerations on its clinical use in trauma resuscitation. *Scand J Trauma, Resusc Emerg Med.* 2013; 21(1): 29.

References

1. Saner F.H., Kirchner C. Monitoring and Treatment of Coagulation Disorders in End-Stage Liver Disease. *Visc Med.* 2016; 32(4): 241–8.
2. Dementiyeva I.I., Morozov Yu.A., Tcharnaya M.A., Gontcharova A.V. The point-of-care technologies in clinic of emergency states. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2013; (7): 5–10 (In Russian).
3. Lang T., Bauters A., Braun S.L. et al. Multi-centre investigation on reference ranges for ROTEM thromboelastometry. *Blood coagulation & fibrinolysis: Int. J Haemost Thromb.* 2005; 16(4): 301–10.
4. Butwick A.J., Goodnough L.T. Transfusion and coagulation management in major obstetric hemorrhage. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2015; 28 (3): 275–84.
5. Allard S., Green L., Hunt B.J. How we manage the haematological aspects of major obstetric haemorrhage. *Br J Haematol.* 2014; 164(2): 177–88.
6. Guasch E., Gilsanz F. Massive obstetric hemorrhage: Current approach to management. *Med Intensiva.* 2016; 40(5): 298–310.
7. Kander T., Larsson A., Taune V. et al. Assessment of Haemostasis in Disseminated Intravascular Coagulation by Use of Point-of-Care Assays and Routine Coagulation Tests, in Critically Ill Patients; A Prospective Observational Study. *PloS One.* 2016; 11(3): e0151202.
8. Wikkelsø A., Wetterslev J., Møller A.M., Afshari A. Thromboelastography (TEG) or rotational thromboelastometry (ROTEM) to monitor haemostatic treatment in bleeding patients: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Anaesthesia.* 2017; 72(4): 519–31. DOI: 10.1111/anae.13765
9. Meybohm P., Zacharowski K., Weber C.F. Point-of-care coagulation management in intensive care medicine. *Crit care.* 2013; 17(2): 218.
10. Curry N.S., Davenport R., Pavord S. et al. The use of viscoelastic haemostatic assays in the management of major bleeding. *Br J Haematol.* 2018;182(6): 789–806.
11. Korpallova B., Samos M., Bolek T. et al. Role of Thromboelastography and Rotational Thromboelastometry in the Management of Cardiovascular Diseases. *Clin Appl Thromb Hemos.* 2018; 24(8): 1199–207.
12. Zaky A. Thromboelastometry Versus Rotational Thromboelastography in Cardiac Surgery. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* 2017; 21(3): 206–11.
13. Weber C.F., Görlinger K., Meininger D. et al. Point-of-Care Testing. *Anesthesiology.* 2012; 117(3): 531–47.
14. Görlinger K., Jambor C., Hanke A.A. et al. Perioperative Coagulation Management and Control of Platelet Transfusion by Point-of-Care Platelet Function Analysis. *Transfus Med Hemother.* 2007; 34(6): 396–411. DOI: 10.1159/000109642
15. Rugeri L., Levrat A., David J.S. et al. Diagnosis of early coagulation abnormalities in trauma patients by rotation thrombelastography. *J Thromb Haemost.* 2007; 5(2): 289–95.
16. Rizoli S., Min A., Perez Sanchez A. et al. In Trauma, Conventional ROTEM and TEG Results Are Not Interchangeable But Are Similar in Clinical Applicability. *Mil Med.* 2016; 181(5S): 117–26.
17. da Luz L.T., Nascimento B., Rizoli S. Thrombelastography (TEG®): practical considerations on its clinical use in trauma resuscitation. *Scand J Trauma, Resusc Emerg Med.* 2013; 21(1): 29.

18. Gonzalez E., Moore E.E., Moore H.B. Management of Trauma-Induced Coagulopathy with Thrombelastography. *Crit Care Clin.* 2017; 33(1): 119–34.
19. Abuelkasem E., Lu S., Tanaka K. et al. Comparison between thrombelastography and thromboelastometry in hyperfibrinolysis detection during adult liver transplantation. *Br J Anaesth.* 2016; 116(4): 507–12.
20. Roulet S., Labrousse S., Mouton C. et al. Lysis Timer: a new sensitive tool to diagnose hyperfibrinolysis in liver transplantation. *J Clin Pathol.* 2019; 72(1): 58–65.
21. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 13 апреля 2011 г. № 315н «Об утверждении Порядка оказания анестезиолого-реанимационной помощи взрослому населению».
22. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. 3-е изд. М.: Ньюдиамед, 2008; 292.
23. Зозуля Н.И., Свириной П.В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению редких коагулопатий: Наследственный дефицит факторов свертывания крови II, VII, X. НГО. 2014; 35: 19.
24. Peyvandi F., Palla R., Menegatti M. et al. Coagulation factor activity and clinical bleeding severity in rare bleeding disorders: Results from the European Network of Rare Bleeding Disorders. *J Thromb Haemost.* 2012; 10(4): 615–21.
25. Acharya S.S., Coughlin A., Dimichele D.M., North American Rare Bleeding Disorder Stud Group. Rare Bleeding Disorder Registry: deficiencies of factors II, V, VII, X, XIII, fibrinogen and dysfibrinogenemias. *J Thromb Haemost.* 2004; 2: 248–56.
26. Peyvandi F., Spreafico M. National and international registries of rare bleeding disorders. *Blood Transfus.* 2008; 6(Suppl. 2): 45–8.
27. Rezende S.M., Rodrigues S.H.L., Brito K.N.P. et al. Evaluation of a web-based registry of inherited bleeding disorders: A descriptive study of the Brazilian experience with HEMOVIDAweb Coagulopatias. *Orphanet J Rare Dis.* 2017; 12(1): 1–7.
28. Abbonizio F., Hassan H.J., Riccioni R. et al. New data from the Italian National Register of Congenital Coagulopathies, 2016 Annual Survey. *Blood Transfus.* 2019; 1–8.
29. Мамаев А.Н. Коагулопатии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012; 260.
30. Palla R., Peyvandi F., Shapiro A.D. Rare bleeding disorders: Diagnosis and treatment. *Blood.* 2015; 125(13): 2052–61.
31. Herrmann F.H., Wulff K., Auberger K. et al. Molecular biology and clinical manifestation of hereditary factor VII deficiency. *Semin Thromb Hemost.* 2000; 26(4): 393–400.
32. Martinowitz U., Michaelson M. Guidelines for the use of recombinant activated factor VII (rFVIIa) in uncontrolled bleeding: a report by the Israeli multidisciplinary rFVIIa task force. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(4): 640–8.
33. Simão F., Feener E.P. The effects of the contact activation system on hemorrhage. *Front Med.* 2017; 4: 1–10.
34. Bachler M., Niederwanger C., Hell T. et al. Influence of factor XII deficiency on activated partial thromboplastin time (aPTT) in critically ill patients. *J Thromb Thrombolysis.* 2019. DOI: 10.1007/s11239-019-01879-w
35. Долгов В., Свириной П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. М.–Тверь: Триада; 2005: 227.
36. Langdell R., Wagner R., Brinkhous K. Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting tests; a presumptive test for hemophilia and a simple one-stage antihemophilic factor assay procedure. *J Lab Clin Med.* 1953; 41(4): 637–47.
37. Biggs R., Eveling J., Richards G. The Assay of Antihemophilic-Globulin Activity. *Br J Haematol.* 1955; 1(1): 20–34.
38. Лубнин А.Ю., Коновалов А.Н., Ласунин Н.В. и др. Тяжелые послеоперационные интракраниальные геморрагические осложнения у нейрохирургическо-
18. Gonzalez E., Moore E.E., Moore H.B. Management of Trauma-Induced Coagulopathy with Thrombelastography. *Crit Care Clin.* 2017; 33(1): 119–34.
19. Abuelkasem E., Lu S., Tanaka K. et al. Comparison between thrombelastography and thromboelastometry in hyperfibrinolysis detection during adult liver transplantation. *Br J Anaesth.* 2016; 116(4): 507–12.
20. Roulet S., Labrousse S., Mouton C. et al. Lysis Timer: a new sensitive tool to diagnose hyperfibrinolysis in liver transplantation. *J Clin Pathol.* 2019; 72(1): 58–65.
21. The Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation of April 13, 2011 № 315n “On approval of the provision of anesthesia and resuscitation care to the adult population” (In Russian).
22. Barkagan Z.S., Momot A.P. Diagnostics and management of hemostasis disorders. 3d edition. Moscow. Newdiamed; 2008; 292:25, 103–13 (In Russian).
23. Zozulja N.I., Svirin P.V. Clinical practice guidelines for diagnostics and management of rare coagulopathy: inherited coagulation factors deficiencies. National hematology society. 2014; 35: 19 (In Russian).
24. Peyvandi F., Palla R., Menegatti M. et al. Coagulation factor activity and clinical bleeding severity in rare bleeding disorders: Results from the European Network of Rare Bleeding Disorders. *J Thromb Haemost.* 2012; 10(4): 615–21.
25. Acharya S.S., Coughlin A., Dimichele D.M., North American Rare Bleeding Disorder Stud Group. Rare Bleeding Disorder Registry: deficiencies of factors II, V, VII, X, XIII, fibrinogen and dysfibrinogenemias. *J Thromb Haemost.* 2004; 2: 248–56.
26. Peyvandi F., Spreafico M. National and international registries of rare bleeding disorders. *Blood Transfus.* 2008; 6(Suppl. 2): 45–8.
27. Rezende S.M., Rodrigues S.H.L., Brito K.N.P. et al. Evaluation of a web-based registry of inherited bleeding disorders: A descriptive study of the Brazilian experience with HEMOVIDAweb Coagulopatias. *Orphanet J Rare Dis.* 2017; 12(1): 1–7.
28. Abbonizio F., Hassan H.J., Riccioni R. et al. New data from the Italian National Register of Congenital Coagulopathies, 2016 Annual Survey. *Blood Transfus.* 2019; 1–8.
29. Mamaev AN. Coagulopathies. Moscow: GEHOTAR-Media, 2012; 260 (In Russian).
30. Palla R., Peyvandi F., Shapiro A.D. Rare bleeding disorders: Diagnosis and treatment. *Blood.* 2015; 125(13): 2052–61.
31. Herrmann F.H., Wulff K., Auberger K. et al. Molecular biology and clinical manifestation of hereditary factor VII deficiency. *Semin Thromb Hemost.* 2000; 26(4): 393–400.
32. Martinowitz U., Michaelson M. Guidelines for the use of recombinant activated factor VII (rFVIIa) in uncontrolled bleeding: a report by the Israeli multidisciplinary rFVIIa task force. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(4): 640–8.
33. Simão F., Feener E.P. The effects of the contact activation system on hemorrhage. *Front Med.* 2017; 4: 1–10.
34. Bachler M., Niederwanger C., Hell T. et al. Influence of factor XII deficiency on activated partial thromboplastin time (aPTT) in critically ill patients. *J Thromb Thrombolysis.* 2019. DOI: 10.1007/s11239-019-01879-w
35. Dolgov V., Svirin P.V. Laboratory diagnostics of hemostasis disorders. Moscow — Tver': Triada, 2005; 227 (In Russian).
36. Langdell R., Wagner R., Brinkhous K. Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting tests; a presumptive test for hemophilia and a simple one-stage antihemophilic factor assay procedure. *J Lab Clin Med.* 1953; 41(4): 637–47.
37. Biggs R., Eveling J., Richards G. The Assay of Antihemophilic-Globulin Activity. *Br J Haematol.* 1955; 1(1): 20–34.
38. Lubnin A.Y., Konovalov A.N., Lasunin N.V. et al. Severe postoperative intracranial hemorrhagic complications in a neurosurgical patient with von Wille-

- го больного с не диагностированной до операции болезнью Виллебранда (клиническое наблюдение и обзор литературы). Вопросы нейрохирургии» имени Н.Н. Бурденко. 2018; 82(3): 56–65. DOI: 10.17116/neiro201882356
39. Rugeri L., Quélin F., Chatard B. et al. Thrombin generation in patients with factor XI deficiency and clinical bleeding risk. *Haemophilia*. 2010; 16(5): 771–7.
40. Hemker H., Giansily M., Peyvandi F. et al. The Thrombogram in Rare Inherited Coagulation Disorders: Its Relation to Clinical Bleeding. *Thromb Haemost*. 2018; 88(10): 576–82.
41. Van Geffen M., Menegatti M., Loof A. et al. Retrospective evaluation of bleeding tendency and simultaneous thrombin and plasmin generation in patients with rare bleeding disorders. *Haemophilia*. 2012; 18(4): 630–8.
42. Spiezia L., Radu C., Campello E. et al. Whole blood rotation thromboelastometry (ROTEM®) in nine severe factor V deficient patients and evaluation of the role of intraplatelets factor V. *Haemophilia*. 2012; 18(3): 463–8.
43. Минов А.Ф., Дзядзько А.М., Руммо О.О. Тромбоэластометрические критерии коррекции нарушений гемостаза при трансплантации печени. *Анестезиология и реаниматология*. 2012; 57(2): 35–41.
44. Haas T., Cushing M.M., Asmis L.M. Influence of Factor V Deficiency on ROTEM® Clotting Time. *Blood*. 2014; 124(21): 5039.
45. Chakri G., Yates S.G., Rambally S., Sarode R. Transfusion management of factor V deficiency: three case reports and review of the literature. *Transfusion*. 2016; 56(7): 1745–9.
46. Tran H.T.T., Tjønnfjord G.E., Holme P.A. Use of thromboelastography and thrombin generation assay to predict clinical phenotype in patients with severe FVII deficiency. *Haemophilia*. 2013; 20(1): 141–6.
47. Nogami K. The utility of thromboelastography in inherited and acquired bleeding disorders. *Br J Haematol*. 2016; 174(4): 503–14.
48. Dirkmann D., Hanke A.A., Görlinger K., Peters J. Perioperative use of modified thrombelastography in factor XI deficiency: A helpful method to assess drug effects. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2007; 51(5): 640–3. DOI: 10.1111/j.1399-6576.2007.01284.x
49. Riddell A., Abdul-Kadir R., Pollard D. et al. Monitoring low dose recombinant factor VIIa therapy in patients with severe factor XI deficiency undergoing surgery. *Thromb Haemost*. 2011; 106(9): 521–7.
50. Pivalizza E.G. Perioperative use of the Thrombelastograph® in patients with inherited bleeding disorders. *J Clin Anesth*. 2003; 15(5): 366–70.
51. Pluthero F.G., Ryan C., Williams S. et al. Decreased in vitro thrombin generation and clot stability in human FXII-null blood and plasma. *Br J Haematol*. 2011; 152(1): 111–2.
52. Blois S.L., Holowaychuk M.K., Wood R.D. Evaluation of thromboelastography in two factor XII-deficient cats. *JFMS Open Rep*. 2015; 1(1): 205511691558502. DOI: 10.1177/2055116915585025
- brand disease not diagnosed before surgery (a case report and literature review. *Vopr Neirokhirurgii Im NN Burdenko*. 2018; 82(3): 56–65 (In Russian). DOI: 10.17116/neiro201882356
39. Rugeri L., Quélin F., Chatard B. et al. Thrombin generation in patients with factor XI deficiency and clinical bleeding risk. *Haemophilia*. 2010; 16(5): 771–7.
40. Hemker H., Giansily M., Peyvandi F. et al. The Thrombogram in Rare Inherited Coagulation Disorders: Its Relation to Clinical Bleeding. *Thromb Haemost*. 2018; 88(10): 576–82.
41. Van Geffen M., Menegatti M., Loof A. et al. Retrospective evaluation of bleeding tendency and simultaneous thrombin and plasmin generation in patients with rare bleeding disorders. *Haemophilia*. 2012; 18(4): 630–8.
42. Spiezia L., Radu C., Campello E. et al. Whole blood rotation thromboelastometry (ROTEM®) in nine severe factor V deficient patients and evaluation of the role of intraplatelets factor V. *Haemophilia*. 2012; 18(3): 463–8.
43. Minov A.F., Dzyadzk A.M., Rummo O.O. The thromboelastometric criteria of hemostasis disorders correction during liver transplantation. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 2012; 57(2): 35–41 (In Russian).
44. Haas T., Cushing M.M., Asmis L.M. Influence of Factor V Deficiency on ROTEM® Clotting Time. *Blood*. 2014; 124(21): 5039.
45. Chakri G., Yates S.G., Rambally S., Sarode R. Transfusion management of factor V deficiency: three case reports and review of the literature. *Transfusion*. 2016; 56(7): 1745–9.
46. Tran H.T.T., Tjønnfjord G.E., Holme P.A. Use of thromboelastography and thrombin generation assay to predict clinical phenotype in patients with severe FVII deficiency. *Haemophilia*. 2013; 20(1): 141–6.
47. Nogami K. The utility of thromboelastography in inherited and acquired bleeding disorders. *Br J Haematol*. 2016; 174(4): 503–14.
48. Dirkmann D., Hanke A.A., Görlinger K., Peters J. Perioperative use of modified thrombelastography in factor XI deficiency: A helpful method to assess drug effects. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2007; 51(5): 640–3. DOI: 10.1111/j.1399-6576.2007.01284.x
49. Riddell A., Abdul-Kadir R., Pollard D. et al. Monitoring low dose recombinant factor VIIa therapy in patients with severe factor XI deficiency undergoing surgery. *Thromb Haemost*. 2011; 106(9): 521–7.
50. Pivalizza E.G. Perioperative use of the Thrombelastograph® in patients with inherited bleeding disorders. *J Clin Anesth*. 2003; 15(5): 366–70.
51. Pluthero F.G., Ryan C., Williams S. et al. Decreased in vitro thrombin generation and clot stability in human FXII-null blood and plasma. *Br J Haematol*. 2011; 152(1): 111–2.
52. Blois S.L., Holowaychuk M.K., Wood R.D. Evaluation of thromboelastography in two factor XII-deficient cats. *JFMS Open Rep*. 2015; 1(1): 205511691558502. DOI: 10.1177/2055116915585025

Информация об авторах

Галстян Геннадий Мартинович*, доктор медицинских наук, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: gengalst@gmail.com, тел.: +7 (495) 612-48-59;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8818-8949>

Полеводова Олеся Алексеевна, врач-анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: polevodova_md@mail.ru, тел.: +7 (495) 612-48-59;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7783-5861>

Яковлева Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отдела коагулопатий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: hemophilia2012@mail.ru, тел.: +7 (495) 612-29-12;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6991-7437>

Щекина Антонина Евгеньевна, аспирант отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: shekina_ae@mail.ru, тел.: +7 (495) 912-48-59;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7916-2322>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 19.08.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Information about the authors

Gennady M. Galstyan*, Dr. Sci. (Med.), Head of the Resuscitation and Intensive Care Unit, National Research Center for Hematology,
e-mail: gengalst@gmail.com, tel.: +7 (495) 612-48-59;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8818-8949>

Olesya A. Polevodova, Intensivist, Resuscitation and Intensive Care Unit, National Research Center for Hematology,
e-mail: polevodova_md@mail.ru, tel.: +7 (495) 612-48-59;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7783-5861>

Elena V. Yakovleva, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Coagulopathy Department, National Research Center for Hematology,
e-mail: hemophilia2012@mail.ru, tel.: +7 (495) 612-29-12;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6991-7437>

Antonina E. Shchekina, Postgraduate Researcher, Resuscitation and Intensive Care Unit, National Research Center for Hematology,
e-mail: shekina_ae@mail.ru, tel.: +7 (495) 912-48-59;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7916-2322>

*** Corresponding author**

Received 19 Aug 2019

Accepted 12 Sep 2019

ВЛИЯНИЕ ИСХОДНОГО ДЕФИЦИТА CD4⁺T-ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ХИМИОЛУЧЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ЛИМФОМОЙ ХОДЖКИНА

Богатырева Т. И.*, Терехова А. Ю., Афанасов А. О., Кузьмина Е. Г., Мушкарин Т. Ю., Замулаева И. А., Смирнова С. Г., Орлова Н. В., Гривцова Л. Ю., Фалалеева Н. А., Иванов С. А., Каприн А. Д.

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 249036, Обнинск, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. CD4⁺T-лимфоцитопения относится к общеизвестным проявлениям нарушений иммунитета при классической лимфоме Ходжкина (кЛХ), однако в существующих прогностических моделях в качестве фактора риска не учитывается. В исследованиях у онкологических больных была установлена ассоциация CD4⁺T-лимфоцитопении ($<0,2 \times 10^9/\text{л}$) с выраженным сокращением ожидаемой продолжительности жизни.

Цель: оценить влияние исходного дефицита CD4⁺T-лимфоцитов в периферической крови на общую выживаемость (ОВ) и выживаемость без прогрессирования (ВБП) у больных кЛХ.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ прогностической значимости сниженного содержания CD4⁺T-лимфоцитов в периферической крови до начала лечения у 162 больных кЛХ, которые получали комбинированную терапию в МРНЦ им. А.Ф. Цыба в период с 2000 по 2016 г. Выделяли умеренный ($0,2-0,4 \times 10^9/\text{л}$) и глубокий ($<0,2 \times 10^9/\text{л}$) дефицит CD4⁺T-лимфоцитов.

Результаты. Умеренная и глубокая CD4⁺-лимфопения наблюдались соответственно у 36 (22 %) и 24 (15 %) из 162 больных. Содержание CD4⁺-лимфоцитов $<0,2 \times 10^9/\text{л}$ ассоциировалось с возрастом ≥ 45 лет ($p = 0,063$), продвинутой стадией ($p = 0,03$) и международным прогностическим индексом (МПИ) ≥ 4 ($p = 0,000$). При медиане наблюдения 72 месяца у больных с исходным количеством CD4⁺T-лимфоцитов $\leq 0,4 \times 10^9/\text{л}$ отмечено снижение ВБП и ОВ по сравнению с больными без CD4⁺-лимфопении. В группе с неблагоприятной I–II стадией ($n = 29$) у 6 больных с CD4⁺-лимфопенией ВБП составила 50 % против 95 % ($p = 0,001$), а ОВ — 40 % против 100 % ($p = 0,000$). В группе с кЛХ III–IV стадий ($n = 120$) у 53 больных с CD4⁺-дефицитом ВБП и ОВ составили соответственно 57 % против 83 % ($p = 0,002$) и 75 % против 98 % ($p = 0,004$). В благоприятной прогностической подгруппе больных III–IV стадий с МПИ 0–3 ($n = 94$) у 32 (34 %) больных с CD4⁺-дефицитом отмечены пятилетняя ВБП 66 % против 84 % ($p = 0,037$) и ОВ 84 % против 100 % ($p = 0,117$).

Заключение. Ассоциация CD4⁺-дефицита с неудачами лечения больных кЛХ важна при ранней стадии заболевания, а также в подгруппе больных III–IV стадий с МПИ 0–3. Представляются оправданными модификации риска-адаптированной терапии для немногочисленной когорты больных с исходным снижением CD4⁺.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, лимфоцитопения, проточная цитофлюорометрия, дефицит CD4⁺T-лимфоцитов, химиолучевое лечение, прогноз

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Богатырева Т.И., Терехова А.Ю., Афанасов А.О., Кузьмина Е.Г., Мушкарин Т.Ю., Замулаева И.А., Смирнова С.Г., Орлова Н.В., Гривцова Л.Ю., Фалалеева Н.А., Иванов С.А., Каприн А.Д. Влияние исходного дефицита CD4⁺T-лимфоцитов периферической крови на результаты химиолучевого лечения больных лимфомой Ходжкина. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(3):317–330. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-317-330>

IMPACT OF THE PRE-TREATMENT CD4⁺ T-LYMPHOCYTE DEFICIENCY IN THE PERIPHERAL BLOOD ON THE RESULTS OF CHEMORADIOOTHERAPY IN PATIENTS WITH HODGKIN'S LYMPHOMA

Bogatyreva T. I.*, Terekhova A. Yu., Afanasov A. O., Kuz'mina E. G., Mushkarina T. Yu., Zamulaeva I. A., Smirnova S. G., Orlova N. V., Grivtsova L. Yu., Falaleeva N. A., Ivanov S. A., Kaprin A. D.

A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center, 249036, Obninsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. CD4⁺T lymphocytopenia constitutes a well-known manifestation of immune disorders in classical Hodgkin's lymphoma (HL); however, it is not considered as a risk factor in existing prognostic models. Studies established a connection between CD4⁺T-lymphocytopenia ($<0.2 \times 10^9/l$) and a pronounced reduction in the life expectancy of cancer patients.

Aim. To assess the impact of initial CD4⁺T-lymphocyte deficiency in the peripheral blood on the overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) in HL patients.

Materials and methods. The authors performed a retrospective analysis of the prognostic significance of a reduced CD4⁺T-lymphocyte count in the peripheral blood prior to treatment. The analysis included 162 HL patients who had undergone combined modality therapy at the A. Tsyb Medical Radiological Research Center (2000–2016). The analysis distinguished between moderate ($0.2-0.4 \times 10^9/l$) and severe ($<0.2 \times 10^9/l$) deficiency of CD4⁺T-lymphocytes.

Results. Moderate and severe CD4⁺-lymphopenia was observed in 36 (22 %) and 24 (15 %) of 162 patients, respectively. The CD4⁺ lymphocyte count of $<0.2 \times 10^9/l$ was associated with age ≥ 45 years ($p = 0.063$), advanced disease stage ($p = 0.03$) and international prognostic index (IPS) ≥ 4 ($p = 0.000$). With a median follow-up of 72 months, patients with an initial CD4⁺T-lymphocyte count of $\leq 0.4 \times 10^9/l$ showed a decrease in PFS and OS, as compared to the patients without CD4⁺ lymphopenia. In 6 patients with CD4⁺ lymphopenia from the group with unfavourable stages I–II HL ($n = 29$), PFS came to 50 % versus 95 % ($p = 0.001$), and OS decreased to 40 % versus 100 % ($p = 0.000$). In 53 patients with CD4⁺ deficiency from the group with stage III–IV HL ($n = 120$) PFS and OS were 57 % versus 83 % ($p = 0.002$) and 75 % versus 98 % ($p = 0.004$), respectively. In 32 (34 %) patients with CD4⁺ deficiency from the favourable prognostic subgroup including stage III–IV HL patients with IPS 0–3 ($n = 94$), 5-year PFS came to 66 % versus 84 % ($p = 0.037$) and OS decreased to 84 % versus 100 % ($p = 0.117$).

Conclusion. The association of CD4⁺ deficiency with the treatment failure in HL patients is important in the early stages of the disease, as well as in the subgroup of patients with stages III–IV HL (IPS 0–3). The modifications of risk-adapted therapy for a small cohort of patients with an initial decrease in CD4⁺ seem to be justified.

Keywords: Hodgkin's disease, lymphocytopenia, flow cytometry, CD4⁺T- deficiency, combined modality therapy, prognostic factors

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Bogatyreva T.I., Terekhova A.Yu., Afanasov A.O., Kuz'mina E.G., Mushkarina T.Yu., Zamulaeva I.A., Smirnova S.G., Orlova N.V., Grivtsova L.Yu., Falaleeva N.A., Ivanov S.A., Kaprin A.D. Impact of the pre-treatment CD4⁺ T- lymphocyte deficiency in the peripheral blood on the results of chemoradiotherapy in patients with Hodgkin's lymphoma. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(3):317–330 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-317-330>

Введение

В настоящее время установлена связь между лимфоцитопенией и плохим прогнозом при ряде онкологических заболеваний, в том числе при злокачественных лимфомах. Количество лимфоцитов <600 клеток в мкл периферической крови или $<8\%$ является одним из семи факторов риска, которые были положены в основу международного прогностического индекса (МПИ) (International Prognostic Score — IPS), разработанного для больных с III–IV стадиями лимфомы Ходжкина (ЛХ) [1]. К ограничениям МПИ можно отнести нечеткость определения фактора лимфоцитопении, поскольку допускается учет как абсолютной, так и относительной лимфоцитопении. Относительная лимфоцитопения часто сопутствует нейтрофильному лейкоцитозу, что неоправданно увеличивает число баллов при подсчете МПИ. Неблагоприятное прогностическое значение имела лишь самостоятельная абсолютная лимфоцитопения либо ее сочетание с относительной лимфоцитопенией у больных без лейкоцитоза [2]. Влияние этого параметра на исход лечения у больных с ранними стадиями ЛХ в литературе не представлено. В ходе проспективного исследования когорты больных, включавшей 580 человек, получавших лечение в Медицинском радиологическом научном центре (МРНЦ) им. А.Ф. Цыба в период с 1998 по 2012 г., показано отрицательное влияние исходной лимфоцитопении на общую и безрецидивную выживаемость. Было впервые установлено, что абсолютная лимфоцитопения в дебюте заболевания является независимым фактором неблагоприятного прогноза, значимым не только при поздних стадиях с МПИ 0–3, но и при ранних стадиях ЛХ [3]. При ранних стадиях крайне редко встречается повышенное число баллов МПИ, тогда как отдельный учет лимфоцитопении в дебюте ЛХ не нашел применения в общепринятых прогностических индексах. Этот факт послужил основанием для введения в прогностическую модель МРНЦ абсолютной лимфоцитопении как дополнительного фактора риска с целью проведения риск-адаптированной терапии при всех стадиях ЛХ [4]. Актуальность учета абсолютной лимфоцитопении получила дальнейшее подтверждение, когда в период 2012–2016 гг. появилась серия публикаций о неблагоприятной роли дефицита $CD4^+T$ -лимфоцитов для результатов лечения солидных опухолей [5, 6] и других лимфом [7, 8].

Взаимосвязь исходной $CD4^+T$ -лимфоцитопении с эффективностью противоопухолевого ответа еще не до конца определена, остается неясным, какие группы больных ЛХ испытывают негативное влияние дефицита $CD4^+T$ -клеток в периферической крови.

Цель работы — оценить влияние исходного дефицита $CD4^+T$ -лимфоцитов в периферической крови на общую выживаемость (ОВ) и выживаемость без прогрессирования (ВБП) у больных классической лимфомой Ходжкина (кЛХ).

Материалы и методы

В ретроспективный анализ включены 162 больных кЛХ (95 женщин и 67 мужчин), у которых в ходе первичного обследования был проведен субпопуляционный анализ лимфоцитов периферической крови. У 54 из 162 больных исходно была лимфоцитопения (содержание лимфоцитов $0,3–0,99 \times 10^9/л$, медиана $0,78 \times 10^9/л$). Все больные были госпитализированы в отделение лучевой и лекарственной терапии гемобластозов МРНЦ в период 2000–2016 гг. Медиана возраста составила 28 лет (от 16 до 59 лет). Диагноз во всех случаях был установлен на основании гистологического и иммуногистохимического исследований. С целью определения зон поражения и распространенности опухолевого процесса всем больным до начала лечения было проведено обследование, которое включало компьютерную томографию органов грудной и брюшной полостей, ультразвуковое исследование всех групп периферических лимфатических узлов, брюшной полости, забрюшинного пространства и малого таза, трепанобиопсию костного мозга. Дополнительные методы обследования использовались по показаниям. Стадию заболевания устанавливали в соответствии с классификацией Анн-Арбор [9]. По итогам обследования больные были распределены на пять лечебных групп, отличающихся схемой индукции ремиссии (табл. 1). При I–II стадиях группы с благоприятным и неблагоприятным прогнозом выделяли на основе общепринятых факторов риска (массивное поражение средостения, X; экстранодальное поражение, E; В-симптомы; более трех вовлеченных областей; СОЭ >50 мм/ч при A-стадии). При III–IV стадиях лечебные группы формировали с учетом числа баллов МПИ [1], а также факторов риска прогностической модели МРНЦ (гистологические варианты «нодулярный склероз II типа» или «лимфоидное истощение», специфический перикардит, вовлечение костей или костного мозга). Схемы химиотерапии предусматривали уменьшение кумулятивных доз доксорубина и блеомицина перед лучевой терапией путем проведения последних курсов по схеме COPP. Для закрепления ремиссии при ранних стадиях проводили лучевую терапию (ЛТ) в суммарной дозе 20–22 Гр на зоны исходного поражения (ISRT): при неполной регрессии — в режиме ускоренного гиперфракционирования (1,3 Гр + 1,5 Гр два раза в день с интервалом 4,5 ч); при полной регрессии — в режиме стандартного фракционирования (1,8–2 Гр 5 дней в неделю); при поздних стадиях резидуальные опухолевые массы или зоны исходно массивного поражения облучали в дозе 20–22 Гр с использованием режима ускоренного гиперфракционирования. К январю 2019 г. медиана наблюдения за живущими больными составила 72 месяца.

Оценку количества $CD4^+T$ -клеток ($CD3^+CD4^+$) периферической крови проводили на основании стандартной реакции прямой иммунофлуоресценции с использованием прямых флуорохромных конъюгатов

Таблица 1. Схемы химиолучевого лечения 162 больных ЛХ I–IV стадий и пятилетние результаты терапии больных без исходного дефицита CD4⁺-лимфоцитов в периферической крови

Table 1. Treatment schemes in 162 patients with Hodgkin lymphoma I–IV stages and 5-year results of treatment in patients without CD4⁺-lymphocytes deficiency in peripheral blood

№ группы	Лечебная группа Treatment group	Кол-во больных Number of Patients	Схема индукции ремиссии Induction remission chemotherapy	Лучевая терапия Radiation therapy	CD4 ⁺ , n (%) >0,4 × 10 ⁹ /л >0,4 × 10 ⁹ /L	ВБП Progression-free survival (%)	ОВ Overall survival (%)
1	I–II A стадия, благоприятный прогноз Stage I–II A Favorable	13	ABVD × 4 ± COPP × 1–2	на зоны исходного поражения 20–22 Гр в режиме УГФ* (при неполной регрессии) или в стандартном режиме (при полном ответе)	12/13 (92 %)	100	100
2	I–II стадия, неблагоприятный прогноз Stage I–II Unfavorable	29	ABVD × (4–6) ± COPP × (1–2)	ISRT 20–22 Gy in AHFX * regimen (after partial regression) or conventional fractionation (for complete regression)	23/29 (79 %)	95	100
3	III–IV стадия, МПИ 0–3** отсутствие факторов риска *** Stage III–IV, IPS 0–3, no risk factors ***	37	ABVD × (5–7) ± COPP × 1–2		28/37 (76 %)	89	100#
4	III–IV стадия, МПИ 0–3 наличие факторов риска Stage III–IV, IPS 0–3, risk factors ***,	57	BEACOPP6аз × (4–6) ± CVPP × 2 BEACOPPbas × (4–6) ± CVPP × 2	на резидуальные опухолевые массы >2,5 см и/или зоны исходно массивного поражения: 20–22 Гр в режиме УГФ (1,3 Гр + 1,5 Гр два раза в день с интервалом 4,5 ч)	34/57 (60 %)	85	100
5	III–IV стадия, МПИ ≥4 неблагоприятный прогноз Stage III–IV, IPS ≥4	26	BEACOPP6аз × (4–6) ± CVPP × 2 (n = 12), после 2006 г. BEACOPP-14 × (2–4) + BEACOPP6аз × 4–6 (n = 14) BEACOPPbas × (4–6) ± CVPP × 2 (n = 12), after 2006 year. BEACOPP-14 × (2–4) + BEACOPPbas × 4–6 (n = 14)	RT to residual tumour masses > 2.5 cm and/or areas of initially massive lesions: 20–22 Gy in the accelerated hyperfractionation (AHF) mode (1.3 Gy + 1.5 Gy twice a day with an interval of 4.5 hours)	5/26 (19 %)	60	75

Примечание. * — УГФ, ускоренное гиперфракционирование; ** — МПИ, Международный прогностический индекс; *** факторы риска прогностической модели МРНЦ для III–IV стадий: а) гистологические варианты «нодулярный склероз II типа» или «лимфоидное истощение»; б) специфический перикардит; в) вовлечение костей или костного мозга в сочетании с массивным поражением селезенки; # три больных с прогрессией в сроки 8, 22, 24 месяца умерли через 110, 90 и 102 месяца после начала лечения.

Note. * — AHFX, accelerated hyperfractionated regimen; ** — IPS, International prognostic score; *** — Risk factors according to MRRC prognostic model: a) histology “nodular sclerosis grade II” or “lymphocyte depletion”; pericardial effusion; involvement of bones or bone marrow combined with massive spleen involvement.

Three patients with disease progression (8, 22 and 24 months) died 110, 90 and 102 months after treatment start.

(флуоресцеинизотионид, FITC; фикоэритрин PE). В работе использованы коммерческие моноклональные антитела фирмы Becton Dickinson. Проточно-цитометрическая детекция клеток выполнена на проточных цитофлуориметрах FACSscan и FACS Calibur фирмы Becton Dickinson. К случаям умеренного дефицита CD4⁺-лимфоцитов относили их абсолютное содержание в периферической крови от 0,2 × 10⁹ до 0,4 × 10⁹/л, значительным дефицитом считали <0,2 × 10⁹/л.

Статистический анализ. Тест χ^2 был использован для проверки нулевой гипотезы о равномерности распределения больных с дефицитом CD4⁺-лимфоцитов в зависимости от демографических и клинических ха-

рактеристик. Пятилетняя общая выживаемость (ОВ) и выживаемость без прогрессирования (ВБП) были проанализированы с учетом исходного уровня субпопуляции CD4⁺-лимфоцитов. Для оценки выживаемости применялся метод Каплана — Мейера и сравнение кривых по логранговому критерию. Регрессионный анализ Кокса был проведен в группе больных I–II стадий с неблагоприятным прогнозом с включением в модель пола, неблагоприятного морфологического варианта (нодулярный склероз II типа или лимфоидное истощение), В-симптомов, массивного поражения средостения с международным торакальным индексом (МТИ) ≥0,35, Е-стадии и содержания CD4⁺ <0,4 × 10⁹/L. У больных III–

Таблица 2. Частота абсолютной лимфоцитопении и дефицита CD4⁺Т-лимфоцитов у больных ЛХ до начала лечения в зависимости от клинических проявлений заболевания**Table 2.** The prevalence of pre-treatment absolute lymphopenia and CD4⁺T-lymphocyte deficiency in Hodgkin lymphoma patients by clinical parameters at disease presentation

Характеристика Parameter	N (100 %)	Лимфоциты <1,0 × 10 ⁹ /л Lymphocytes <1,0 × 10 ⁹ /L n = 54	p	CD4 ⁺ Т-лимфоциты CD4 ⁺ T-Lymphocytes				
				0,2–0,4 × 10 ⁹ /л 0,2–0,4 × 10 ⁹ /L n (%)	p	<0,2 × 10 ⁹ /л <0,2 × 10 ⁹ /L n (%)	p	
Пол / Gender								
Мужчины / Males	67	16 (24 %)	0,048	16 (24 %)	0,815	7 (10 %)	0,276	
Женщины / Females	95	38 (40 %)		20 (21 %)		17 (18 %)		
Возраст / Age								
<45 лет / years	144	45 (31 %)	0,066	33 (23 %)	0,682	18 (12 %)	0,063	
≥45 лет / years	18	9 (50 %)		3 (17 %)		6 (33 %)		
Морфология / Morphology								
Лимфоидное преобладание Lymphocyte predominance	5	3 (60 %)	0,112	2 (40 %)	0,404	0	0,091	
Нодулярный склероз I типа (НС I) Nodular sclerosis grade I (NC I)	72	17 (24 %)		13 (18 %)		6 (8 %)		
Нодулярный склероз II типа (НС II) Nodular sclerosis grade II (NC II)	34	15 (44 %)		11 (32 %)		6 (18 %)		
Смешанноклеточный состав (СК) Mixed cellularity (MC)	43	14 (32 %)		8 (19 %)		9 (21 %)		
Лимфоидное истощение (ЛИ) Lymphocyte depletion (LD)	8	4 (50 %)		2 (25 %)		3 (38 %)		
НС I + СК NC I + MC	115	32 (28 %)	0,062	21 (18 %)	0,136	15 (13 %)	0,297	
НС II + ЛИ NC I + LD	42	19 (45 %)		13 (31 %)		9 (21 %)		
Прогностическая группа / Prognostic group								
Стадия I–II благоприятная Stage I–II Favorable	13	0	0,007	1 (8 %)	0,281	0	0,030	
Стадия I-II неблагоприятная Stage I–II Unfavorable	29	5 (17 %)		5 (17 %)		1 (3 %)		
Стадия III–IV Stage III–IV	120	48 (40 %)		30 (25 %)		23 (19 %)		
Число баллов МПИ / IPS score								
	0–2	115	26 (23 %)	0,000	22 (19 %)	0,291	7 (6 %)	0,000
	3	21	10 (48 %)		7 (33 %)		3 (14 %)	
	≥4	26	17 (65 %)		7 (27 %)		14 (54 %)	

IV стадий с МПИ 0–3 в модель Кокса включали пол, возраст, морфологический вариант (нодулярный склероз II типа или лимфоидное истощение), В-симптомы, МТИ ≥0,35, содержание лимфоцитов <1,0 × 10⁹/л, число баллов МПИ (0–2 против 3), лечебную группу (3-я группа, схема ABVD, против 4-й группы, схема BEACOPPбаз) и содержание CD4⁺ <0,4 × 10⁹/л. Данные анализировались с помощью статистического пакета SPSS 20 для Windows.

Результаты

В таблице 2 представлены данные по частоте случаев абсолютной лимфоцитопении и дефицита CD4⁺Т-лимфоцитов различной выраженности у больных ЛХ до начала лечения в зависимости от пола, возраста и клинико-лабораторных параметров, относящихся к заболеванию. Содержание лимфоцитов перифе-

рической крови <1,0 × 10⁹/л чаще встречалось у женщин ($p = 0,048$), в возрастной группе старше 45 лет ($p = 0,066$), сопутствовало морфологическим вариантам, отличающимся истощением клеточного микроокружения (нодулярный склероз II типа и лимфоидное истощение, $p = 0,062$), продвинутым стадиям ($p = 0,007$) и МПИ ≥4 баллов ($p = 0,001$).

Умеренное снижение абсолютного содержания CD4⁺-лимфоцитов (0,2–0,4 × 10⁹/л) отмечено у 36 (22 %) из 162 обследованных больных, достоверной связи с изученными демографическими или клиническими параметрами не отмечено. В трети случаев с умеренным дефицитом CD4⁺-лимфоцитов абсолютное содержание лимфоцитов превышало 1,0 × 10⁹/л, причем достоверно чаще ($p = 0,004$) у мужчин (10 из 16, 62 %), чем у женщин (3 из 20, 15 %).

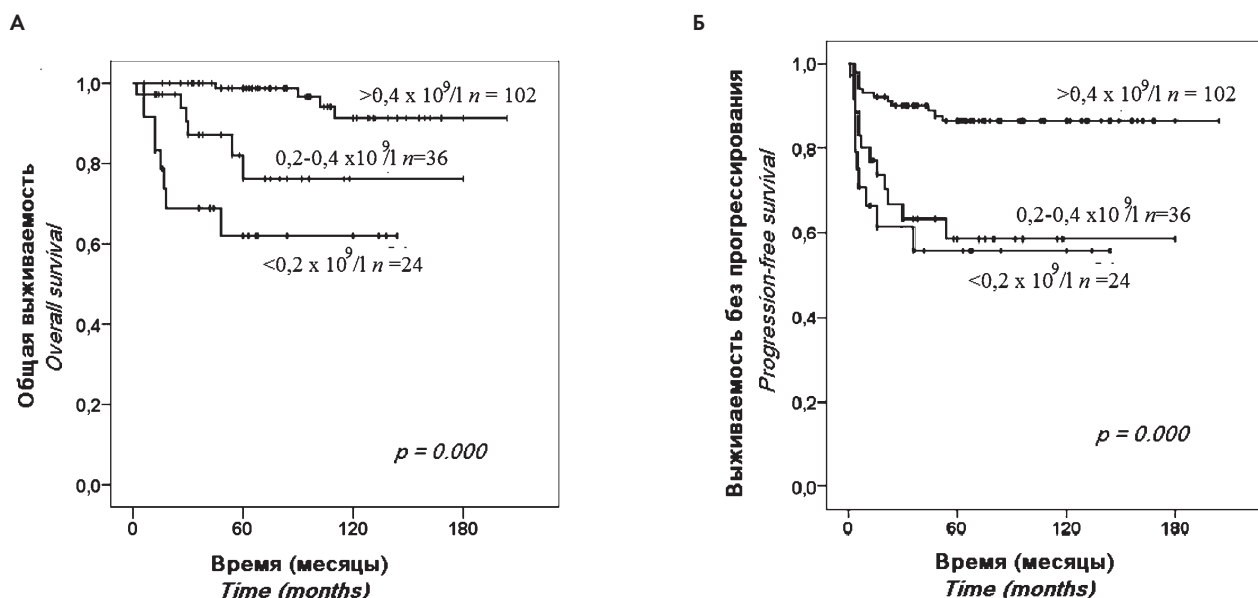


Рисунок 1. Общая выживаемость (А) и выживаемость без прогрессирования (Б) после химиолучевого лечения 162 больных лимфомой Ходжкина I–IV стадий в зависимости от исходного содержания CD4⁺Т-лимфоцитов ($\times 10^9/L$) в периферической крови.

Figure 1. Overall survival (A) and progression-free survival (B) after combined modality treatment in 162 patients with Hodgkin lymphoma I–IV stages by pre-treatment CD4⁺ T-lymphocyte count ($\times 10^9/L$).

Выраженная CD4⁺Т-лимфопения ($<0,2 \times 10^9/L$) до начала лечения выявлена у 24 (15 %) из 162 больных и ассоциировалась с возрастом старше 45 лет ($p = 0,063$), продвинутой стадией ($p = 0,03$) и МПИ ≥ 4 баллов ($p = 0,000$).

При медиане наблюдения 72 месяца ОВ и ВБП были достоверно ниже у больных с исходным дефицитом CD4⁺-лимфоцитов (рис. 1). Достоверных различий указанных показателей между подгруппами с умеренным и глубоким дефицитом не найдено ($p = 0,187$ и $p = 0,635$ соответственно).

У 13 больных 1-й группы (I–IIA стадии без факторов риска) имел место единичный случай сочетания относительной (24 %) и умеренной абсолютной ($0,43 \times 10^9/L$) CD4⁺-лимфоцитопении; прогрессирование развилось у больного после 4 курсов ABVD и было пролечено альтернативной химиотерапией в сочетании с лучевой терапией. Общая выживаемость всей группы составила 100 %.

Во 2-й группе (I–II стадии с общепринятыми факторами риска, $n = 29$) абсолютное содержание CD4⁺Т-клеток в 6 случаях (20,6 % больных) колебалось от $0,14 \times 10^9/L$ до $0,35 \times 10^9/L$. У 3 из 6 (при CD4⁺ 0,23, 0,30 и $0,35 \times 10^9/L$) прогрессия наступила в сроки 4, 7 и 12 месяцев от начала лечения; все трое умерли от основного заболевания спустя соответственно 54, 26 и 29 месяцев, несмотря на применение высокодозной химиотерапии. ВПБ в этой маленькой группе составила 50 % против 95 % ($p = 0,001$) у больных без CD4⁺-дефицита, а общая пятилетняя выживаемость — 40 % против 100 % ($p = 0,000$) (рис. 2 I).

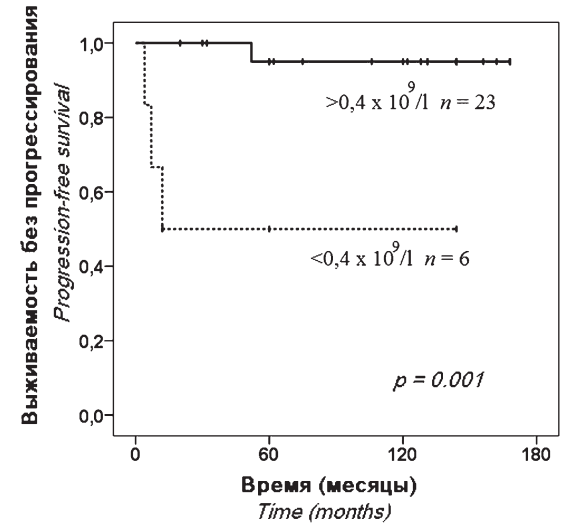
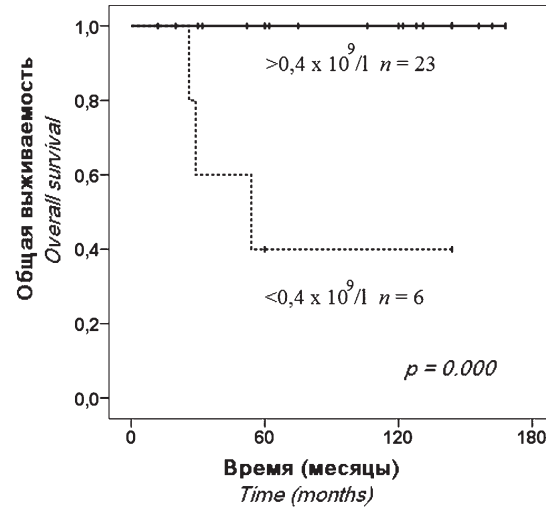
В объединенной группе больных ЛХ III–IV стадий (3, 4 и 5-я группы, $n = 120$) пятилетняя ВБП при исходном дефиците CD4⁺Т-клеток ($n = 53$, 44,2 %) составила 57 % (95 % доверительный интервал (ДИ), 42–72 %)

в сравнении с 83 % (95 % ДИ, 73–92 %) у больных с нормальным уровнем CD4⁺Т-клеток ($p = 0,002$). Показатель пятилетней выживаемости, зависящей от заболевания, в группе больных ЛХ III–IV стадий с дефицитом CD4⁺Т-клеток составил 75 % (95 % ДИ 61–84 %) по сравнению с 98 % (95 % ДИ 94–100 %) в отсутствие дефицита ($p = 0,004$) (рис. 2 II).

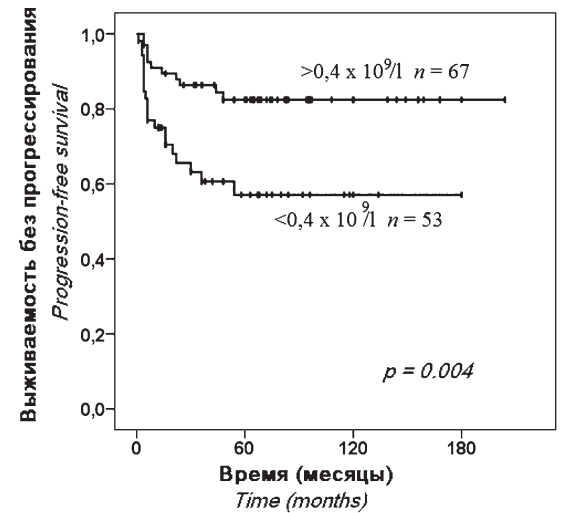
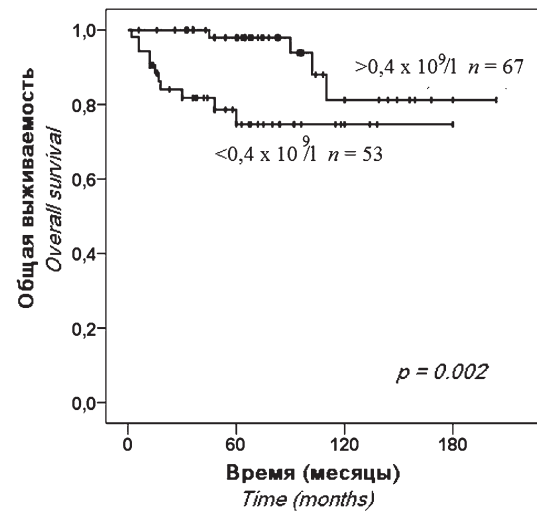
Больные с продвинутыми стадиями ЛХ традиционно рассматриваются как группа единого прогноза и единого терапевтического подхода. Число баллов МПИ при выборе схемы химиотерапии обычно не учитывается и используется в основном для стратификации и сравнения результатов, полученных различными исследовательскими группами. В МРНЦ этих больных распределяли в три группы, отличающиеся прогнозом и, соответственно, назначаемой терапией. Данные таблицы 1 показывают, что учет факторов риска позволил (в отсутствие CD4⁺-дефицита) добиться приемлемых результатов при дифференцированном подходе к назначению первой линии химиотерапии (ABVD, BEACOPPбаз или BEACOPP-14), когда значительная доля больных получила малоагрессивную или умеренно агрессивную терапию. Проблемной группой оставались больные с МПИ ≥ 4 баллов, половина которых отличалась глубоким CD4⁺-дефицитом. Вместе с тем проведенная нами после 2006 г. замена в первой половине курса схемы BEACOPPбаз на схему BEACOPP-14 способствовала некоторому улучшению результатов лечения у этой немногочисленной категории больных. ВБП составила 63,6 % у 11 больных после BEACOPP-14 против 32 % у 15 больных после BEACOPPбаз, а ОВ увеличилась до 77,8 % против 40,4 %. Ввиду немногочисленности наблюдений статистической достоверности не получено.

2.I. Стадии I-II с факторами риска (n=29)

Stages I-II with risk factors (n=29).

**2.II Стадии III-IV, все больные (n=120)**

Stages III-IV, all patients (n=120).

**2.III. Стадии III-IV с IPS 0-3 (n=94)**

Stages III-IV with IPS 0-3 (n=94)

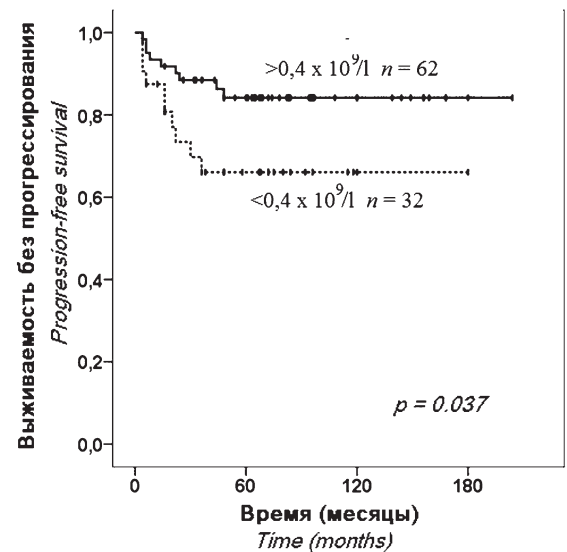
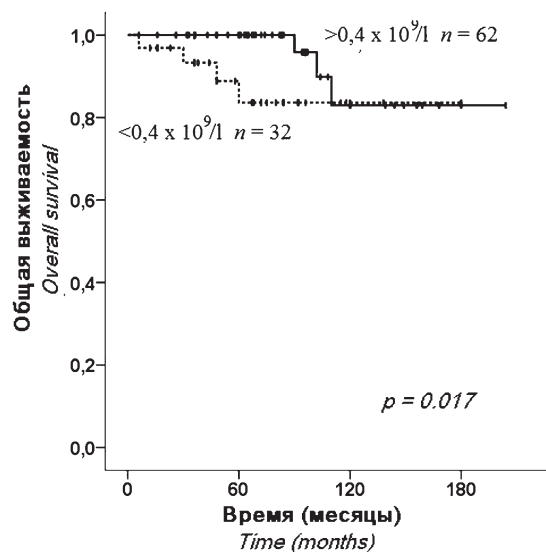


Рисунок 2. Влияние исходного дефицита CD4⁺ лимфоцитов в периферической крови ($<0,4 \times 10^9/l$) на результаты химиолучевого лечения в зависимости от стадии классической лимфомы Ходжкина. 2.I. Стадии I-II с факторами риска (n=29). 2.II. Стадии III-IV, все больные (n=120). 2.III. Стадии III-IV с МПИ 0-3 (n=94).

Figure 2. The impact of pretreatment CD4⁺ deficiency ($<0,4 \times 10^9/l$) on the results of combined modality treatment by stage of classical Hodgkin lymphoma. 2.I. Stages I-II with risk factors (n=29). 2.II. Stages III-IV, all patients (n=120). 2.III. Stages III-IV with IPS 0-3 (n=94).

Таблица 3. Выживаемость без прогрессирования 29 больных ЛХ I–II стадий с неблагоприятным прогнозом в зависимости от факторов риска
Table 3. Progression-free survival in 29 patients with Hodgkin lymphoma stage I–II with unfavorable prognosis depending on risk factors

Параметры Parameter	Выживаемость без прогрессирования Progression-free survival		
	отношение рисков hazard ratio	95 % ДИ 95 % CI	p
Однофакторный анализ Univariate analysis			
Пол Gender	0,56	0,07–4,70	0,595
Морфология Morphology	0,86	0,08–9,70	0,901
В-симптомы B-symptoms	14,15	1,39–143,9	0,025
Е-стадия Extranodal disease	1,78	0,21–14,86	0,595
МТИ ≥0,35 MTI ≥0,35	1,27	0,15–10,53	0,823
CD4⁺ < 0,4 × 10⁹/L	17,41	1,76–173,11	0,014
Многофакторный анализ Multivariate analysis			
В-симптомы B-symptoms	20,64	1,39–307,58	0,28
CD4⁺ < 0,4 × 10⁹/L	23,96	1,81–317,01	0,16

Результаты лечения больных ЛХ III–IV стадий с МПИ ≥4 признаются неудовлетворительными по итогам многих проспективных или рандомизированных исследований, хотя в мировой практике возможность отдельной терапевтической тактики в отношении этой категории больных признается лишь в рекомендациях NCCN (США). Из таблицы 2 видно, что в рассматриваемой выборке абсолютная лимфоцитопения имела место у 17 из 26 (65 %) больных с МПИ ≥4 баллов, а дефицит CD4⁺Т-клеток — у 21 из 26 (81 %) больных; при этом в 27 % случаев CD4⁺Т-лимфоцитопения была умеренной и в 54 % случаев — глубокой. Медиана ВБП у 21 больного с дефицитом CD4⁺Т-клеток составила 12 месяцев. Пятилетние показатели ВБП и ОВ у этих больных составили соответственно 42 % (95 % ДИ 20–63 %) и 51 % (95 % ДИ 18–84 %).

Представлялось важным оценить влияние CD4⁺Т-лимфоцитопении на результаты лечения в подгруппе больных ЛХ III–IV стадий с МПИ 0–3 балла (94 из 120, 78,3 %). Эта подгруппа считается относительно благоприятной, и до сих пор нет единого мнения относительно предпочтительной схемы химиотерапии (ABVD или BEACOPP). Пятилетняя ВБП у 94 больных с МПИ 0–3 в случае дефицита CD4⁺Т-клеток была достоверно ниже: 66 % (95 % ДИ 49–82 %) против 84 % (95 % ДИ 75–94 %), $p = 0,037$. ОВ при CD4⁺-дефиците также была несколько ниже: 84 % (95 % ДИ 68–99 %) против пятилетней ОВ 100 % ($p = 0,117$) (рис. 2 III). В группе 3, куда вошли больные без факторов риска МРНЦ (схема ABVD), пятилетняя ВБП

при дефиците CD4⁺Т-клеток составила 76,2 % против 88,7 % ($p = 0,367$), а ОВ — 85,7 % против 100 % ($p = 0,762$). В группе 4 с факторами риска МРНЦ (схема BEACOPPбаз) ВБП при дефиците CD4⁺Т-клеток составила 61 % против 85 % ($p = 0,046$), а ОВ — 84 % против 100 % ($p = 0,024$). При этом три балла МПИ имели 5/37 (13,5 %) больных 3-й группы против 16/28 (57 %) в группе 4 ($p = 0,161$).

При регрессионном анализе Кокса не было выявлено факторов, влиявших на ОВ в рассмотренных группах. Для ВБП в группе больных ЛХ I–II стадий с неблагоприятным прогнозом ($n = 29$) конкурирующими факторами риска в однофакторном анализе были В-симптомы и дефицит CD4⁺Т-клеток (табл. 3). У 94 больных ЛХ III–IV стадий с МПИ 0–3 на ВБП как в однофакторном, так и в многофакторном анализе достоверно влиял только дефицит CD4⁺Т-клеток (табл. 4).

Обсуждение

Согласно результатам нашего более раннего анализа, абсолютная лимфоцитопения в периферической крови ($\leq 1,0 \times 10^9/\text{л}$) у больных с впервые установленным диагнозом ЛХ является относительно редким событием с общей встречаемостью до 14 % (116 из 838 больных ЛХ I–IV стадий) [10]. Частота подобных случаев возрастала от 1 % при I–II стадиях с благоприятным прогнозом до 8 % при I–II стадиях с факторами риска и до 19 % при III–IV стадиях. Сравнение итогов двух поколений протокольных исследований МРНЦ им. А.Ф. Цыба показало, что при реализации современных программ

Таблица 4. Общая выживаемость и выживаемость без прогрессирования 94 больных ЛХ III–IV стадий с МПИ 0–3 в зависимости от факторов риска**Table 4.** Factors associated with overall survival and progression-free survival in 94 patients with Hodgkin lymphoma III–IV stages and IPS 0–3

Параметры Parameter	Общая выживаемость Overall survival			Выживаемость без прогрессии Progression-free survival		
	ОР* HR	95 % ДИ 95 % CI	p	ОР HR	95 % ДИ 95 % CI	p
Однофакторный анализ Univariate analysis						
Пол Gender	1,26	0,22–7,25	0,796	1,17	0,39–3,50	0,778
Возраст Age	3,32	0,32–34,09	0,313	0,90	0,10–8,24	0,926
Морфология Morphology	0,50	0,06–4,53	0,541	1,56	0,51–4,75	0,439
В-симптомы B-symptoms	0,69	0,12–3,96	0,677	0,98	0,34–2,86	0,977
МТИ ≥0,35 MTI ≥0,35	3,68	0,64–21,22	0,145	1,22	0,42–3,58	0,711
Лимфоциты <1,0 × 10⁹/л Lymphocytes <1,0 × 10 ⁹ /L	2,14	0,41–11,29	0,369	1,55	0,52–4,55	0,429
Химиотерапия (группа 3 против группы 4) CT regimen (gr. 3 vs. gr. 4)	4,07	0,70–23,52	0,117	0,73	0,23–2,28	0,588
Баллы МПИ 0–2 vs. 3 IPS score 0–2 vs. 3	0,67	0,07–6,07	0,722	0,71	0,71–6,96	0,172
CD4⁺ <0,4 × 10⁹/L	2,03	0,39–10,71	0,402	3,57	1,21–10,57	0,021
Многофакторный анализ Multivariate analysis						
CD4⁺ <0,4 × 10⁹/L	0,401	0,08–2,00	0,264	0,315	0,120–0,829	0,019

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые данные.

Note. Bold values are statistically significant.

лечения ЛХ абсолютная лимфоцитопения сохраняла неблагоприятную прогностическую значимость [2, 10]. Известна связь лимфоцитопении с плохим прогнозом у больных ЛХ при трансплантации аутологичных стволовых клеток [11]. Важная роль при противоопухолевом ответе отводится связи иммунных механизмов и воспалительных клеточных реакций, суррогатными маркерами которых считают количество нейтрофилов и моноцитов периферической крови. Низкое соотношение лимфоцитов и моноцитов в ряде работ рассматривается как негативный прогностический фактор [12–15]. Повышенное соотношение нейтрофилов и лимфоцитов ухудшает показатели выживаемости, что было показано в многоцентровом исследовании, включившем 990 случаев первичной ЛХ с нодулярным склерозом [16]. Однако в различных клинических испытаниях не проводилось стратификации больных с учетом возможного негативного влияния лимфоцитопении.

В ряде исследований было продемонстрировано неблагоприятное прогностическое значение CD4⁺Т-лимфоцитопении у онкологических больных, результаты настоящей работы также подтверждают эти данные. Дефицит CD4⁺Т-лимфоцитов рассматривается как фактор риска развития инфекций и гематологических осложнений при проведении химиотерапии

у больных солидными опухолями [5, 6, 17]. Однако до сих пор лишь несколько работ посвящено исследованию прогностического значения дефицита CD4⁺Т-лимфоцитов при злокачественных лимфомах [7, 8, 18].

Для пролиферации и выживания клеток опухоли важны клетки реактивного окружения. Основными компонентами клеточного микроокружения являются CD4⁺Т-лимфоциты, плазмциты, эозинофилы и гистиоциты, что указывает на преобладание иммунного ответа по Th2-типу. Th-2 Т-клетки — это одна из субпопуляций Т-хелперов (CD4⁺), образующаяся из активированных Т-клеток под влиянием интерлейкина-2 (ИЛ-2) и интерлейкина-4 (ИЛ-4), при участии транскрипционных факторов GATA-3, STAT-6 и экспрессирующих на мембране белков CCR3, CCR5 и CCR4. Клетки данной субпопуляции являются триггерами гуморального иммунного ответа. Ключевым фактором дифференцировки CD4⁺Т-клеток в Т-хелперы второго типа (Th-2) является ИЛ-4 (его основные продуценты на периферии — тучные клетки, эозинофилы и собственно CD4⁺Т-клетки). Подавление синтеза ИЛ-4 и активности Th2-клеток классически осуществляет интерферон-гамма [19–21].

Опухоль в процессе прогрессии приобретает ряд свойств, которые позволяют ей ускользать от иммунно-

го надзора. Несмотря на громадное количество активированных CD4⁺Т-лимфоцитов, непосредственно окружающих клетки Рид — Штернберга, и полный набор костимуляторных молекул и молекул адгезии на клетках Ходжкина и Рид-Штернберга, полноценного цитотоксического иммунного ответа не происходит [22, 23].

Установлено, что клетки Рид-Штернберга и стромальные элементы секретируют цитокины, хемокины и другие растворимые иммуномодулирующие факторы, такие как IL-10, CCL-17/TARC, галектин-1 и индоламин 2,3-диоксигеназа (IDO), способные рекрутировать Th2- и регуляторные CD4⁺CD25⁺Т-клетки [24–29]. Возможно, именно этим обуславливается установленный нами факт снижения в периферическом русле количества CD4⁺-клеток.

В литературе рассматриваются несколько механизмов снижения уровня CD4⁺Т-лимфоцитов периферической крови у онкологических больных. Являясь мобильными клеточными элементами, лимфоциты мигрируют в лимфоидные органы под действием цитокинов опухоли и реактивного клеточного окружения, как уже сказано ранее, что может приводить к снижению в крови субпопуляции Т-хелперов и их соотношения с CD8⁺Т-киллерами [30].

Другая возможная причина развития CD4⁺Т-лимфоцитопении — снижение пула наивных Т-клеток за счет превращения их в клетки памяти под воздействием иммуногенной активации опухолями или инфекционными агентами. Преобладание клеток памяти над наивными клетками, происходящее с возрастом, в результате хронической активации у определенной части больных может привести к их истощению за счет механизмов индуцированной клеточной гибели, которой подвергаются клетки памяти. Поэтому истощение определенных типов иммунокомпетентных клеток происходит путями, аналогичными или близкими к механизмам старения иммунной системы, и фактор «старения» может быть рассмотрен как одна из причин дефицита CD4⁺Т-лимфоцитов [31]. Показано, что снижение Т-клеточной инфильтрации опухолевой ткани ухудшает отдаленные результаты лечения больных ЛХ и может быть расценено как истощение Т-клеточного иммунного ответа [32]. Можно высказать предположение, что развитие лимфоцитопении при морфологическом варианте лимфоидного истощения в определенной степени соответствует процессу старения иммунной системы. В свою очередь, лимфоцитопения при других морфологических вариантах может быть обусловлена иными механизмами, в том числе перераспределением клеток.

Приводятся сведения о сокращении количества наивных Т-клеток у больных метастатическим раком молочной железы [6], у которых в качестве причины периферической CD4⁺Т-лимфоцитопении авторы поддерживают идею снижения функции тимуса. Выявленное в настоящем исследовании увеличение частоты развития глубокого дефицита CD4⁺Т-лимфоцитов ($<0,2 \times 10^9/\text{л}$) до на-

чала лечения у лиц старше 45 лет в сравнении с более молодыми больными ($p = 0,063$) может также указывать на определенную роль возрастной инволюции тимуса при развитии дефицита CD4⁺Т-лимфоцитов.

Имеются данные о выраженной экспрессии цистеин-цистеин-хемокинового лиганда 17 (chemokine (C-C motif) ligand 17, CCL17) или иначе тимического активационно-регуляторного хемокина (thymus- and activation-regulated chemokine, TARC), на опухолевых клетках в случае классического варианта ЛХ и отсутствия данного хемокина при ЛХ с нодулярным лимфоидным преобладанием, равно как и в ряде других В-клеточных лимфом [24, 33]. CCL17 является лигандом для белка CCR4, экспрессируемого на Т-регуляторных лимфоцитах и Th2 лимфоцитах [34, 35]. Отсутствие полноценного взаимодействия данных белков может рассматриваться как альтернативный путь подавления эффекторной функции Th-2 Т-клеток.

Данная работа выполнена на базе МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, на протяжении многих лет успешно сочетающего в своей работе экспериментальные исследования и их клиническое применение [36, 37]. В ней изучена прогностическая значимость снижения количества CD4⁺Т-лимфоцитов периферической крови в группе, включавшей 162 больных с впервые диагностированной ЛХ. Важным выводом исследования оказалась возможность использования низкого показателя количества CD4⁺Т-клеток в качестве прогностического фактора, который может быть применим для больных с I–II стадиями заболевания, а также при III–IV стадиях с МПИ 0–3. Ограничением исследования является его ретроспективный характер. Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови не входит в стандарты обследования больных ЛХ перед выбором первой линии терапии. Половина (77 из 162, 48 %) данных для анализа была получена в рамках исследовательской работы по изучению частоты TCR-мутантных лимфоцитов у онкологических больных [37], остальные данные набирались проспективно с целью изучения субпопуляций лимфоцитов у больных с исходной лимфоцитопенией.

В настоящем исследовании частота присутствия дефицита CD4⁺Т-лимфоцитов у больных с содержанием лимфоцитов более $1,0 \times 10^9/\text{л}$ составила 9 %. Подобный скрытый дефицит CD4⁺Т-лимфоцитов чаще встречался у мужчин. Не исключено, что указанное обстоятельство поспособствовало попаданию мужского пола в МПИ в качестве одного из семи независимых факторов неблагоприятного прогноза. Полученные данные могут быть основанием для расширения показаний к проведению субпопуляционного анализа лимфоцитов до начала лечения ЛХ с целью выбора более адекватной интенсивности лечения. Возможно, понимание клинической значимости дефицита CD4⁺Т-клеток будет способствовать внедрению определенных изменений в стратегию лечения больных ЛХ.

Таким образом, установлена неблагоприятная прогностическая роль сниженного количества CD4⁺T-клеток периферической крови до начала лечения у больных с различными стадиями ЛХ. Данный показатель может быть использован как дополнительный биомаркер в прогнозе выживаемости больных ЛХ и в первую

очередь как маркер плохого прогноза у больных с начальными стадиями ЛХ. Для установления природы данного дефицита и возможных иммунофенотипических особенностей CD4⁺T-клеток у больных с абсолютной лимфопенией необходимы дальнейшие исследования.

Литература

1. Hasenclever D., Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med.* 1998; 339: 1506–14. DOI: 10.1056/NEJM199811193392104.
2. Bogatyreva T., Konova O., Pavlov V. Evolution of lymphocytopenia prognostic value in advanced Hodgkin's disease: a single-center experience. *Eur J Cancer.* 2003; 1(5): 425, abstr. 1020.
3. Богатырева Т.И., Павлов В.В., Конова О.А., Хаит С.Е. Абсолютная лимфоцитопения: фактор неблагоприятного прогноза при всех стадиях первичной лимфомы Ходжкина. *Гематология и трансфузиология.* 2012; 57(3): 32.
4. Богатырева Т.И., Павлов В.В. Лечение лимфомы Ходжкина. В кн.: *Терапевтическая радиология: национальное руководство.* Ред. Каприн А.Д., Мардынский Ю.С. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018; 525–46.
5. Péron J., Cropet C., Tredan O. et al. CD4 lymphopenia to identify end-of-life metastatic cancer patients. *Eur J Cancer.* 2013; 49: 1080–9. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.11.003.
6. Trédan O., Manuel M., Clapisson G. et al. Patients with metastatic breast cancer leading to CD4⁺ T cell lymphopenia have poor outcome. *Eur J Cancer.* 2013; 49(7): 1673–82. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.11.028
7. Dehghani M., Sharifpour S., Amirghofran Z., Zare H.R. Prognostic significance of T cell subsets in peripheral blood of B cell non-Hodgkin's lymphoma patients. *Med Oncol.* 2012; 29(4): 2364–71. DOI: 10.1007/s12032-012-0176-1.
8. He L., Liang J.H., Wu J.Z. et al. Low absolute CD4⁺ T cell counts in peripheral blood are associated with inferior survival in follicular lymphoma. *Tumor Biol.* 2016; 37(9): 12589–95. DOI: 10.1007/s13277-016-5124-9.
9. Carbone P.P., Kaplan H.S., Musshoff K. et al. Report of the Committee on Hodgkin's disease staging classification. *Cancer Res.* 1971; 31(11): 1860–1.
10. Bogatyreva T., Neprina G., Zamulaeva I. et al. CD4 lymphopenia as a prognosis factor in previously untreated Hodgkin lymphoma. *Haematologica.* 2016; 101(5): 10.
11. Seshadri T., Pintilie M., Keating A. et al. The relationship between absolute lymphocyte counts with PFS in patients with Hodgkin's lymphoma undergoing autologous hematopoietic cell transplant. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 42(1): 29–34. DOI: 10.1038/bmt.2008.41.
12. Porrata L.F., Ristow K., Colgan J.P. et al. Peripheral blood lymphocyte/monocyte ratio at diagnosis and survival in classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2012; 97(2):262-269. DOI:10.3324/haematol.2011.050138.
13. Tadmor T., Bari A., Marcheselli L. et al. Absolute monocyte count and lymphocyte/monocyte ratio predict outcome in nodular sclerosis Hodgkin lymphoma: evaluation based on data from 1450 patient. *Mayo Clin Proc.* 2015; 90(6): 756–64. DOI: 10.1016/j.mayocp.2015.03.025.
14. Sun H.L., Pan Y.Q., He B.S. et al. Prognostic performance of lymphocyte-to-monocyte ratio in diffuse large B-cell lymphoma: an updated meta-analysis of eleven reports. *Onco Targets Ther.* 2016; 9: 3017–23. DOI: 10.2147/OTT.S96910.
15. Kano S., Homma A., Hatakeyama H. et al. Pretreatment lymphocyte-to-monocyte ratio as an independent prognostic factor for head and neck cancer. *Head Neck.* 2017;39 (2): 247-253. DOI:10.1002/hed.24576.

References

1. Hasenclever D., Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med.* 1998; 339: 1506–14. DOI: 10.1056/NEJM199811193392104.
2. Bogatyreva T., Konova O., Pavlov V. Evolution of lymphocytopenia prognostic value in advanced Hodgkin's disease: a single-center experience. *Eur J Cancer.* 2003; 1(5): 425, abstr. 1020.
3. Bogatyreva T.I., Pavlov V.V., Konova O.A., Khait S.E. Absolute lymphocytopenia: a factor of poor prognosis in all stages of primary Hodgkin's lymphoma. *Haematologia i Transfusiologiya.* 2012; 57(3): 32 (In Russian).
4. Bogatyreva T.I., Pavlov V.V. Treatment of Hodgkin's lymphoma. In: *Therapeutic Radiology: National Guidance.* Eds. Kaprin A.D., Mardinsky Yu.S. Moscow: GEOTAR-Media, 2018; 525–46 (In Russian).
5. Péron J., Cropet C., Tredan O. et al. CD4 lymphopenia to identify end-of-life metastatic cancer patients. *Eur J Cancer.* 2013; 49: 1080–9. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.11.003.
6. Trédan O., Manuel M., Clapisson G. et al. Patients with metastatic breast cancer leading to CD4⁺ T cell lymphopenia have poor outcome. *Eur J Cancer.* 2013; 49(7): 1673–82. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.11.028
7. Dehghani M., Sharifpour S., Amirghofran Z., Zare H.R. Prognostic significance of T cell subsets in peripheral blood of B cell non-Hodgkin's lymphoma patients. *Med Oncol.* 2012; 29(4): 2364–71. DOI: 10.1007/s12032-012-0176-1.
8. He L., Liang J.H., Wu J.Z. et al. Low absolute CD4⁺ T cell counts in peripheral blood are associated with inferior survival in follicular lymphoma. *Tumor Biol.* 2016; 37(9): 12589–95. DOI: 10.1007/s13277-016-5124-9.
9. Carbone P.P., Kaplan H.S., Musshoff K. et al. Report of the Committee on Hodgkin's disease staging classification. *Cancer Res.* 1971; 31(11): 1860–1.
10. Bogatyreva T., Neprina G., Zamulaeva I. et al. CD4 lymphopenia as a prognosis factor in previously untreated Hodgkin lymphoma. *Haematologica.* 2016; 101(5): 10.
11. Seshadri T., Pintilie M., Keating A. et al. The relationship between absolute lymphocyte counts with PFS in patients with Hodgkin's lymphoma undergoing autologous hematopoietic cell transplant. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 42(1): 29–34. DOI: 10.1038/bmt.2008.41.
12. Porrata L.F., Ristow K., Colgan J.P. et al. Peripheral blood lymphocyte/monocyte ratio at diagnosis and survival in classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2012; 97(2): 262–9. DOI:10.3324/haematol.2011.050138.
13. Tadmor T., Bari A., Marcheselli L. et al. Absolute monocyte count and lymphocyte/monocyte ratio predict outcome in nodular sclerosis Hodgkin lymphoma: evaluation based on data from 1450 patient. *Mayo Clin Proc.* 2015; 90(6): 756–64. DOI: 10.1016/j.mayocp.2015.03.025.
14. Sun H.L., Pan Y.Q., He B.S. et al. Prognostic performance of lymphocyte-to-monocyte ratio in diffuse large B-cell lymphoma: an updated meta-analysis of eleven reports. *Onco Targets Ther.* 2016; 9: 3017–23. DOI: 10.2147/OTT.S96910.
15. Kano S., Homma A., Hatakeyama H. et al. Pretreatment lymphocyte-to-monocyte ratio as an independent prognostic factor for head and neck cancer. *Head Neck.* 2017;39 (2): 247-253. DOI:10.1002/hed.24576.

16. Marcheselli R., Bari A., Tadmor T. et al. Neutrophil-lymphocyte ratio at diagnosis is an independent prognostic factor in patients with nodular sclerosis Hodgkin lymphoma: results of a large multicenter study involving 990 patients. *Hematol Oncol.* 2017; 35: 561–6. DOI: 10.1002/hon.2359.
17. Ceze N., Thibault G., Goujon G. et al. Pre-treatment lymphopenia as a prognostic biomarker in colorectal cancer patients receiving chemotherapy. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2011; 68: 1305–13. DOI: 10.1007/s00280-011-1610-3.
18. Judd J., Dulaimi E., Li T. et al. Low Level of Blood CD4(+) T Cells Is an Independent Predictor of Inferior Progression-free Survival in Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2017; 17(2): 83–8. DOI: 10.1016/j.clml.2016.11.005.
19. Gooden M.J., de Bock G.H., Leffers N. et al. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br. J. Cancer.* 2011; 105(1):93–103. DOI: 10.1038/bjc.2011.189.
20. Qin Z., Blankenstein T. CD4+T cell-mediated tumor rejection involves inhibition of angiogenesis that is dependent on IFN gamma receptor expression by nonhematopoietic cells. *Immunity.* 2000; 12(6): 677–86. DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80218-6.
21. Ossendorp F., Toes R.E., Offringa R. et al. Importance of CD4(+) T helper cell responses in tumor immunity. *Immunol Lett.* 2000; 74: 75–9. DOI: 10.1007/s00262-004-0653-2.
22. Payne S.V., Jones D.B., Wright D.H. Reed-Sternberg-cell/lymphocyte interaction. *Lancet.* 1977; 310(8041): 768–9. DOI: 10.1016/S0140-6736(77)90281-1.
23. Stuart A.E., Williams A.R., Habeshaw J.A. Rosetting and other reactions of the Reed-Sternberg cell. *J. Pathol.* 1977; 122(2): 81–90. DOI: 10.1002/path.1711220205.
24. Van den Berg A., Visser L., Poppema S. High expression of the CC chemokine TARC in Reed-Sternberg cells. A possible explanation for the characteristic T-cell infiltration Hodgkin's lymphoma. *Am J Pathol.* 1999; 154(6): 1685–91. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65424-7.
25. Kuppers R. The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nat Rev Cancer.* 2009; 9(1): 15–27. DOI: 10.1038/nrc2542.
26. Aldinucci D., Lorenzon D., Cattaruzza L. et al. Expression of CCR5 receptors on Reed-Sternberg cells and Hodgkin lymphoma cell lines: involvement of CCL5/Rantes in tumor cell growth and microenvironmental interactions. *Int J Cancer.* 2008; 122(4): 769–76. DOI: 10.1002/ijc.23119.
27. Fischer M., Juremalm M., Olsson N. et al. Expression of CCL5/RANTES by Hodgkin and Reed-Sternberg cells and its possible role in the recruitment of mast cells into lymphomatous tissue. *Int J Cancer.* 2003; 107 (2):197–201. DOI: 10.1002/ijc.11370.
28. Kapp U., Yeh W.C., Patterson B. et al. Interleukin 13 is secreted by and stimulates the growth of Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *J Exp Med.* 1999; 189(12): 1939–46.
29. Skinnider B.F., Mak T.W. The role of cytokines in classical Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2002; 99 (12): 4283–97. DOI: 10.1182/blood-2002-01-0099.
30. Ayoub J.P., Palmer J.L., Huh Y. et al. Therapeutic and prognostic implications of peripheral blood lymphopenia in patients with Hodgkin's disease. *Leuk Lymphoma.* 1999; 34(5–6): 519–27. DOI: 10.3109/10428199909058479.
31. Ray-Coquard I., Cropet C., van Glabbeke M. et al. Lymphopenia as a Prognostic Factor for Overall Survival in Advanced Carcinomas, Sarcomas, and Lymphomas. *Cancer Res.* 2009; 69 (13): 5383–91. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3845.
32. Тумян Г.С., Тупицын Н.Н., Шолохова Е.Н. и др. Клиническая и иммуноморфологическая характеристика лимфомы Ходжкина. *Иммунология гемопоэза.* 2007; 1: 34–55.
16. Marcheselli R., Bari A., Tadmor T. et al. Neutrophil-lymphocyte ratio at diagnosis is an independent prognostic factor in patients with nodular sclerosis Hodgkin lymphoma: results of a large multicenter study involving 990 patients. *Hematol Oncol.* 2017; 35: 561–6. DOI: 10.1002/hon.2359.
17. Ceze N., Thibault G., Goujon G. et al. Pre-treatment lymphopenia as a prognostic biomarker in colorectal cancer patients receiving chemotherapy. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2011; 68: 1305–13. DOI: 10.1007/s00280-011-1610-3.
18. Judd J., Dulaimi E., Li T. et al. Low Level of Blood CD4(+) T Cells Is an Independent Predictor of Inferior Progression-free Survival in Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2017; 17(2): 83–8. DOI: 10.1016/j.clml.2016.11.005.
19. Gooden M.J., de Bock G.H., Leffers N. et al. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br. J. Cancer.* 2011; 105(1): 93–103. DOI: 10.1038/bjc.2011.189.
20. Qin Z., Blankenstein T. CD4+T cell-mediated tumor rejection involves inhibition of angiogenesis that is dependent on IFN gamma receptor expression by nonhematopoietic cells. *Immunity.* 2000; 12(6): 677–86. DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80218-6.
21. Ossendorp F., Toes R.E., Offringa R. et al. Importance of CD4(+) T helper cell responses in tumor immunity. *Immunol Lett.* 2000; 74: 75–9. DOI: 10.1007/s00262-004-0653-2.
22. Payne S.V., Jones D.B., Wright D.H. Reed-Sternberg-cell/lymphocyte interaction. *Lancet.* 1977; 310(8041): 768–69. DOI: 10.1016/S0140-6736(77)90281-1.
23. Stuart A.E., Williams A.R., Habeshaw J.A. Rosetting and other reactions of the Reed-Sternberg cell. *J. Pathol.* 1977; 122(2): 81–90. DOI: 10.1002/path.1711220205.
24. Van den Berg A., Visser L., Poppema S. High expression of the CC chemokine TARC in Reed-Sternberg cells. A possible explanation for the characteristic T-cell infiltration Hodgkin's lymphoma. *Am J Pathol.* 1999; 154(6): 1685–91. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65424-7.
25. Kuppers R. The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nat Rev Cancer.* 2009; 9(1): 15–27. DOI: 10.1038/nrc2542.
26. Aldinucci D., Lorenzon D., Cattaruzza L. et al. Expression of CCR5 receptors on Reed-Sternberg cells and Hodgkin lymphoma cell lines: involvement of CCL5/Rantes in tumor cell growth and microenvironmental interactions. *Int J Cancer.* 2008; 122(4): 769–76. DOI: 10.1002/ijc.23119.
27. Fischer M., Juremalm M., Olsson N. et al. Expression of CCL5/RANTES by Hodgkin and Reed-Sternberg cells and its possible role in the recruitment of mast cells into lymphomatous tissue. *Int J Cancer.* 2003; 107 (2): 197–201. DOI: 10.1002/ijc.11370.
28. Kapp U., Yeh W.C., Patterson B. et al. Interleukin 13 is secreted by and stimulates the growth of Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *J Exp Med.* 1999; 189(12):1939–46.
29. Skinnider B.F., Mak T.W. The role of cytokines in classical Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2002; 99 (12): 4283–97. DOI: 10.1182/blood-2002-01-0099.
30. Ayoub J.P., Palmer J.L., Huh Y. et al. Therapeutic and prognostic implications of peripheral blood lymphopenia in patients with Hodgkin's disease. *Leuk Lymphoma.* 1999; 34 (5–6): 519–27. DOI: 10.3109/10428199909058479.
31. Ray-Coquard I., Cropet C., van Glabbeke M. et al. Lymphopenia as a Prognostic Factor for Overall Survival in Advanced Carcinomas, Sarcomas, and Lymphomas. *Cancer Res.* 2009; 69 (13): 5383–91. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3845.
32. Tumyan G.S., Tupitsyn N.N., Sholokhova E.A. et al. Hodgkin's lymphoma: Clinical and immunological characterization. *Immunologiya Haempoeza.* 2007; 1: 34–55 (In Russian).

33. Peh S.C., Kim L.H., Poppema S. TARC, a CC-chemokine, is frequently expressed in classic Hodgkin's lymphoma but not in NLP Hodgkin's lymphoma, T-cell-rich B-cell lymphoma, and most cases of anaplastic large cell lymphoma. *Am J Surg Pathol.* 2001; 25(7): 925–9.
34. Van den Berg A., Maggio E., Rust R. et al. Clonal relation in a case of CLL, ALCL, and Hodgkin composite lymphoma. *Blood.* 2002; 100(4): 1425–9.
35. Ohshima K., Tutiya T., Yamaguchi T. et al. Infiltration of Th1 and Th2 lymphocytes around Hodgkin and Reed-Sternberg (H&RS) cells in Hodgkin disease: Relation with expression of CXC and CC chemokines on H&RS cells. *Int J Cancer.* 2002; 98(4): 567–72.
36. Каприн А.Д., Галкин В.Н., Жаворонков Л.П. и др. Синтез фундаментальных и прикладных исследований — основа обеспечения высокого уровня научных результатов и внедрения их в медицинскую практику. *Радиация и риск.* 2017; 26 (2): 26–40.
37. Замулаева И.А., Смирнова С.Г., Орлова Н.В. и др. Частота TCR мутантных лимфоцитов у онкологических больных до и после химиолучевого лечения. *Радиация и риск.* 2011; 20 (1): 8–18.

Информация об авторах

Богатырева Татьяна Ивановна*, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения лучевой и лекарственной терапии гемобластозов МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: bogatyreva@mrrc.obninsk.ru, тел.: +7 (484) 396-17-32; 249036, г. Обнинск, ул. Королева, 4.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1753-9232>

Терехова Алена Юрьевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением лучевой и лекарственной терапии гемобластозов МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7458-0269>

Афанасов Артем Олегович, ординатор отделения лучевой и лекарственной терапии гемобластозов МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8703-7417>

Кузьмина Евгения Геннадиевна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией клинической иммунологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0728-593X>

Мушкарina Татьяна Юрьевна, научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1266-1792>

33. Peh S.C., Kim L.H., Poppema S. TARC, a CC-chemokine, is frequently expressed in classic Hodgkin's lymphoma but not in NLP Hodgkin's lymphoma, T-cell-rich B-cell lymphoma, and most cases of anaplastic large cell lymphoma. *Am J Surg Pathol.* 2001; 25(7): 925–9.
34. Van den Berg A., Maggio E., Rust R. et al. Clonal relation in a case of CLL, ALCL, and Hodgkin composite lymphoma. *Blood.* 2002; 100(4): 1425–9.
35. Ohshima K., Tutiya T., Yamaguchi T. et al. Infiltration of Th1 and Th2 lymphocytes around Hodgkin and Reed-Sternberg (H&RS) cells in Hodgkin disease: Relation with expression of CXC and CC chemokines on H&RS cells. *Int J Cancer.* 2002; 98(4): 567–72.
36. Kaprin A.D., Galkin V.N., Zhavoronkov L.P. et al. Synthesis of basic and applied research is the basis of obtaining high-quality findings and translating them into clinical practice. *Radiatsiya i risk.* 2017; 26(2): 26–40 (In Russian).
37. Zamulaeva I.A., Smirnova S.G., Orlova N.V. et al. Analysis of TCR –mutant lymphocyte frequency in cancer patients before and after chemoradiation therapy. *Radiatsiya i risk.* 2011; 20(1): 8–18 (In Russian).

Information about the authors

Tatyana I. Bogatyreva*, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Department of Radiation and Drug Therapy for Hematologic Malignancies, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center, e-mail: bogatyreva@mrrc.obninsk.ru, tel.: +7 (484) 396-17-32; 249036, Obninsk, Koroleva Str., 4.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1753-9232>

Alena Yu. Terekhova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Radiation and Drug Therapy for Hematologic Malignancies, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7458-0269>

Artem O. Afanasov, Resident Physician, Department of Radiation and Drug Therapy for Hematologic Malignancies, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8703-7417>

Evgenia G. Kuz'mina, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0728-593X>

Tatiana Yu. Mushkarina, Researcher, Laboratory of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1266-1792>

Замулаева Ирина Александровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая отделом радиационной биохимии МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6136-8445>

Смирнова Светлана Григорьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пострадиационного восстановления МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4754-9784>

Орлова Нина Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пострадиационного восстановления МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3739-9193>

Гривцова Людмила Юрьевна, доктор биологических наук, заведующая отделом лабораторной медицины МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9103-9688>

Фалалеева Наталья Александровна, доктор медицинских наук, заведующая отделом лекарственной терапии злокачественных новообразований МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0023-4216>

Иванов Сергей Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, директор МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7689-6032>

Каприн Андрей Дмитриевич, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 24.04.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Irina A. Zamulaeva, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Head of the Department of Radiation Biochemistry, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6136-8445>

Svetlana G. Smirnova, Cand. Sci (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Post-radiation Recovery, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4754-9784>

Nina V. Orlova, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Postradiation Recovery, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3739-9193>

Ludmila Yu. Grivtsova, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Department of Laboratory Medicine, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9103-9688>

Natalia A. Falaleeva, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Drug Therapy for Cancer, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0023-4216>

Sergey A. Ivanov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Director, A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7689-6032>

Andrey D. Kaprin, RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Prof., Director, National Medical Research Radiological Center,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

*** Corresponding author**

Received 24 Apr 2019

Accepted 12 Sep 2019

ПОДДЕРЖИВАЮЩИЙ РЕЖИМ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ФЕРМЕНТНОЙ ТЕРАПИИ У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ БОЛЕЗНЬЮ ГОШЕ I ТИПА: ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Пономарев Р. В.^{*}, Лукина К. А., Сысоева Е. П., Чавынчак Р. Б., Соловьева А. А., Яцык Г. А., Куликов С. М., Лукина Е. А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Болезнь Гоше (БГ) — заболевание из группы лизосомных болезней накопления. Заместительная ферментная терапия (ЗФТ) является современным стандартом лечения БГ. Поддерживающий режим ЗФТ до настоящего времени не разработан.

Цель исследования: разработка оптимального, научно-экономически обоснованного режима поддерживающей ЗФТ у взрослых больных БГ I типа.

Материалы и методы. В исследование включено 100 взрослых больных БГ I типа, достигших целей лечения на фоне как минимум двух лет ЗФТ в стандартном режиме. Больные переводились на поддерживающий режим ЗФТ, заключающийся в увеличении интервала между инфузиями рекомбинантного фермента до 4 недель, в дозе 15–20 ед./кг массы тела. Оценка эффективности поддерживающего режима ЗФТ проводилась с интервалом 1 раз в 12 месяцев и включала основные показатели активности БГ. Срок наблюдения больных в рамках исследования варьировал от 12 до 36 месяцев.

Результаты. При использовании поддерживающего режима ЗФТ у больных БГ I типа, достигших целей лечения на фоне стандартного начального режима ЗФТ, сохраняется стабильность ранее достигнутого лечебного эффекта по всем критериям эффективности: не выявлено клинически значимых различий в показателях гемоглобина и тромбоцитов, размерах селезенки и степени специфической инфильтрации костного мозга бедренных костей.

Заключение: увеличение до 4 недель интервалов между инфузиями рекомбинантной глюкоцереброзидазы на протяжении 12, 24 и 36 месяцев не привело к ухудшению лабораторных и инструментальных показателей, ассоциированных с активностью БГ.

Ключевые слова: болезнь Гоше, заместительная ферментная терапия, ЗФТ, поддерживающий режим

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Пономарев Р.В., Лукина К.А., Сысоева Е.П., Чавынчак Р.Б., Соловьева А.А., Яцык Г.А., Куликов С.М., Лукина Е.А. Поддерживающий режим заместительной ферментной терапии у взрослых больных болезнью Гоше I типа: предварительные результаты. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(3):331–341. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-331-341>

REDUCED DOSING REGIMEN OF ENZYME REPLACEMENT THERAPY IN ADULT PATIENTS WITH TYPE I GAUCHER DISEASE: PRELIMINARY RESULTS

Ponomarev R. V.*, Lukina K. A., Sysoeva E. P., Chavynchak R. B., Solovyeva A. A., Yatsyk G. A., Kulikov S. M., Lukina E. A.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Gaucher disease (GD) belongs to the group of lysosomal storage diseases. Enzyme replacement therapy (ERT) is considered to be the current standard in GD treatment. No reduced ERT regimen has thus far been developed.

Aim. To develop an optimal reduced ERT regimen for adult patients with type I GD, which is scientifically and economically viable.

Materials and methods. The study included 100 adult patients with type I GD who achieved treatment goals following at least two years of the standard ERT regimen. Patients were prescribed a reduced ERT regimen, which consisted in increasing the interval between the infusions of the recombinant enzyme up to 4 weeks, at a dose of 15–20 units/kg of body weight. The efficacy of the reduced ERT regimen was assessed once every 12 months according to main GD parameters. The follow-up period in the study ranged from 12 to 36 months.

Results. The patients with type I GD who achieved treatment goals following the standard ERT regimen and were then prescribed a reduced ERT regimen retained a stable therapeutic effect of the initial treatment according to all parameters: no clinically significant differences found in haemoglobin and platelet levels, spleen size and specific infiltration of femur bone marrow.

Conclusion. An increase in the intervals between infusions of the recombinant glucocerebrosidase up to 4 weeks for 12, 24 and 36 months did not lead to worsening of the laboratory and instrumental parameters associated with GD.

Keywords: Gaucher disease, enzyme replacement therapy, ERT, reduced dosing regimen

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Ponomarev R.V., Lukina K.A., Sysoeva E.P., Chavynchak R.B., Solovyeva A.A., Yatsyk G.A., Kulikov S.M., Lukina E.A. Reduced dosing regimen of enzyme replacement therapy in adult patients with Type I Gaucher disease: preliminary results. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(3):331–341 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-331-341>

Введение

Болезнь Гоше (БГ) — наиболее распространенное заболевание из группы лизосомных болезней накопления, развивающееся вследствие наследственного дефицита активности лизосомного фермента кислой β -глюкозидазы (глюкоцеребросидазы) [1, 2]. Снижение или отсутствие каталитической активности глюкоцеребросидазы приводит к накоплению в клетках моноцитарно-макрофагальной системы не утилизируемого субстрата — глюкоцереброзида. Следствием данного процесса является нарушение зависимой

от макрофагов регуляции кроветворения, стимуляция провоспалительной активности макрофагов и увеличение их количества в селезенке, печени и костном мозге. Типичными клиническими проявлениями БГ являются цитопения, спленомегалия и гепатомегалия, поражение костно-суставной системы [3].

Заместительная ферментная терапия (ЗФТ), доступная с 1991 г. [4], является современным стандартом лечения БГ и заключается в пожизненном внутривенном введении рекомбинантного аналога человеческой

глюкоцереб্রозидазы, компенсирующего функциональную недостаточность собственного фермента [3]. Применение ЗФТ кардинально изменило клинический фенотип БГ, переведя тяжелое прогрессирующее заболевание в статус бессимптомного метаболического дефекта: у многих больных, длительно получающих ЗФТ, отсутствуют любые клинические, а также лабораторно и инструментально выявляемые проявления заболевания. В то же время общепринятые международные рекомендации по заместительной ферментной терапии при БГ, базирующиеся на результатах исследований 20–25-летней давности, не предусматривают возможности коррекции дозировки и частоты введения рекомбинантного фермента у больных с минимальными остаточными накоплениями сфинголипидов [5].

Поддерживающий режим ЗФТ до настоящего времени не разработан. И хотя первые предположения о целесообразности использования меньших доз и увеличенных интервалов инфузий ЗФТ у больных с легкими проявлениями БГ относятся к 1994 г. [6], систематического исследования редуцированных режимов терапии до настоящего времени не проводилось. Единичные публикации на данную тему приводят противоречивые результаты [7, 8].

В Российской Федерации лечение больных БГ с 2007 г. финансируется из средств федерального бюджета в рамках программы «7 высокочатотных нозологий». На октябрь 2018 г. в РФ зарегистрировано 350 взрослых больных БГ, большинство которых достигли целей лечения. Разработка поддерживающего режима ЗФТ для данной категории больных является актуальной научной и практической задачей.

Цель работы — разработка оптимального, научно и экономически обоснованного режима поддерживающей заместительной ферментной терапии у взрослых больных БГ I типа.

Материалы и методы

Проведен анализ эффективности и безопасности применения поддерживающего режима ЗФТ рекомбинантной глюкоцереб্রозидазы у взрослых больных БГ I типа, достигших целей лечения на фоне как минимум двух лет заместительной терапии в стандартном режиме. У всех больных диагноз БГ был верифицирован результатами энзимодиагностики (снижение активности глюкоцереб্রозидазы в лейкоцитах) и молекулярно-генетического анализа (биаллельная мутация гена глюкоцереб্রозидазы).

В соответствии с общепринятыми международными критериями [5] цели лечения БГ включали:

- стабильное повышение концентрации гемоглобина в течение 12–24 месяцев ≥ 110 г/л у женщин и детей и ≥ 120 г/л — у мужчин;

- повышение количества тромбоцитов:
- для больных, перенесших спленэктомию, — нормализация количества тромбоцитов;
- для больных без спленэктомии в анамнезе с умеренной исходной тромбоцитопенией — достижение субнормального количества тромбоцитов без спонтанного геморрагического синдрома ($>100 \times 10^9/\text{л}$);
- для больных без спленэктомии в анамнезе с исходно глубокой тромбоцитопенией — поддержание стабильного количества тромбоцитов, достаточного для профилактики геморрагического синдрома;
- уменьшение размеров печени на 30–40 %;
- уменьшение размеров селезенки до объема, не превышающего норму более чем в 2–8 раз;
- прекращение костных кризов и болей в костях, повышение минеральной плотности кости, предотвращение развития остеонекрозов.

После достижения вышеуказанных целей лечения больным выполнялось скрининг-обследование, включавшее:

- физикальное обследование;
- клинический анализ крови;
- биохимическое исследование крови;
- иммунохимическое исследование белков сыворотки крови;
- определение концентрации хемокина CCL18 в сыворотке крови;
- ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости (оценка размеров печени и селезенки);
- магнитно-резонансную томографию (МРТ) бедренных костей, тазобедренных и коленных суставов.

Критериями исключения являлись: возраст моложе 18 лет, БГ III типа, отсутствие достижения целей лечения БГ, тяжелые сопутствующие или интеркуррентные заболевания, беременность или кормление грудью.

После включения в исследование больные продолжали получать ЗФТ в рамках государственной программы «7 высокочатотных нозологий» препаратами рекомбинантной глюкоцереб্রозидазы (имиоглюцераза или велаглюцераза) с увеличенным до 4 недель интервалом между инфузиями в дозе 15–20 ед/кг массы тела. Лечение проводилось в соответствии с протоколом клинической апробации «Заместительная ферментная терапия взрослых пациентов с болезнью Гоше I типа с использованием поддерживающего режима» (№ 18-1, 2015 г.).

Оценка эффективности поддерживающего режима ЗФТ проводилась с интервалом в 12 месяцев и включала основные показатели активности БГ: количество тромбоцитов, концентрацию гемоглобина, размеры селезенки (по данным УЗИ) и степень специфической инфильтрации костного мозга бедренных костей (по данным МРТ).

В исследование включено 100 больных БГ I типа в возрасте от 19 до 84 лет, при этом 89 % составляли трудоспособные больные моложе 60 лет (медиана возраста — 36 лет), из них 67 % — женщины, 33 % — мужчины. У 42 % больных в прошлом, до поступления под наблюдение, была выполнена спленэктомия. На момент включения в исследование у 84 % больных длительность предшествующей ЗФТ составляла более 5 лет, у 32 % — более 10 лет. Больные включались в исследование на протяжении 3 лет: в период с IV квартала 2015 г. по IV квартал 2017 г. У 67 больных проведена оценка активности БГ через 12 месяцев ЗФТ в поддерживающем режиме (группа «12 месяцев»), у 33 больных — через 24 месяца (группа «24 месяца») и у 5 больных — через 36 месяцев (группа «36 месяцев»). Часть больных ($n = 33$), включенных в исследование в конце 2017 г., не вошла в анализ, поскольку продолжительность поддерживающего режима лечения у них составляет менее 12 месяцев. Двое больных были исключены из исследования через 12 месяцев терапии в поддерживающем режиме. Причинами исключения явились: у одного больного — развитие медуллярных и кортико-медуллярных остеонекрозов левой большеберцовой кости в отсутствии специфической инфильтрации костного мозга, у другого больного — смена места жительства.

Статистическая обработка. Для статистической обработки данных использовались методы описательной статистики (для контрольных точек 12 и 24 месяца), а также регрессионный анализ с использованием метода повторных наблюдений (для всех контрольных точек: 12, 24 и 36 месяцев). Выбор метода обусловлен необходимостью анализа данных больных с разной длительностью наблюдения и разным количеством контрольных точек. Регрессионный анализ осуществлялся с помощью процедуры Mixed SAS v. 9.4. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимался равным или менее 0,05.

Результаты

1. Динамика показателей гемоглобина

Предварительный анализ продемонстрировал отсутствие различий в показателях гемоглобина в группах больных, перенесших спленэктомию, и у больных без спленэктомии в анамнезе, в связи с чем дальнейшая статистическая обработка проводилась в общей группе больных.

Для анализа динамики показателей гемоглобина были построены регрессионные зависимости с учетом повторных измерений. Визуальный анализ индивидуальных показателей гемоглобина показал одностороннюю направленность кривых изменения концентрации гемоглобина во времени. Угол наклона усредненной линии регрессии, построенной с помощью процедур линейной модели на повторных измерениях, составил $-0,001$ г/л/мес и значимо не отличался от 0 ($p = 0,9$) (рис. 1). Таким образом, можно сделать вывод об отсутствии существенного положительного или отрицательного тренда изменения концентрации гемоглобина с течением времени.

С целью определения диапазона изменения индивидуальных трендов для каждого больного вычислены значения относительного изменения концентрации гемоглобина для контрольных точек в 12 и 24 месяца. Была выполнена оценка параметров распределения данных характеристик. В контрольной точке 12 месяцев среднее значение относительного изменения концентрации гемоглобина, равное $-0,1$ %, статистически значимо не отличалось от 0 ($p = 0,8963$). Разброс индивидуальных значений относительного изменения можно охарактеризовать (5–95 %) интерпроцентильным интервалом, т.е. интервалом значений, содержащим 90 % распределения. 90 % интервал для первой контрольной точки находился в диапазоне от $-9,7$ до $10,6$ % (рис. 2). В контрольной точке 24 месяца среднее значение относительного изменения концентрации гемоглобина ста-

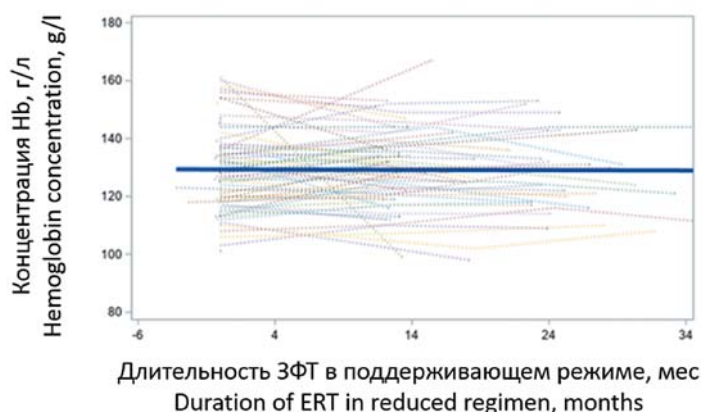


Рисунок 1. Изменение концентрации гемоглобина у больных, которым проводилась ЗФТ в поддерживающем режиме

Figure 1. Dynamics of hemoglobin concentration in patients with reduced ERT regimen

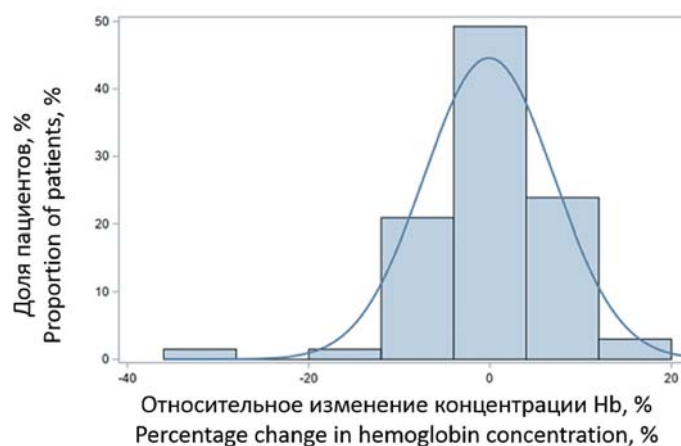


Рисунок 2. Распределение относительного изменения концентрации гемоглобина (12 месяцев ЗФТ в поддерживающем режиме)

Figure 2. Percentage change in hemoglobin concentration (12 months of reduced ERT regimen)

статистически значимо отличалось от 0 ($p = 0,02$), среднее 1,048 %. 90 % интервал находился в диапазоне от -2,5 до 5,8 % (рис. 3). Полученные данные позволяют сделать вывод об отсутствии систематического снижения концентрации гемоглобина, разброс индивидуальных приростов незначителен и лежит в пределах физиологических флуктуаций.

2. Динамика показателей тромбоцитов

Количество тромбоцитов является одним из наиболее чувствительных параметров, отражающих активность БГ. Уменьшение количества тромбоцитов наблюдали у большинства больных через 6 месяцев после отмены ЗФТ [10–12]. Для оценки динамики показателей тромбоцитов больные были разделены на две группы в зависимости от наличия или отсутствия спленэктомии в анамнезе (перенесшие спленэктомию, и больные без спленэктомии в анамнезе).

При построении регрессионных зависимостей с учетом повторных измерений было отмечено значительное различие как исходных показателей тромбоцитов в двух группах (в группе больных, перенесших спленэктомию, медиана тромбоцитов была в 2,2 выше, чем в группе больных без спленэктомии в анамнезе), так и динамики на фоне поддерживающего режима лечения (рис. 4). Визуальный анализ кривых изменения количества тромбоцитов во времени продемонстрировал отсутствие однородности индивидуальных трендов.

Угол наклона усредненной линии регрессии, построенной с помощью процедур общей линейной модели на повторных измерениях, в группе больных, перенесших спленэктомию, составил $-1,38 \times 10^9/\text{л/мес}$ ($p < 0,01$), что свидетельствует о наличии тенденции к медленному снижению количества тромбоцитов. В группе больных без спленэктомии в анамнезе угол наклона усредненной линии регрессии был меньше и составил $-0,35 \times 10^9/\text{л/мес}$ ($p = 0,005$).

С целью определения диапазона изменения индивидуальных трендов для каждого больного были вычислены значения относительного изменения количества тромбоцитов для контрольных точек в 12 и 24 месяца. Была выполнена оценка параметров распределения данных характеристик. У больных, перенесших спленэктомию, в контрольной точке 12 месяцев среднее значение относительного изменения количества тромбоцитов статистически значимо отличалось от 0 ($p = 0,02$) и составило -7,9 %. 90 % интервал распределения находился в диапазоне от -33 до +27 % (рис. 5).

В группе больных без спленэктомии в анамнезе в контрольной точке 12 месяцев среднее значение относительного изменения количества тромбоцитов статистически значимо не отличалось от 0 ($p = 0,06$) и составило -1,1 %. 90 % интервал распределения находился в диапазоне от -21 до +28 % (рис. 6). У боль-

ных, перенесших спленэктомию, в контрольной точке 24 месяца среднее значение относительного изменения количества тромбоцитов статистически значимо отличалось от 0 ($p = 0,01$) и составило -4,6 %. 90 % интервал распределения находился в диапазоне от -29,5 до +18,5 % (рис. 7).

В группе больных без спленэктомии в анамнезе в контрольной точке 24 месяца среднее значение относительного изменения количества тромбоцитов статистически значимо отличалось от 0 ($p = 0,04$) и составило -2,3 %. 90 % интервал распределения находился в диапазоне от -14 до +27,9 % (рис. 8).

Таким образом, при статистическом анализе выявлена тенденция к медленному снижению количества тромбоцитов при проведении поддерживающего режима ЗФТ. Данное снижение расценено как клинически незначимое. Ни у одного больного не отмечено развития глубокой тромбоцитопении и/или спонтанного геморрагического синдрома. Для окончательных выводов требуется продолжение данного клинического исследования и оценка долгосрочных результатов.

3. Динамика размеров селезенки

В качестве параметра контроля для оценки динамики размеров селезенки использовался вертикальный размер селезенки (длина), определяемый при УЗИ. Для анализа динамики размеров селезенки были построены регрессионные зависимости с учетом повторных измерений. Визуальный анализ кривых изменения размера селезенки во времени показал практически полное отсутствие трендов. Угол наклона усредненной линии регрессии, построенной с помощью процедур линейной модели на повторных измерениях, значимо не отличался от нуля и составил $-0,0001 \text{ мм/мес}$ ($p = 0,98$) (рис. 9).

Для каждого больного были вычислены значения относительного изменения размеров селезенки для контрольных точек в 12 и 24 месяца. Была выполнена оценка параметров распределения данных характеристик. В контрольной точке 12 месяцев среднее значение относительного изменения размеров селезенки статистически значимо не отличалось от 0 ($p = 0,6$) и составило 0,7 %. 90 % интервал распределения находился в диапазоне от -15 до +11 % (рис. 10). В контрольной точке 24 месяца среднее значение относительного изменения размеров селезенки также статистически значимо не отличалось от 0 ($p = 0,9$) и составило -0,08 %. 90 % интервал распределения находился в диапазоне от -5,0 до +5,5 % (рис. 11).

Полученные данные позволяют сделать вывод об отсутствии изменений размеров селезенки на фоне 12 и 24 месяца ЗФТ в поддерживающем режиме, разброс индивидуальных изменений размеров селезенки незначителен.

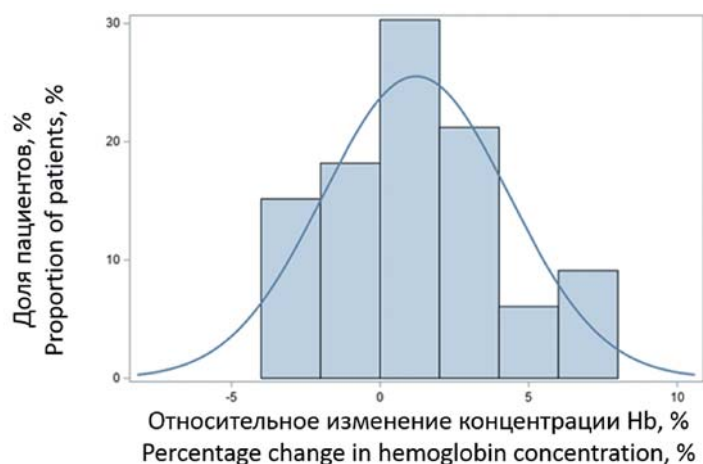


Рисунок 3. Распределение относительного изменения концентрации гемоглобина (24 месяца ЗФТ в поддерживающем режиме)

Figure 3. Percentage change in hemoglobin concentration (24 months of reduced ERT regimen)

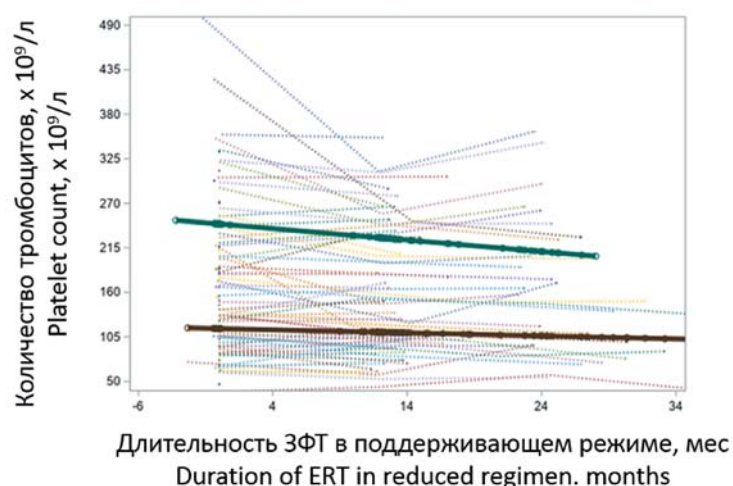


Рисунок 4. Изменение количества тромбоцитов на фоне поддерживающего режима ЗФТ

Figure 4. Dynamics of platelet count in patients with reduced ERT regimen

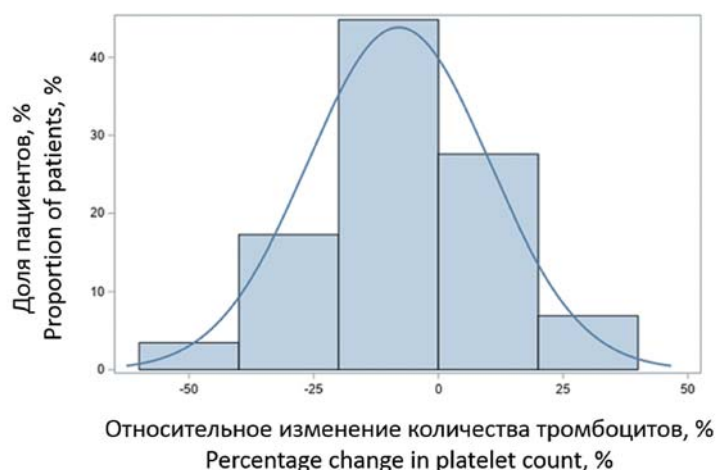


Рисунок 5. Распределение относительного изменения количества тромбоцитов у больных, перенесших спленэктомию (12 месяцев ЗФТ в поддерживающем режиме)

Figure 5. Percentage change in platelet count in splenectomized patients (12 months of reduced ERT regimen)

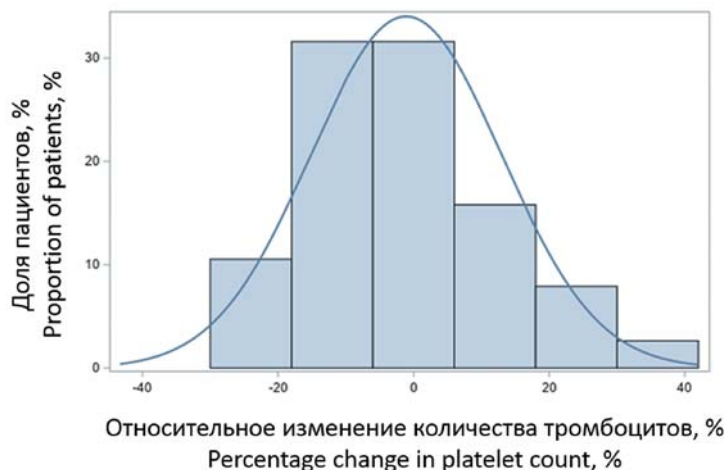


Рисунок 6. Распределение относительного изменения количества тромбоцитов у больных без спленэктомии в анамнезе (12 месяцев ЗФТ в поддерживающем режиме)

Figure 6. Percentage change in platelet count in non-splenectomized patients (12 months of reduced ERT regimen)

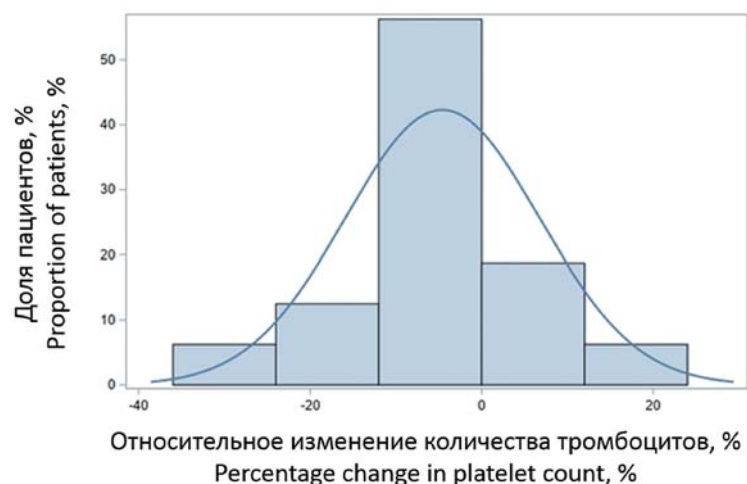


Рисунок 7. Распределение относительного изменения количества тромбоцитов у больных, перенесших спленэктомию (24 месяца ЗФТ в поддерживающем режиме)

Figure 7. Percentage change in platelet count in splenectomized patients (24 months of reduced ERT regimen)

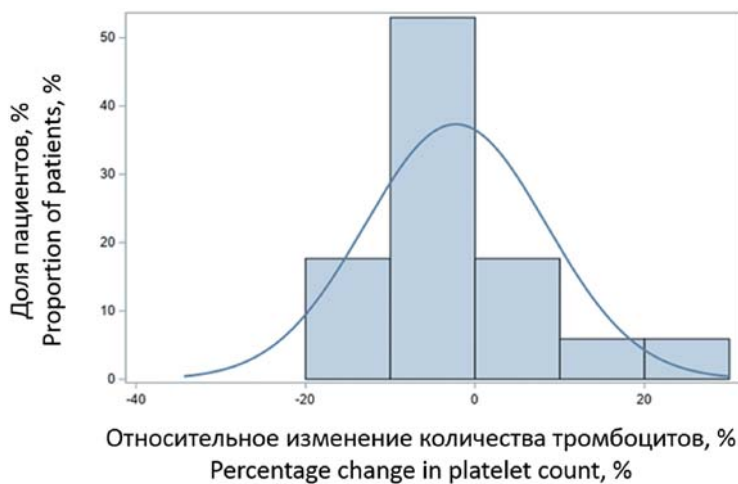


Рисунок 8. Распределение относительного изменения количества тромбоцитов у больных без спленэктомии в анамнезе (24 месяца ЗФТ в поддерживающем режиме)

Figure 8. Percentage change in platelet count in non-splenectomized patients (24 months of reduced ERT regimen)

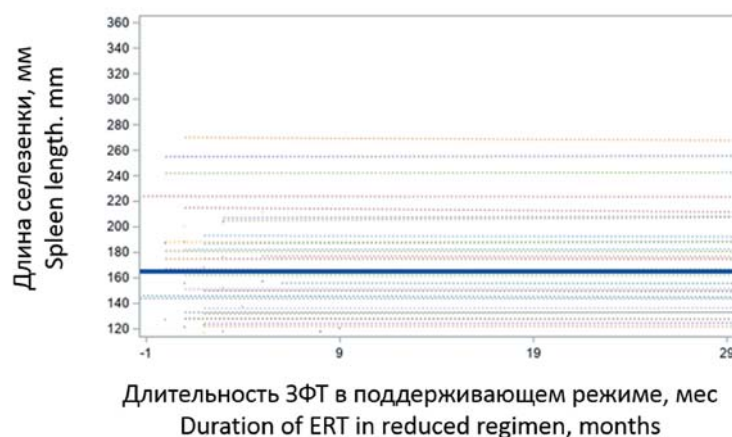


Рисунок 9. Изменение длины селезенки на фоне поддерживающего режима ЗФТ
Figure 9. Change in spleen length in patients with reduced ERT regimen

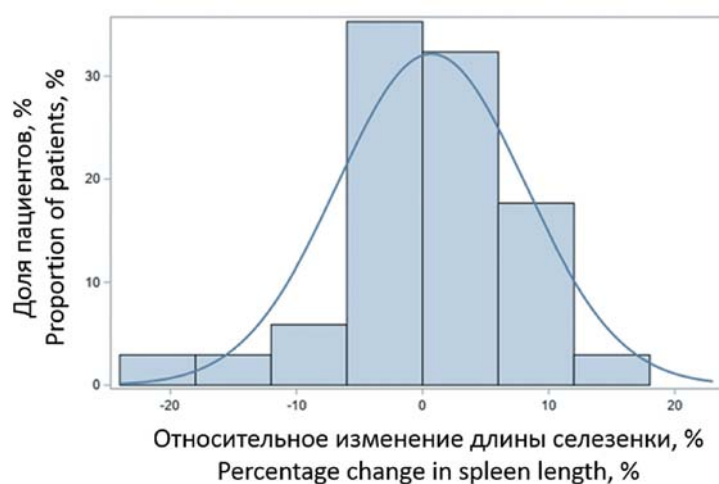


Рисунок 10. Распределение относительного изменения размера селезенки (12 месяцев ЗФТ в поддерживающем режиме)

Figure 10. Percentage change in spleen length (12 months of ERT in reduced regimen)

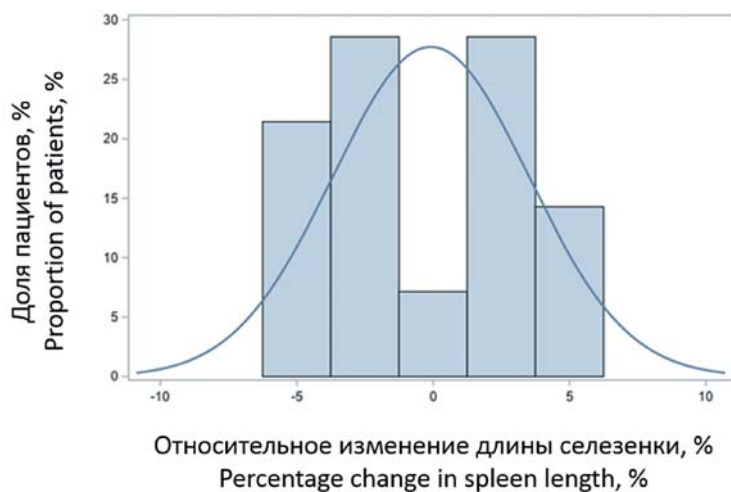


Рисунок 11. Распределение относительного изменения размера селезенки (24 месяца ЗФТ в поддерживающем режиме)

Figure 11. Percentage change in spleen length (24 months of ERT in reduced regimen)

4. Динамика специфической инфильтрации костного мозга

Поражение костной системы является типичным проявлением БГ и характеризуется исключительным разнообразием радиологических проявлений. По характеру поражения костно-суставной системы выделяют обратимые и необратимые изменения. К обратимым радиологическим признакам поражения костей относят специфическую инфильтрацию костного мозга клетками Гоше, которая может ассоциироваться с развитием остеопении или остеопороза, а также с отеком костного мозга. К характерным необратимым изменениям костей относят медуллярные остеонекрозы и кортико-медуллярные (асептические) некрозы, ведущие к развитию вторичных остеоартрозов [9].

Специфической инфильтрацией называют патологическую перестройку костного мозга бедренных костей, обусловленную замещением жирового костного мозга клетками Гоше, что выявляется с помощью МРТ у взрослых, как правило, старше 25 лет, больных. МРТ позволяет не только выявить инфильтрацию костного мозга, но и проводить динамический контроль состояния костного мозга при проведении патогенетической терапии. У больных, не получавших лечение, у которых имеются развернутые клинические проявления БГ, степень специфической инфильтрации значительно варьирует: от резко выраженной (рис. 12) до полного отсутствия (рис. 13). На фоне ЗФТ структура костного мозга восстанавливается, наблюдается постепенное уменьшение степени специфической инфильтрации вплоть до частичного или полного ее регресса.

Критерием включения больных в настоящее исследование служило полное отсутствие инфильтрации или наличие резидуальной (остаточной) инфильтрации костного мозга по данным МРТ бедренных костей. Резидуальной считали слабовыраженную инфильтрацию костного мозга у больных, длительно (≥ 5 лет) получающих ЗФТ и не имевших клинических проявлений поражения костно-суставной системы (костных кризов, хронических болей).

Оценка наличия и степени выраженности специфической инфильтрации костного мозга бедренных костей по данным МРТ проводилась у больных до включения в исследование и каждые 12 месяцев в ходе исследования.

В группе «12 месяцев» ($n = 66$) при включении в протокол специфическая инфильтрация костного мозга отсутствовала у 44 % больных, у 56 % — определялась в резидуальной (остаточной) степени. При контроле через 12 месяцев ЗФТ в поддерживающем режиме инфильтрация костного мозга отсутствовала у 53 % больных, у 44 % — сохранялась в прежней степени или уменьшилась.

В группе «24 месяца» ($n = 30$) у 57 % больных специфическая инфильтрация на момент включения от-

существовала, у 43 % — определялась в резидуальной степени. Через 24 месяца поддерживающей ЗФТ инфильтрация костного мозга отсутствовала у 73 % больных, у 23 % — сохранялась прежней степени или уменьшилась.

В группе «36 месяцев» ($n = 5$) специфическая инфильтрация костного мозга отсутствовала исходно у 3 из 5 больных, у 2 — определялась в резидуальной степени. Через 36 месяцев ЗФТ в поддерживающем режиме специфическая инфильтрация отсутствовала у 4 больных, у одного сохранялась в резидуальной степени.

Таким образом, при контрольных исследованиях через 12, 24 и 36 месяцев поддерживающего режима ЗФТ ни у одного из обследованных больных не было зафиксировано увеличения степени специфической инфильтрации костного мозга бедренных костей, тогда как у части больных отмечено дальнейшее уменьшение степени инфильтрации или ее полный регресс.

Обсуждение

ЗФТ рекомбинантной глюкоцереброзидазой применяется с 1994 г. и кардинально изменила течение и прогноз БГ. Своевременное назначение ЗФТ предотвращает необратимое поражение внутренних органов и костно-суставной системы. ЗФТ назначается пожизненно в виде внутривенных инфузий 1 раз в 2 недели. Начальные дозы варьируют от 15 до 60 ед/кг массы тела больного в зависимости от тяжести заболевания.

Общепринятый режим поддерживающей терапии до настоящего времени не разработан. Продолжение терапии высокими дозами фермента у больных, имеющих минимальные остаточные накопления сфинголипидов, патофизиологически не обосновано. В то же время очевидно отрицательное влияние частых венопункций на сосудистую стенку, что со временем затрудняет венозный доступ. Кроме того, для многих молодых и социально активных больных необходимость пожизненных внутривенных инфузий является своего рода психологическим бременем, в том числе в связи с низким распространением в нашей стране «терапии на дому». Нередко это является причиной самостоятельного изменения режима ЗФТ и бессистемного пропуска плановых инфузий.

Увеличивать интервалы между инфузиями фермента допустимо не у всех больных. Начальная терапия у больных с выраженными проявлениями БГ должна осуществляться со стандартной частотой инфузий. На последующих этапах, при оценке возможности перевода больных на поддерживающий режим терапии, решающее значение имеет комплексное обследование и оценка критериев достижения целей лечения БГ. В программу обследования обязательно включается МРТ бедренных костей с оценкой степени специфической инфильтрации костного мозга. Отсутствие специфической инфильтрации является важным кри-

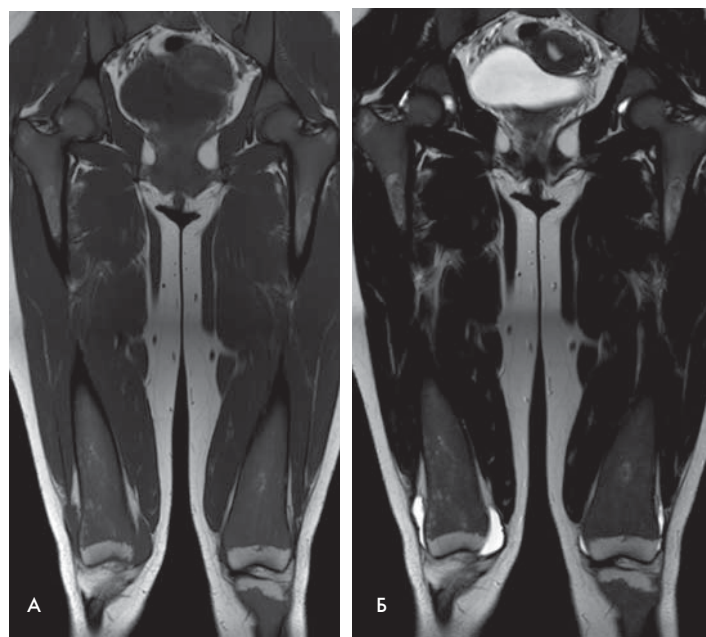


Рисунок 12. МРТ (T1-ВИ (А) и T2-ВИ (Б) режимы) больного с выраженной инфильтрацией костного мозга

Figure 12. MRI (A: T1 and B: T2 modes) of a patient with severe bone marrow infiltration

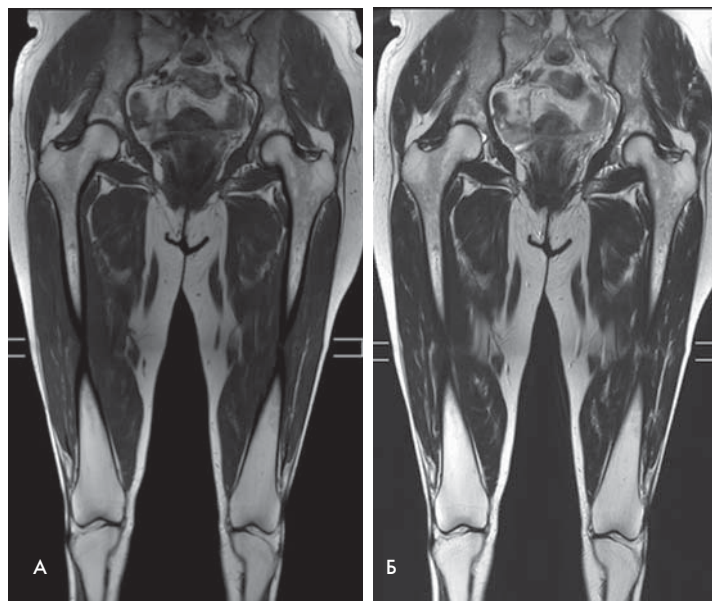


Рисунок 13. МРТ (T1-ВИ (А) и T2-ВИ (Б) режимы) больного без специфической инфильтрации костного мозга

Figure 13. MRI (T1 (A) and T2 (B) modes) of a patient without specific bone marrow infiltration

терием эффективности лечения, особенно у больных, перенесших спленэктомию, и, как правило, ассоциируется с достижением всех остальных целей лечения. Сформировавшиеся необратимые изменения костно-суставной системы определяют исходную тяжесть заболевания (количество состоявшихся в прошлом остеонекрозов и их последствия для функционирования костно-суставной системы), но не отражают активность БГ и не являются основанием для ЗФТ, особенно высокими дозами фермента.

Учитывая неопухолевую природу БГ, медленный темп как прогрессии заболевания, так и регресса симптоматики при проведении патогенетической терапии, решение вопроса о переводе больных на поддерживающий режим лечения необходимо принимать, опираясь на динамику лабораторных и инструментальных показателей, а не на абсолютные значения тех или иных параметров, исследованных в определенный момент. К примеру, сохранение значительной спленомегалии при длительной ЗФТ может быть обусловлено наличием в селезенке множественных гошею — очаговых скоплений клеток Гоше и/или очагов фиброза, размеры которых не подвергаются регрессу независимо от дозы фермента. Наличие увеличенной за счет множественных гошею селезенки при отсутствии специфической инфильтрации костного мозга не является противопоказанием к переводу больных на поддерживающий режим ЗФТ.

Таким образом, ключевым фактором, определяющим успешность применения поддерживающего режима заместительной ферментной терапии, является отбор больных, имеющих минимальные остаточные

накопления сфинголипидов и, следовательно, приближенную к норме функциональную активность макрофагальной системы. В этом случае увеличение интервалов между инфузиями рекомбинантного фермента до 4 недель не приводит к прогрессии заболевания и является патогенетически обоснованным и экономически рациональным режимом пожизненной ЗФТ у взрослых больных БГ, достигших целей лечения при стандартном лечении.

Таким образом, предварительные результаты клинической апробации поддерживающего режима ЗФТ у взрослых больных БГ I типа показали, что увеличение до 4 недель интервалов между инфузиями рекомбинантной глюкоцереброзидазы на протяжении 12–36 месяцев не привело к клинически значимому ухудшению лабораторных и инструментальных показателей, ассоциированных с активностью БГ. Окончательные выводы об эффективности поддерживающего режима ЗФТ у взрослых больных БГ могут быть сделаны через 48 месяцев, когда все 98 больных пройдут три контрольные точки обследования: через 12, 24 и 36 месяцев поддерживающей терапии.

Литература

1. Краснопольская К.Д. Наследственные болезни обмена веществ. М.: Медицина, 2005; 365.
2. Zimran A., Elstein D. Lipid storage diseases. In: Williams Hematology. Eds Lichtman MA. 8th ed; New York: McGraw-Hill. 2010; 1065–71.
3. Zimran A. How I treat Gaucher disease. Blood. 2011; 118: 1463–71. DOI: 10.1182/blood-2011-04-308890
4. Barton N.W., Brady R.O., Dambrosia J.M. et al. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency: macrophage-targeted glucocerebrosidase for Gaucher's disease. New Eng. J. Med. 1991; 324: 1464–70.
5. Biegstraaten M., Cox T.M., Belmatoug N. et al. Management goals for type 1 Gaucher disease: An expert consensus document from the European working group on Gaucher disease. Blood Cells Mol Dis. 2018; 68: 203–8. DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.10.008
6. Brady R.O., Barton N.W. Enzyme replacement therapy for Gaucher disease, critical investigations beyond demonstration of clinical efficacy. Biochem Med. Metab. Biol. 1994; 52: 1–9.
7. Pérez-Calvo J., Giraldo P., Pastores G.M. et al. Extended interval between enzyme therapy infusions for adult patients with Gaucher's disease type 1. J Postgrad Med. 2003; 49 (2): 127–31.
8. De Fost M., Aerts J.M., Groener J.E. et al. Low frequency maintenance therapy with imiglucerase in adult type I Gaucher disease: a prospective randomized controlled trial. Haematologica. 2007; 92: 215–21. DOI: 10.3324/haematol.10635
9. Соловьева А.А., Лукина К.А., Яцык Г.А. Лучевая семиотика поражений костно-суставной системы при болезни Гоше I типа: современный взгляд. Вестник рентгенологии и радиологии. 2019; 100: 15–26. DOI: 10.20862/0042-4676-2019-100-1-15-26
10. Zimran A., Altarescu G., Elstein D. Nonprecipitous changes upon withdrawal from imiglucerase for Gaucher disease because of a shortage in supply. Blood Cells Mol Dis. 2011; 46(1): 111–4. DOI: 10.1016/j.bcmd.2010.05.001
11. Goldblatt J., Fletcher J.M., McGill J. et al. Enzyme replacement therapy "drug holiday": results from an unexpected shortage of an orphan drug supply in Australia.

References

1. Krasnopolskaya K.D. Hereditary metabolic diseases. Moscow: Izdatelstvo Meditsina, 2005; 365 (In Russian).
2. Zimran A., Elstein D. Lipid storage diseases. In: Williams Hematology. Eds Lichtman MA. 8th ed; New York: McGraw-Hill. 2010; 1065–71.
3. Zimran A. How I treat Gaucher disease. Blood. 2011; 118: 1463–71. DOI: 10.1182/blood-2011-04-308890
4. Barton N.W., Brady R.O., Dambrosia J.M. et al. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency: macrophage-targeted glucocerebrosidase for Gaucher's disease. New Eng. J. Med. 1991; 324: 1464–70.
5. Biegstraaten M., Cox T.M., Belmatoug N. et al. Management goals for type 1 Gaucher disease: An expert consensus document from the European working group on Gaucher disease. Blood Cells Mol Dis. 2018; 68: 203–8. DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.10.008
6. Brady R.O., Barton N.W. Enzyme replacement therapy for Gaucher disease, critical investigations beyond demonstration of clinical efficacy. Biochem Med. Metab. Biol. 1994; 52: 1–9.
7. Pérez-Calvo J., Giraldo P., Pastores G.M. et al. Extended interval between enzyme therapy infusions for adult patients with Gaucher's disease type 1. J Postgrad Med. 2003; 49 (2): 127–31.
8. De Fost M., Aerts J.M., Groener J.E. et al. Low frequency maintenance therapy with imiglucerase in adult type I Gaucher disease: a prospective randomized controlled trial. Haematologica. 2007; 92: 215–21. DOI: 10.3324/haematol.10635
9. Soloveva A.A., Lukina K.A., Yatsyk G.A. Radiation Semiotics of Osteoarticular Involvement in Gaucher Disease Type I: a Modern View. Vestnik rentgenologii i radiologii=Journal of radiology and nuclear medicine. 2019; 100(1): 15–6. DOI: 10.20862/0042-4676-2019-100-1-15-26 (In Russian).
10. Zimran A., Altarescu G., Elstein D. Nonprecipitous changes upon withdrawal from imiglucerase for Gaucher disease because of a shortage in supply. Blood Cells Mol Dis. 2011; 46(1): 111–4. DOI: 10.1016/j.bcmd.2010.05.001
11. Goldblatt J., Fletcher J.M., McGill J. et al. Enzyme replacement therapy "drug holiday": results from an unexpected shortage of an orphan drug supply in Australia.

Blood Cells Mol Dis. 2011; 46(1): 107–10. DOI: 10.1016/j.bcmd.2010.05.002
 12. Giraldo P., Irún P., Alfonso P. et al. Evaluation of Spanish Gaucher disease patients after a 6-month imiglucerase shortage. Blood Cells Mol Dis. 2011; 46(1):115–8. DOI: 10.1016/j.bcmd.2010.09.005

Информация об авторах

Пономарев Родион Викторович*, аспирант, врач-гематолог отделения орфанных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: Ponomarev.r.v@icloud.com, тел.: +7 (495) 612-09-23; 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1218-0796>

Лукина Кира Анатольевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения орфанных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: kira1404@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6757-985X>

Сысоева Елена Павловна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения орфанных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: epso@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5056-9540>

Чавынчак Роланда Борисовна, заместитель заведующей отделением орфанных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: chrol@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4898-2819>

Соловьева Анастасия Александровна, аспирант, врач-рентгенолог отделения магнитно-резонансной томографии и ультразвуковой диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: solov136@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5112-3594>

Яцык Галина Александровна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением магнитно-резонансной томографии и ультразвуковой диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: galina.yatsyk@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8589-6122>

Куликов Сергей Михайлович, кандидат технических наук, руководитель информационно-аналитического отдела ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: smkulikov@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6288-7570>

Blood Cells Mol Dis. 2011; 46(1): 107–10. DOI: 10.1016/j.bcmd.2010.05.002
 12. Giraldo P., Irún P., Alfonso P. et al. Evaluation of Spanish Gaucher disease patients after a 6-month imiglucerase shortage. Blood Cells Mol Dis. 2011; 46(1): 115–8. DOI: 10.1016/j.bcmd.2010.09.005

Information about the authors

Rodion V. Ponomarev*, Postgraduate researcher, Hematologist, Department of Orphan Diseases, National Research Center for Hematology, e-mail: ponomarev.r.v@icloud.com, tel.: +7 (495) 612-09-23; 125167, Moscow, Novyy Zykovskiy proezd, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1218-0796>

Kira A. Lukina, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Department of Orphan Diseases, National Research Center for Hematology, e-mail: kira1404@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6757-985X>

Elena P. Sysoeva, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, National Research Center for Hematology, e-mail: epso@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5056-9540>

Rolanda B. Chavynchak, Deputy Head, Department of Orphan Diseases, National Research Center for Hematology, e-mail: chrol@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4898-2819>

Anastasia A. Solovyeva, Postgraduate researcher, Radiologist, Department of Magnetic Resonance Imaging and Ultrasound Diagnostics, National Research Center for Hematology, e-mail: solov136@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5112-3594>

Galina A. Yatsyk, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Magnetic Resonance Imaging and Ultrasound Diagnostics, National Research Center for Hematology, e-mail: galina.yatsyk@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8589-6122>

Sergey M. Kulikov, Cand. Sci. (Engineering), Head of the Information and Analysis Department, National Research Centre of Hematology, e-mail: smkulikov@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6288-7570>

Лукина Елена Алексеевна, профессор, доктор медицинских наук, заведующая отделением орфанных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: elenalukina02@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8774-850X>

Elena A. Lukina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Orphan Diseases, National Research Center for Hematology,
e-mail: elenalukina02@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8774-850X>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 07.07.2019

Принята к печати: 12.09.2019

*** Corresponding author**

Received 07 Jul 2019

Accepted 12 Sep 2019

НАЛИЧИЕ КЛОНА ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ НОЧНОЙ ГЕМОГЛОБИНУРИИ И ДРУГИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ

Фидарова З. Т.*, Абрамова А. В., Лучкин А. В.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. В основе патогенеза приобретенной апластической анемии (АА) лежит иммуноопосредованное развитие костномозговой недостаточности. Отсутствие однозначных причин развития иммунной агрессии делает актуальными исследования, направленные на изучение генетических нарушений в оставшемся пуле гемопоэтических стволовых клеток, в кроветворной нише, а также механизмов срыва иммунологической толерантности.

Цель настоящего обзора литературы — описание наиболее актуальных маркеров, позволяющих охарактеризовать больных АА в зависимости от возможного ответа на ИСТ и сформировать группы риска развития рефрактерности и клональной эволюции.

Основные сведения. Вероятность общей выживаемости больных АА, которым проведена программная иммуносупрессивная терапия (ИСТ), сопоставима с результатами трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток крови (алло-ТГСК) от родственного донора в первой линии терапии. Согласно современным отечественным и международным рекомендациям, выбор тактики лечения больных АА определяется возрастом больного и наличием HLA-идентичного сиблинга. Методом выбора лечения больных младше 40 лет является алло-ТГСК от родственного HLA-идентичного донора, но возможность проведения алло-ТГСК ограничена наличием донора. Несмотря на то что вероятность бессобытийной выживаемости при проведении ИСТ уступает результатам алло-ТГСК, для большинства больных АА ИСТ остается основным методом лечения. С целью минимизации неблагоприятных исходов необходимо учитывать наличие предикторов эффективности лечения и вероятность развития поздней клональной эволюции уже на этапе диагностики АА. Оценка и формирование групп риска больных позволит на этапе планирования выбрать оптимальный подход, включающий добавление к ИСТ агонистов тромбопоэтиновых рецепторов, или поиск неродственного HLA-совместимого донора и переход к алло-ТГСК в более ранние сроки.

Ключевые слова: апластическая анемия, иммуносупрессивная терапия, клон пароксизмальной ночной гемоглобинурии

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Фидарова З.Т., Абрамова А.В., Лучкин А. В. Наличие клона пароксизмальной ночной гемоглобинурии и другие факторы, влияющие на эффективность иммуносупрессивной терапии у больных идиопатической апластической анемией. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(3):342–352. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-342-352>

CLONE OF PAROXYSMAL NOCTURNAL HAEMOGLOBINURIA AND OTHER PREDICTORS OF THE RESPONSE TO IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC APLASTIC ANAEMIA

Fidarova Z. T.*, Abramova A. V., Luchkin A. V.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The pathogenesis of acquired aplastic anaemia (AA) is based on immune-mediated development of bone marrow failure. The absence of clear reasons for the development of immune aggression determines the relevance of investigations aimed at studying genetic disorders in the remaining pool of hematopoietic stem cells, in the hematopoietic niche, as well as mechanisms underlying the failure of immunological tolerance.

Aim. The present literature review describes the most relevant markers used for characterising AA patients on the basis of their possible response to immunosuppressive therapy (IT) and for forming groups being at risk of developing refractoriness and clonal evolution.

General findings. The overall survival probability in patients with AA following program IT is comparable to the results of transplanting allogeneic hematopoietic blood stem cells (allo-HSCT) from a related donor in the first line of therapy. According to current Russian and international recommendations, the tactics for treating AA patients is determined by the patient's age and the presence of an HLA-identical sibling. Allo-HSCT from a related HLA-identical donor is a method used for treating patients younger than 40 years; however, the possibility of performing allo-HSCT is limited by donor availability. Although the event-free survival probability during IT is inferior to the results of allo-HSCT, IT remains the main treatment method for most patients with AA. In order to minimise adverse outcomes, it is necessary to consider predictors of treatment efficacy along with the likelihood of developing late clonal evolution as early as at the AA diagnosis stage. Patient evaluation and formation of risk groups will facilitate selection of the most optimal treatment approach at the therapy planning stage, which includes either IT combination with thrombopoietin receptor agonists, or a search for an unrelated HLA-compatible donor and timely allo-HSCT.

Keywords: aplastic anaemia, immunosuppressive therapy, clone of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Fidarova Z.T., Abramova A.V., Luchkin A.V. Clone of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria and other predictors of the response to immunosuppressive therapy in patients with idiopathic aplastic anaemia. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(3):342–352 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-342-352>

Введение

Приобретенная апластическая анемия (АА) является редким, жизнеугрожающим заболеванием, характеризующимся иммуноопосредованной аплазией костного мозга [1, 2]. В исследованиях последних лет выявлены и другие патогенетические механизмы заболевания, связанные с клональными перестройками в гемопоэтических стволовых клетках (ГСК) в резуль-

тате хромосомных аномалий, геномной нестабильности, истощения теломерных участков ДНК в стволовых кроветворных клетках и персистирующими соматическими мутациями, характерными для миелодиспластических заболеваний [3, 4].

Иммуносупрессивная терапия (ИСТ) является эффективным методом лечения больных приобретен-

ной АА. Однако прогнозировать ответ на проводимую ИСТ и долгосрочные результаты лечения не представляется возможным ввиду риска развития рефрактерности, рецидивов и появлением аберрантных клонов [5–7]. В качестве маркеров эффективного исхода лечения предложено большое количество параметров (возраст, пол, показатели гемограммы на момент установления диагноза, наличие и размер клона пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ), длина теломерных участков ДНК и др.). В настоящем обзоре представлена значимость и возможность практического применения этих параметров.

Целью настоящего обзора литературы является описание наиболее актуальных маркеров, позволяющих охарактеризовать больных АА в зависимости от возможного ответа на ИСТ и сформировать группы риска развития рефрактерности и клональной эволюции.

Возраст и показатели гемограммы

Возрастной пик заболеваемости АА приходится на два периода: 15–25 и 60–65 лет [8]. Возраст является значимым фактором, определяющим вероятность ответа на ИСТ. В различных исследованиях [7, 9, 10] показано, что больные АА младше 18 лет отвечают на лечение не только лучше, но и быстрее. Р. Scheinberg и соавт. [8] показали, что ответ на ИСТ больных до 18, от 18 до 60 и более 60 лет к шестому месяцу лечения составил 74,4, 58,3 и 52,9 % соответственно. Кумулятивная частота достижения ответа на ИСТ достоверно выше среди молодых взрослых (15–25 лет) в сравнении со взрослыми старше 25 лет и нивелируется при сопоставлении результатов лечения молодых взрослых с детьми (младше 15 лет) [11]. Это позволяет рассматривать возраст на момент заболевания менее 25 лет как фактор эффективности ответа на ИСТ.

Некоторые показатели гемограммы, определенные в дебюте АА, выделены в ряде исследований как значимые факторы прогноза ответа на лечение. Наиболее благоприятный ответ на ИСТ продемонстрирован у больных нетяжелой формой АА по сравнению с тяжелой (95 и 81,8 % соответственно) [5]. Р. Scheinberg и соавт. [8] в ретроспективном исследовании с помощью мультивариантного анализа установили, что наряду с гранулоцитами прогностическое значение имеет абсолютное число ретикулоцитов (АЧР) и лимфоцитов (АЧЛ). Согласно этому исследованию [8], у больных АА, у которых $\text{АЧР} \geq 25 \times 10^9/\text{л}$ и $\text{АЧЛ} \geq 1 \times 10^9/\text{л}$, вероятность ответа к шестому месяцу лечения составляет 83,1 % по сравнению 40,7 % ответа у больных АА с $\text{АЧР} \leq 25 \times 10^9/\text{л}$ и $\text{АЧЛ} \leq 1 \times 10^9/\text{л}$. Связь между эффективностью ИСТ и показателями гемограммы, характеризующими пролиферативную активность остаточного кроветворения (АЧР, АЧЛ), отмечена в нескольких работах [8, 12, 13]. Однако данный факт подтверждается не во всех исследованиях. Исследование, проведенное

в Японии [12], показало, что у больных АА с количеством лейкоцитов крови менее $2,0 \times 10^9/\text{л}$ ответ на ИСТ был лучше, чем у больных с большим количеством лейкоцитов крови ($p = 0,0003$). Медиана АЧЛ у не ответивших на ИСТ больных была выше и составила $2,0 \times 10^9/\text{л}$ против $1,6 \times 10^9/\text{л}$ у ответивших больных. В данном исследовании был выделен фактор «интервал времени» от момента установления диагноза и до начала ИСТ, который у ответивших на лечение больных был короче. Возможно, решение о начале ИСТ принимали в отношении больных, у которых была более выраженная цитопения, тем самым больные, которым ИСТ начата более чем через 90 дней от постановки диагноза, имели необратимые повреждения гемопоэтической ткани. Сверхтяжелая форма АА (АЧН менее $0,2 \times 10^9/\text{л}$) ассоциируется с большим числом жизнеугрожающих инфекционных осложнений и ранней смерти, и к моменту оценки ответа на ИСТ значение данного фактора нивелируется [13].

Таким образом, показатели гемограммы могут ассоциироваться с остаточной кроветворной способностью гемопоэтических стволовых клеток и рассматриваться как фактор прогноза ответа на ИСТ.

Иммунные механизмы развития аплазии костного мозга

Аплазия костного мозга при АА развивается как следствие иммуноопосредованного повреждения гемопоэза. Патогенез развития приобретенной АА включает нарушения регуляции CD8^+ -цитотоксических Т-лимфоцитов, CD4^+ -Т-лимфоцитов, в том числе Т-хелперов (Th) 1-го типа, Th2-типа, регуляторных Т-лимфоцитов и Th17-типа, NK-клеток и NK-Т-клеток, которые посредством аномальной продукцией цитокинов, таких как интерферон (ИНФ)- γ , фактор некроза опухоли альфа (ФНО)- α , трансформирующий фактор роста бета (ТФР)- β , активируют апоптоз стволовых клеток крови или снижают их пролиферацию [14]. Изменения в полиморфизме генов ИНФ- γ , ФНО- α , ТФР- β , так же как и аллелей главного комплекса гистосовместимости (HLA), могут способствовать развитию иммуноопосредованной гибели клеток-предшественниц кроветворения и неэффективности гемопоэза [14].

В результате изучения факторов иммунной и генетической предрасположенности к развитию АА в качестве значимых выделены система главного комплекса гистосовместимости (HLA) и полиморфизм генов цитокинов [15]. В нескольких исследованиях показана связь полиморфизма нуклеотидных последовательностей генных фрагментов определенных молекул HLA с развитием приобретенной АА [16]. На основании существующих данных удалось выделить потенциальное влияние полиморфизма генов HLA на развитие приобретенной АА. Несмотря на то, что проведение исследований в данном направлении ограничивается

небольшими объемами выборок больных, различиями полиморфизма генов в этнических популяциях и возрастом, Y. Zeng и E. Katsanis [3] опубликовали данные о наиболее часто встречающихся HLA-аллелях, ассоциирующихся или не имеющих связи с развитием АА и являющихся предикторами ответа на ИСТ. Противоречивы на сегодняшний день и данные о хорошем прогностическом ответе на ИСТ при сочетании HLA-DRB1*1501 и ПНГ-клона [15, 16].

В исследовании S. Nakaо и соавт. [15] показано, что сочетание аллелей HLA человека могут играть роль в активации аутореактивных Т-клонов у больных АА. Более того, защитные эффекты HLA молекул недостаточны вследствие снижения генерации Т-регуляторных клеток (Treg), подавляющих аутоиммунитет.

Полногеномный транскрипционный анализ Т-клеток больных АА выявил большое количество аномальных генов в CD4⁺- и CD8⁺Т-клетках [18]. В сочетании с аномальной экспансией Th1, Th2 и Th17 снижение или изменение иммунофенотипа и функции Treg является определяющей характеристикой тяжести приобретенной АА [19].

R.P. De Latour и соавт. [20], изучив патофизиологию АА, пришли к выводу, что Th17-иммунный ответ имеет значение в развитии АА. Интерлейкин (ИЛ)-17А, продуцируемый Th17, играя значимую роль в развитии воспалительной реакции, индуцирует гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) и молекулы адгезии, приводящие к усилению гранулоцитопоеза. Однако снижение в плазме концентрации ИЛ-17А не наблюдалось у больных с нетяжелой АА, в то время как у больных с тяжелой АА этот цитокин практически не определялся. Таким образом, иммунный ответ через Th1/Th17 приводит к развитию костномозговой недостаточности, что наряду с одновременным снижением Treg приводит к увеличению активности аутореактивных Т-клеток и к клиническим проявлениям АА [21].

Цитогенетические aberrации при АА

АА сложно дифференцировать с гипопластическими вариантами миелодиспластического синдрома (МДС), поскольку характерные морфологические признаки дисплазии кроветворения трудно выявить в условиях низкой клеточности образцов костного мозга [22]. В 12 % случаев у больных АА могут выявляться цитогенетические aberrации, такие как трисомия 8, трисомия 6, трисомия 15, del(13q) [23]. Эти изменения кариотипа рассматриваются в качестве косвенных маркеров аутоиммунной агрессии [24, 25].

Выявление трисомии 8 (+8) у больных АА и гипопластическим вариантом МДС ассоциируется с хорошим ответом на ИСТ [25]. Клетки-предшественницы кро-

ветворения у больных с клоном +8 характеризуются повышенной экспрессией гена *WT1*. Активация специфического Т-клеточного ответа к WT1 белку в качестве побочного эффекта приводит к супрессии нормальных клеток-предшественниц кроветворения. В то же время клон с +8 получает пролиферативное преимущество, избегая иммунной атаки за счет повышенной экспрессии антиапоптотического белка cyclin D1, и реализует пролиферативный потенциал за счет повышенной экспрессии c-myc [26].

Утрата гетерозиготности без изменения числа копий (copy-neutral LOH) короткого плеча хромосомы 6 — приобретенное генетическое событие в гемопоэтических клеточных линиях, в том числе и в ранних предшественниках (CD34⁺), за исключением CD3⁺Т-лимфоцитов. На клетках-предшественниках кроветворения с LOH6p отсутствуют мишени для иммунной атаки, которыми являются молекулы I класса HLA, так как LOH приводит к потере экспрессии HLA-А-антигенов. Таким образом, появляется ростовое и пролиферативное преимущество, приводящее к экспансии патологического клона [27].

К аномалиям кариотипа, при которых признаки дисплазии, характерные для МДС, могут не обнаруживаться, относят del(13q). К. Hosokawa и соавт. [24] на репрезентативной выборке продемонстрировали эффективность ИСТ больных с костномозговой недостаточностью и del(13q). Среди больных с наличием только del(13q) или в сочетании с мутацией гена *PIGA* прогрессия в МДС или ОМЛ не выявлена, тогда как сочетание del(13q) с другими аномалиями кариотипа у 2 из 6 больных ассоциировалось с развитием ОМЛ.

Соматические мутации

АА необходимо дифференцировать от других заболеваний, проявляющихся костномозговой недостаточностью, но имеющих клональное происхождение. При ПНГ и МДС происходит «ускользание» клонального кроветворения от иммунной агрессии, в результате которой патологический клон получает преимущество в выживании перед нормальным клоном. Совершенствование методов диагностики, как, например, секвенирования ДНК нового поколения (NGS-next generation sequencing), позволило в условиях аплазии костного мозга, т.е. при низкой клеточности образцов костного мозга, выявить комплекс мутаций у больных АА в дебюте заболевания. Частота выявления соматических мутаций составляла 33 %. Отмечена невысокая аллельная нагрузка выявленных мутаций [28, 29]. Выявленные мутации охарактеризованы как «благоприятные» и «неблагоприятные». К «благоприятной» группе отнесены мутации, ассоциирующиеся с лучшим ответом на ИСТ и длительной беспрогрессивной выживаемостью, к ним относятся мутации

в генах *PIGA*, *BCOR* и *BCORL1*. К «неблагоприятным» мутациям, с высокой частотой обнаруживаемым при АА, относят *DNMT3A* и *ASXL1* [30].

По данным Королевского колледжа Лондона (King's College Hospital, London), медиана аллельной нагрузки выявленных мутаций невелика и составила 20 % [31]. Однако наличие мутаций увеличивает риск прогрессии в МДС с 6 % (при отсутствии соматических мутаций) до 38 %. При отсутствии ответа на лечение к шестому месяцу риск развития поздних клональных осложнений возрастает до 40 %, что достоверно выше в сравнении с таковым при отсутствии соматических мутаций — 4 % ($p < 0,001$) [31].

ПНГ-клон

ПНГ-клон — это клон стволовой клетки крови с мутацией в *PIGA* гене, в результате которой нарушается синтез гликозилфосфоинозитола (ГФИ) — гликолипида, с помощью которого к мембранам клеток крепятся белки ГФИ-комплекса, защищающего мембраны клеток крови от воздействия терминальных компонентов собственной системы комплемента [32, 33].

Наличие ПНГ-клона еще не означает заболевание ПНГ. Болезнь ПНГ характеризуется не только наличием ПНГ-клона, но и яркой клинической картиной (гемолитические кризы, тромбозы, почечная недостаточность).

В настоящее время продолжается поиск причинных связей между развитием и эволюцией ПНГ-клона у больных с костномозговой недостаточностью. Различные исследования свидетельствуют о наличии внутренних факторов эволюции ПНГ-клона [34]. Принимая гипотезу иммунной привилегированности, позволяющей ГФИ-дефицитному клону клеток посредством отсутствия на их поверхности мишеней избежать иммуноопосредованной атаки на костномозговое кроветворение, причины эволюционного течения ПНГ-клона с развитием гемолитической формы ПНГ остаются неизвестными [35]. Увеличение размера ПНГ-клона может продолжаться у некоторых больных АА при проведении ИСТ и даже после достижения ремиссии, а у больных с гемолитической формой ПНГ клиническая манифестация не всегда сочетается с клиническими проявлениями костномозговой недостаточности [36]. Более того, у здоровых людей могут определяться небольшие популяции *PIGA* мутантных клеток, что свидетельствует о наличии дополнительных внутренних факторов, способствующих экспансии ГФИ-дефектного клона [37].

В различных исследованиях [38, 39] было показано сочетание ПНГ-клона с редкими хромосомными аномалиями или соматическими мутациями генов *NRAS* и *JAK2*. Наибольший интерес представляют данные, полученные W. Shen и соавт. [40], выдвинувшими идею наличия внутреннего преимущества роста у кло-

на клеток ПНГ. После предварительного разделения гемопоэтических клеток-предшественниц на клетки с ПНГ-фенотипом и «нормальным» фенотипом проведено полногеномное секвенирование ДНК, полученной из клеток костного мозга 12 больных ПНГ, и секвенирование по методу Сенгера с подбором праймеров для 61 гена, мутации которых специфичны для злокачественных миелоидных заболеваний. Обнаружено большое количество мутаций совместно с мутациями *PIGA*, ранее не ассоциировавшихся с ПНГ. Более того, данные дополнительные мутации возникали либо как субклон в пределах *PIGA*-мутантной клеточной популяции, или в качестве инициального генетического случая до приобретения мутации в гене *PIGA*. У 83 % (10 из 12) больных ПНГ выявлены дополнительные соматические мутации, такие как *TET2*, *MAGEC1*, *BRPF1*, *KDM3B*, *STAC3*. Данные мутации выявлены во фракции ПНГ, а не в фенотипически нормальных клетках. Все дополнительные мутации гетерозиготны без потери гетерозиготности в пострадавших локусах. Наличие дополнительной соматической мутации в ПНГ-клетках, по мнению авторов, наиболее вероятно является причиной внутреннего ростового преимущества для экспансии ПНГ-клона. Однако наличие внутреннего преимущества не исключает значимости механизмов избегания иммунной атаки.

Анализ профиля экспрессии генов в ГФИ-позитивных («нормальных») $CD34^+$ -клетках костного мозга больных ПНГ показал повышение регуляции экспрессии генов, участвующих в иммунном ответе, тогда как в ГФИ-негативных $CD34^+$ -паттерн экспрессии не отличался от здоровых доноров. Экспрессия генов, ответственных за пролиферацию, не отличалась в популяциях $CD34^+$ ГФИ-позитивных и ГФИ-негативных [41]. Наличие пролиферативного дефекта в ГФИ-позитивных (нормальных) $CD34^+$, выделенных у больных ПНГ, показано в исследованиях J.P. Maciejewski и соавт. [41], R. Chen и соавт. [42], что, в дополнение к предыдущему исследованию, свидетельствует в пользу внутриклеточных механизмов экспансии ПНГ-клона.

Внедрение высокочувствительных методов анализа с помощью проточной цитометрии, а также открытие патогенетических механизмов развития ПНГ стали толчком для ранней диагностики ПНГ, основанной на выявлении дефицита ГФИ-связанных белков $CD55$ и $CD59$ на поверхности эритроцитов [43, 44]. Исторически первым вариантом поиска ПНГ-клона было исследование популяции эритроцитов, что делало подход ограниченным из-за нестабильности популяции ПНГ-эритроцитов, подвергающихся постоянному гемолизу, а также невозможности динамического наблюдения за течением заболевания. Включение в анализ лейкоцитарной популяции, не подвергающейся комплемент-опосредованному лизису, стало необходимым

для более точной диагностики [45]. Однако применение разных протоколов диагностики ПНГ-клона, основанных на выявлении дефицита различных ГФИ-связанных белков на поверхности разных популяций лейкоцитов, не позволяло достоверно сравнивать полученные результаты [46, 47]. Инициативной группой исследователей Международной ассоциации клинической цитометрии (International Clinical Cytometry Society) был создан и опубликован в 2010 г. протокол, в котором был детально описан метод и предложен набор реагентов [47]. Данный протокол в настоящий момент широко применяется по всему миру, позволяя достоверно сравнивать результаты, полученные в разных лабораториях. Многоцентровое исследование, проведенное в России, показало валидизацию полученных результатов по выявлению минорных и значительных ПНГ-клонов во всех сертифицированных лабораториях, независимо от вида цитометра [48].

Высокая частота выявления ПНГ-клона у больных с костномозговой недостаточностью, в частности АА, привела к необходимости поиска связей между этими заболеваниями и маркерами эффективности иммуносупрессивного воздействия на костномозговое кроветворение. Являясь косвенным маркером иммунной депрессии кроветворения, ПНГ-клон может рассматриваться как прогностически благоприятный маркер ответа больных АА на ИСТ [7]. Результаты существующих на сегодняшний день крупных исследований не позволяют сделать однозначные выводы о значении наличия ПНГ-клона и ответа на ИСТ. Сопоставление полученных данных ограничивается не только возрастом больных и формой АА, но и различием диагностических протоколов по определению ПНГ-клона и нижнего предела выявления ГФИ-негативных клеток. Ретроспективное исследование группы NIN [49], включавшее 76 больных АА, не подтвердило большую эффективность ИСТ у больных с ПНГ-клоном (60,6 % больных АА без ПНГ-клона ответили на ИСТ против 58,9 % больных АА с ПНГ-клоном, $p = 0,89$). Драматично противоположные данные получены группой исследователей из Японии, по данным которых наличие ПНГ-клона у больных АА ассоциировалось с лучшим ответом на ИСТ [50].

Наиболее крупное проспективное исследование, в котором изучалось прогностическое значение выявления ПНГ-клона у больных АА, было проведено в нашей стране А.Д. Кулагиным и соавт. [51]. Исследование включало 125 больных АА, частота выявления ПНГ-клона у которых составила 59 %. Полученные результаты свидетельствуют, что наличие ПНГ-клона является благоприятным признаком не только достижения гематологического ответа на ИСТ к шестому месяцу лечения (у 67,6 % больных АА-ПНГ+ против 45,1 % больных АА-ПНГ-, $p = 0,0164$), но также в группе больных АА-ПНГ+ была достоверно выше частота

достижения полного ответа (41,9 % против 15,7 % АА-ПНГ-). Ответ на второй курс терапии антитимоцитарным глобулином также достоверно чаще развивался у больных с ПНГ-клоном (73 % против 27 % больных без ПНГ-клона).

Л. Zhao и соавт. [52], проанализировав ответ на ИСТ 97 больных тяжелой АА, показали отсутствие различий в достижении общего ответа у больных АА-ПНГ+ и АА-ПНГ-, однако достоверные различия получены при оценке развития полной ремиссии к шестому месяцу (66,7 % против 31,5 % соответственно, $p < 0,002$) и к 12-му месяцу ИСТ (75,0 % против 46,6 %, $p < 0,015$).

По данным З.Т. Фидаровой и соавт. [53], ПНГ-клон выявлен у 59 % больных приобретенной АА, при этом у 68 % АА-ПНГ+ значение ПНГ-клона не превышало 10 %. Первоначальный ответ к третьему месяцу от начала ИСТ, определенный как гематологическое улучшение, был достигнут у 47,4 % больных АА-ПНГ+ и лишь у 26,3 % больных АА-ПНГ-.

Наличие ПНГ-клона и АЧР более $30 \times 10^9/\text{л}$ выделены в качестве положительного прогностического индекса в исследовании А.Д. Кулагина и соавт. [51]. Частота достижения частичного ответа к шестому месяцу при совокупности двух параметров до проведения первого курса терапии антитимоцитарным глобулином (АТГ) составила 85 %, при наличии одного из выбранных параметров — 71,7 %, при отсутствии обоих факторов — 35,9 % ($p = 0,00001$) [51].

Выявление ПНГ-клона может исключать диагноз конституциональной АА, а его отсутствие диктует необходимость дальнейшей дифференциальной диагностики [54]. В представленном исследовании авторами проанализировано 20 больных с установленным диагнозом конституциональной АА, ни у одного из них не был выявлен ПНГ-клон.

Таким образом, выявление ПНГ-клона у больных АА нельзя однозначно отнести к прогностическим критериям эффективности ИСТ, однако можно считать положительным фактором высокой частоты и быстроты развития ответа на ИСТ, дифференциальной диагностики с конституциональной АА. Возможно, первоначальный фактор аутоагрессии при АА-ПНГ+ и определяет чувствительность к ИСТ.

ПНГ-клон как косвенный маркер иммунной агрессии, направленной против собственного кроветворения, вместе с показателями пролиферативного потенциала оставшегося пула ГСК могут рассматриваться как значимые факторы прогноза ответа на ИСТ.

Длина теломерных участков ДНК

Укорочение теломерных участков ДНК (теломер) как фактор, приводящий к ранней клональной трансформации, может определяться у 30 % больных приобретенной АА. Теломеры представляют собой концевые участки хромосом, состоящие из повторя-

ющихся небелковых кодирующих последовательностей ДНК, которые покрыты белковым комплексом. У людей теломерная ДНК состоит из tandemных повторов нуклеотидов «TTAGGG». Основная функция теломер заключается в сохранении смысловой последовательности ДНК, так как при каждом делении клетки в результате «концевой недорепликации» происходит уменьшение длины концевых фрагментов ДНК. Критически короткие теломеры активируют p53-опосредованный апоптоз, приводя к органной недостаточности, злокачественной трансформации и развитию ряда заболеваний у человека [55]. Прогрессирующее укорочение теломер у больных АА приводит к снижению пула кроветворных стволовых клеток, геномной нестабильности, повышению риска развития аномалий 7-й хромосомы, соматических мутаций, злокачественной трансформации в МДС/ОМЛ [56, 57].

Предполагается, что у больных идиопатической АА выраженное укорочение длины теломерных районов ДНК является следствием пролиферативного гемопатического стресса стволовых клеток-предшественниц [58]. Обнаружение мутаций в генах, кодирующих белки теломеразного комплекса, может свидетельствовать в пользу конституционального характера заболевания. Значимое укорочение теломерных участков ДНК у больных с врожденным дискератозом может быть единственным косвенным признаком врожденной апластической анемии [59]. В исследовании N.S. Young и соавт. [60] выявлена связь между выявлением более коротких теломер и развитием рецидива АА, клональной трансформацией и низкой вероятностью общей выживаемости, но не с ответом на лечение. Возраст является значимым фактором при интерпретации результатов измерения теломер, так как с возрастом происходит их естественное укорочение. В отечественной публикации не получено достоверных доказа-

тельств значимости укорочения теломер для прогноза ответа на лечение [61].

Японскими исследователями [62] в мультивариантном анализе с логистической регрессией выделено три независимых фактора неблагоприятного ответа на ИСТ к шестому месяцу лечения: низкое количество ретикулоцитов крови, отсутствие ПНГ-клона, короткие теломеры. При распределении больных АА на группы благоприятного (ПНГ-клон и длинные теломеры) и неблагоприятного прогноза (отсутствие ПНГ-клона и короткие теломеры) качество ответа к шестому месяцу терапии была значимо выше в первой группе (70 % против 19 %, $p < 0,001$). Не получено достоверных различий в пятилетней кумулятивной частоте развития рецидива (0 % против 16 %, $p = 0,392$) и клональной эволюции (5 % против 3 %, $p = 0,849$) в группе неблагоприятного и благоприятного прогноза соответственно. Значимо выше в группе благоприятного прогноза оказалась вероятность выживаемости без ТГСК и выживаемости, свободной от неудач лечения (72 % против 48 %, $p = 0,003$, и 52 % против 22 %, $p < 0,001$ соответственно).

Таким образом, за последние десятилетия АА перешла из группы редких заболеваний с крайне плохим исходом в группу излечимых болезней, с высокой вероятностью длительной ремиссии. Современная гематология ставит задачи не только снижения количества рефрактерных больных и частоты развития клональной эволюции, но и улучшения качества жизни больных АА, раннее достижение ответа на лечение с целью минимизации последствий сопроводительной терапии и инфекционных осложнений. Формирование программы лечения с дифференцированным подходом, основанным на оценке риска на момент первичной прицельной диагностики, позволит улучшить результаты лечения и снизить количество абсолютно рефрактерных больных АА.

Литература

1. Bacigalupo A. Aplastic anemia: pathogenesis and treatment. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2007; 23–8. DOI: 10.1182/asheducation-2007.1.23
2. Young N.S. Pathophysiologic mechanisms in acquired aplastic anemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2006; 72–7. DOI: 10.1182/asheducation-2006.1.72
3. Zeng Y., Katsanis E. The complex pathophysiology of acquired aplastic anaemia. Clin Exp Immunol. 2015; 180: 361–70. DOI: 10.1111/cei.12605
4. Babushok D.V., Perdignes N., Perin J.C. et al. Emergence of clonal hematopoiesis in the majority of patients with acquired aplastic anemia. Cancer Genet. 2015; 208: 115–28. DOI: 10.1016/j.cancergen.2015.01.007
5. Михайлова Е.А., Фидарова З.Т., Устинова Е.Н. и др. Комбинированная иммуносупрессивная терапия больных апластической анемией: повторные курсы антилимфоцитарного глобулина. Гематология и трансфузиология. 2014; 59: 11–8.
6. Scheinberg P., Nunez O., Wu C., Young N.S. Treatment of severe aplastic anaemia with combined immunosuppression: anti-thymocyte globulin, ciclo-

References

1. Bacigalupo A. Aplastic anemia: pathogenesis and treatment. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2007; 23–8. DOI: 10.1182/asheducation-2007.1.23
2. Young N.S. Pathophysiologic mechanisms in acquired aplastic anemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2006; 72–7. DOI: 10.1182/asheducation-2006.1.72
3. Zeng Y., Katsanis E. The complex pathophysiology of acquired aplastic anaemia. Clin Exp Immunol. 2015; 180: 361–70. DOI: 10.1111/cei.12605
4. Babushok D.V., Perdignes N., Perin J.C. et al. Emergence of clonal hematopoiesis in the majority of patients with acquired aplastic anemia. Cancer Genet. 2015; 208: 115–28. DOI: 10.1016/j.cancergen.2015.01.007
5. Mikhailova E.A., Fidarova Z.T., Ustinova E.N. et al. Combined immunosuppressive therapy of aplastic anemia: repeated courses of horse antithymocytic globulin. Gematologiya i transfusiologiya. 2014; 59: 11–8 (In Russian).
6. Scheinberg P., Nunez O., Wu C., Young N.S. Treatment of severe aplastic anaemia with combined immunosuppression: anti-thymocyte globulin, ciclo-

- sporin and mycophenolate mofetil. *Br J Haematol.* 2006; 133: 606–11. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2006.06085.x
7. Marsh J. Making therapeutic decisions in adults with aplastic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006: 78–85. DOI: 10.1182/asheducation-2006.1.78
8. Scheinberg P., Wu C.O., Nunez O., Young N.S. Long-Term Outcome of Pediatric Patients with Severe Aplastic Anemia Treated with Antithymocyte Globulin and Cyclosporine. *J Pediatr.* 2008; 153: 814–9. DOI: 10.1016/j.jpeds.2008.06.004
9. Bacigalupo A., Giammarco S., Sica S. et al. Bone marrow transplantation versus immunosuppressive therapy in patients with acquired severe aplastic anemia. *Int J Hematol.* 2016; 104: 168–74. DOI: 10.1007/s12185-016-2037-8
10. Dufour C., Pilon M., Sociè G. et al. Outcome of aplastic anaemia in children. A study by the severe aplastic anaemia and paediatric disease working parties of the European group blood and bone marrow transplant. *Br J Haematol.* 2015; 169: 565–73. DOI: 10.1111/bjh.13297
11. Cabannes-Hamy A., Boissel N., Peffault De Latour R. et al. The effect of age in patients with acquired aplastic anaemia treated with immunosuppressive therapy: comparison of Adolescents and Young Adults with children and older adults. *Br J Haematol.* 2018; 183(5): 766–74. DOI: 10.1111/bjh.15650
12. Yoshida N., Yagasaki H., Hama A. et al. Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica.* 2011; 96: 771–4. DOI: 10.3324/haematol.2010.032805
13. Scheinberg P., Wu C.O., Nunez O., Young N.S. Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia. *Br J Haematol.* 2009; 144: 206–16. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07450.x
14. Zeng W., Chen G., Kajigaya S. et al. Gene expression profiling in CD34 cells to identify differences between aplastic anemia patients and healthy volunteers. *Blood.* 2004; 103: 325–32. DOI: 10.1182/blood-2003-02-0490
15. Nakao S., Takami A., Takamatsu H. et al. Isolation of a T-cell clone showing HLA-DRB1*0405-restricted cytotoxicity for hematopoietic cells in a patient with aplastic anemia. *Blood.* 1997; 89: 3691–9.
16. Sugimori C., Yamazaki H., Feng X. et al. Roles of DRB1 *1501 and DRB1 *1502 in the pathogenesis of aplastic anemia. *Exp Hematol.* 2007; 35: 13–20. DOI: 10.1016/j.exphem.2006.09.002
17. Nakao S., Takami A., Sugimori N. et al. Response to immunosuppressive therapy and an HLA-DRB1 allele in patients with aplastic anaemia: HLA-DRB1*1501 does not predict response to antithymocyte globulin. *Br J Haematol.* 1996; 92: 155–8.
18. Zeng W., Kajigaya S., Chen G. et al. Transcript profile of CD4+ and CD8+ T cells from the bone marrow of acquired aplastic anemia patients. *Exp Hematol.* 2004; 32: 806–14. DOI: 10.1016/j.exphem.2004.06.004
19. Ren J., Hou X.Y., Ma S.H. et al. Elevated expression of CX3C chemokine receptor 1 mediates recruitment of T cells into bone marrow of patients with acquired aplastic anaemia. *J Intern Med.* 2014; 276: 512–24. DOI: 10.1111/joim.12218
20. De Latour R., Visconte V., Takaku T. et al. Th17 immune responses contribute to the pathophysiology of aplastic anemia. *Blood.* 2010; 116: 4175–84. DOI: 10.1182/blood-2010-01-266098
21. Gu Y., Hu X., Liu C. et al. Interleukin (IL)-17 promotes macrophages to produce IL-8, IL-6 and tumour necrosis factor-alpha in aplastic anaemia. *Br J Haematol.* 2008; 142: 109–14. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07161.x
22. Ольшанская Ю.В., Михайлова Е.А., Домрачева Е.В. и др. Клональные хромосомные перестройки у больных апластической анемией в начале заболевания и при трансформации. *Терапевтический архив.* 2006; 78: 31–7.
23. Stanley N., Olson T.S., Babushok D.V. Recent advances in understanding clonal haematopoiesis in aplastic anaemia. *Br J Haematol.* 2017; 177: 509–25. DOI: 10.1111/bjh.14510
- sporin and mycophenolate mofetil. *Br J Haematol.* 2006; 133: 606–11. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2006.06085.x
7. Marsh J. Making therapeutic decisions in adults with aplastic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006: 78–85. DOI: 10.1182/asheducation-2006.1.78
8. Scheinberg P., Wu C.O., Nunez O., Young N.S. Long-Term Outcome of Pediatric Patients with Severe Aplastic Anemia Treated with Antithymocyte Globulin and Cyclosporine. *J Pediatr.* 2008; 153: 814–9. DOI: 10.1016/j.jpeds.2008.06.004
9. Bacigalupo A., Giammarco S., Sica S. et al. Bone marrow transplantation versus immunosuppressive therapy in patients with acquired severe aplastic anemia. *Int J Hematol.* 2016; 104: 168–74. DOI: 10.1007/s12185-016-2037-8
10. Dufour C., Pilon M., Sociè G. et al. Outcome of aplastic anaemia in children. A study by the severe aplastic anaemia and paediatric disease working parties of the European group blood and bone marrow transplant. *Br J Haematol.* 2015; 169: 565–73. DOI: 10.1111/bjh.13297
11. Cabannes-Hamy A., Boissel N., Peffault De Latour R. et al. The effect of age in patients with acquired aplastic anaemia treated with immunosuppressive therapy: comparison of Adolescents and Young Adults with children and older adults. *Br J Haematol.* 2018; 183(5): 766–74. DOI: 10.1111/bjh.15650
12. Yoshida N., Yagasaki H., Hama A. et al. Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica.* 2011; 96: 771–4. DOI: 10.3324/haematol.2010.032805
13. Scheinberg P., Wu C.O., Nunez O., Young N.S. Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia. *Br J Haematol.* 2009; 144: 206–16. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07450.x
14. Zeng W., Chen G., Kajigaya S. et al. Gene expression profiling in CD34 cells to identify differences between aplastic anemia patients and healthy volunteers. *Blood.* 2004; 103: 325–32. DOI: 10.1182/blood-2003-02-0490
15. Nakao S., Takami A., Takamatsu H. et al. Isolation of a T-cell clone showing HLA-DRB1*0405-restricted cytotoxicity for hematopoietic cells in a patient with aplastic anemia. *Blood.* 1997; 89: 3691–9.
16. Sugimori C., Yamazaki H., Feng X. et al. Roles of DRB1 *1501 and DRB1 *1502 in the pathogenesis of aplastic anemia. *Exp Hematol.* 2007; 35: 13–20. DOI: 10.1016/j.exphem.2006.09.002
17. Nakao S., Takami A., Sugimori N. et al. Response to immunosuppressive therapy and an HLA-DRB1 allele in patients with aplastic anaemia: HLA-DRB1*1501 does not predict response to antithymocyte globulin. *Br J Haematol.* 1996; 92: 155–8.
18. Zeng W., Kajigaya S., Chen G. et al. Transcript profile of CD4+ and CD8+ T cells from the bone marrow of acquired aplastic anemia patients. *Exp Hematol.* 2004; 32: 806–14. DOI: 10.1016/j.exphem.2004.06.004
19. Ren J., Hou X.Y., Ma S.H. et al. Elevated expression of CX3C chemokine receptor 1 mediates recruitment of T cells into bone marrow of patients with acquired aplastic anaemia. *J Intern Med.* 2014; 276: 512–24. DOI: 10.1111/joim.12218
20. De Latour R., Visconte V., Takaku T. et al. Th17 immune responses contribute to the pathophysiology of aplastic anemia. *Blood.* 2010; 116: 4175–84. DOI: 10.1182/blood-2010-01-266098
21. Gu Y., Hu X., Liu C. et al. Interleukin (IL)-17 promotes macrophages to produce IL-8, IL-6 and tumour necrosis factor-alpha in aplastic anaemia. *Br J Haematol.* 2008; 142: 109–14. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07161.x
22. Olshanskaya J.V., Mikhailova E.A., Domracheva E.V. et al. Clonal chromosomal rearrangements in patients with aplastic anemia at the onset of the disease and during transformation. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2006; 78: 31–7 (In Russian).
23. Stanley N., Olson T.S., Babushok D.V. Recent advances in understanding clonal haematopoiesis in aplastic anaemia. *Br J Haematol.* 2017; 177: 509–25. DOI: 10.1111/bjh.14510

24. Hosokawa K., Katagiri T., Sugimori N. et al. Favorable outcome of patients who have 13q deletion: A suggestion for revision of the WHO «MDS-U» designation. *Haematologica*. 2012; 97: 1845–9. DOI: 10.3324/haematol.2011.061127
25. Maciejewski J.P., Risitano A., Sloan E.M. et al. Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia. *Blood*. 2002; 99: 3129–35. DOI: 10.1182/blood.V99.9.3129
26. Sloan E.M., Pfannes L., Chen G. et al. CD34 cells from patients with trisomy 8 myelodysplastic syndrome (MDS) express early apoptotic markers but avoid programmed cell death by up-regulation of antiapoptotic proteins. *Blood*. 2007; 109: 2399–405. DOI: 10.1182/blood-2006-01-030643
27. Katagiri T., Sato-Otsubo A., Kashiwase K. et al. Frequent loss of HLA alleles from hematopoietic stem cells in patients with hepatitis-associated aplastic anemia. *Blood*. 2011; 118 (21): 6601–10. DOI: 10.1182/blood-2011-07-365189
28. Lane A.A., Odejide O., Kopp N. et al. Low frequency clonal mutations recoverable by deep sequencing in patients with aplastic anemia. *Leukemia*. 2013; 27: 968–71. DOI: 10.1038/leu.2013.30
29. Heuser M., Schlarmann C., Dobbernack V. et al. Genetic characterization of acquired aplastic anemia by targeted sequencing. *Haematologica*. 2014; 99(9): 165–7. DOI: 10.3324/haematol.2013.101642
30. Yoshizato T., Dumitriu B., Hosokawa K. et al. Somatic mutations and clonal hematopoiesis in aplastic anemia. *N Engl J Med*. 2015; 373: 35–47. DOI: 10.1056/NEJMoa1414799
31. Kulasekararaj A.G., Jiang J., Smith A.E. Somatic mutations identify a subgroup of aplastic anemia patients who progress to myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2014; 124: 2698–704. DOI: 10.1182/blood-2014-05-574889
32. Цветаева Н.В. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия. В кн: Руководство по гематологии. Ред. Воробьев А.И. М.: НьюДиамед, 2007; 797–805.
33. Parker C.J. The pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Exp Hematol*. 2007; 35: 523–33. DOI: 10.1016/j.exphem.2007.01.046
34. Bessler M., Mason P.J., Hillmen P. et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) is caused by somatic mutations in the PIG-A gene. *EMBO J*. 1994; 13: 110–7.
35. Inoue N., Izui-Sarumaru T., Murakami Y. et al. Molecular basis of clonal expansion of hematopoiesis in 2 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood*. 2006; 108: 4232–6. DOI: 10.1182/blood-2006-05-025148
36. Miano M., Dufour C. The diagnosis and treatment of aplastic anemia: a review. *Int J Hematol*. 2015; 101: 527–35. DOI: 10.1007/s12185-015-1787-z
37. Hu R., Mukhina G.L., Piantadosi S. et al. PIG-A mutations in normal hematopoiesis. *Blood*. 2005; 105: 3848–54. DOI: 10.1182/blood-2004-04-1472
38. Mortazavi Y., Tooze J.A., Gordon-Smith E.C., Rutherford T.R. N-RAS gene mutation in patients with aplastic anemia and aplastic anemia/paroxysmal nocturnal hemoglobinuria during evolution to clonal disease. *Blood*. 2000; 95: 646–50.
39. Fouassier M., Girodon F., Cleyrat C. et al. Absence of JAK2-V617F in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria-associated thrombosis. *Thromb Haemost*. 2009; 102: 180–2. DOI: 10.1160/TH09-03-0140
40. Shen W., Clemente M.J., Hosono N. et al. Deep sequencing reveals step-wise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest*. 2014; 124: 4529–38. DOI: 10.1172/JCI74747
41. Maciejewski J.P., Tiu R.V., O’Keefe C. Application of array-based whole genome scanning technologies as a cytogenetic tool in haematological malignancies. *Br J Haematol*. 2009; 146: 479–88. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07757.x
42. Chen G., Zeng W., Maciejewski J.P. et al. Differential gene expression in hematopoietic progenitors from paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients reveals an apoptosis/immune response in «normal» phenotype cells. *Leukemia*. 2005; 19: 862–8. DOI: 10.1038/sj.leu.2403678
24. Hosokawa K., Katagiri T., Sugimori N. et al. Favorable outcome of patients who have 13q deletion: A suggestion for revision of the WHO «MDS-U» designation. *Haematologica*. 2012; 97: 1845–9. DOI: 10.3324/haematol.2011.061127
25. Maciejewski J.P., Risitano A., Sloan E.M. et al. Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia. *Blood*. 2002; 99: 3129–35. DOI: 10.1182/blood.V99.9.3129
26. Sloan E.M., Pfannes L., Chen G. et al. CD34 cells from patients with trisomy 8 myelodysplastic syndrome (MDS) express early apoptotic markers but avoid programmed cell death by up-regulation of antiapoptotic proteins. *Blood*. 2007; 109: 2399–405. DOI: 10.1182/blood-2006-01-030643
27. Katagiri T., Sato-Otsubo A., Kashiwase K. et al. Frequent loss of HLA alleles from hematopoietic stem cells in patients with hepatitis-associated aplastic anemia. *Blood*. 2011; 118 (21): 6601–10. DOI: 10.1182/blood-2011-07-365189
28. Lane A.A., Odejide O., Kopp N. et al. Low frequency clonal mutations recoverable by deep sequencing in patients with aplastic anemia. *Leukemia*. 2013; 27: 968–71. DOI: 10.1038/leu.2013.30
29. Heuser M., Schlarmann C., Dobbernack V. et al. Genetic characterization of acquired aplastic anemia by targeted sequencing. *Haematologica*. 2014; 99(9): 165–7. DOI: 10.3324/haematol.2013.101642
30. Yoshizato T., Dumitriu B., Hosokawa K. et al. Somatic mutations and clonal hematopoiesis in aplastic anemia. *N Engl J Med*. 2015; 373: 35–47. DOI: 10.1056/NEJMoa1414799
31. Kulasekararaj A.G., Jiang J., Smith A.E. Somatic mutations identify a subgroup of aplastic anemia patients who progress to myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2014; 124: 2698–704. DOI: 10.1182/blood-2014-05-574889
32. Tsvetaeva N.V. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Edited by Vorobiev A.I. Moscow: NewDiamed, 2007; 797–805 (In Russian).
33. Parker C.J. The pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Exp Hematol*. 2007; 35: 523–33. DOI: 10.1016/j.exphem.2007.01.046
34. Bessler M., Mason P.J., Hillmen P. et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) is caused by somatic mutations in the PIG-A gene. *EMBO J*. 1994; 13: 110–7.
35. Inoue N., Izui-Sarumaru T., Murakami Y. et al. Molecular basis of clonal expansion of hematopoiesis in 2 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood*. 2006; 108: 4232–6. DOI: 10.1182/blood-2006-05-025148
36. Miano M., Dufour C. The diagnosis and treatment of aplastic anemia: a review. *Int J Hematol*. 2015; 101: 527–35. DOI: 10.1007/s12185-015-1787-z
37. Hu R., Mukhina G.L., Piantadosi S. et al. PIG-A mutations in normal hematopoiesis. *Blood*. 2005; 105: 3848–54. DOI: 10.1182/blood-2004-04-1472
38. Mortazavi Y., Tooze J.A., Gordon-Smith E.C., Rutherford T.R. N-RAS gene mutation in patients with aplastic anemia and aplastic anemia/paroxysmal nocturnal hemoglobinuria during evolution to clonal disease. *Blood*. 2000; 95: 646–50.
39. Fouassier M., Girodon F., Cleyrat C. et al. Absence of JAK2-V617F in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria-associated thrombosis. *Thromb Haemost*. 2009; 102: 180–2. DOI: 10.1160/TH09-03-0140
40. Shen W., Clemente M.J., Hosono N. et al. Deep sequencing reveals step-wise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest*. 2014; 124: 4529–38. DOI: 10.1172/JCI74747
41. Maciejewski J.P., Tiu R.V., O’Keefe C. Application of array-based whole genome scanning technologies as a cytogenetic tool in haematological malignancies. *Br J Haematol*. 2009; 146: 479–88. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07757.x
42. Chen G., Zeng W., Maciejewski J.P. et al. Differential gene expression in hematopoietic progenitors from paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients reveals an apoptosis/immune response in “normal” phenotype cells. *Leukemia*. 2005; 19: 862–8. DOI: 10.1038/sj.leu.2403678

43. Venneker G.T., Asghar S.S. CD59: A molecule involved in antigen presentation as well as downregulation of membrane attack complex. *Exp Clin Immunogenet.* 1992; 9: 33–47.
44. Richards S.J., Rawstron A.C., Hillmen P. Application of flow cytometry to the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cytometry.* 2000; 42: 223–33.
45. Sutherland D.R., Illingworth A., Keeney M., Richards S.J. High-Sensitivity Detection of PNH Red Blood Cells, Red Cell Precursors, and White Blood Cells. *Curr Protoc Cytom.* 2015; 72: 6.37.1–30. DOI: 10.1002/0471142956.cy0637s72
46. Nishimura J.-I., Kanakura Y., Ware R.E. et al. Clinical Course and Flow Cytometric Analysis of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria in the United States and Japan. *Medicine (Baltimore).* 2004; 83: 193–207. DOI: 10.1097/01.md.0000126763.68170.46
47. Borowitz M.J., Craig F.E., Digiuseppe J.A. et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytom Part B. Clin Cytom.* 2010; 78: 211–30. DOI: 10.1002/cyto.b.20525
48. Sipol A.A., Babenko E.V., Borisov V.I. et al. An inter-laboratory comparison of PNH clone detection by high-sensitivity flow cytometry in a Russian cohort. *Hematology.* 2015; 20: 31–8. DOI: 10.1179/1607845414Y.0000000162
49. Young N.S., Maciejewski J.P., Sloand E. et al. The relationship of aplastic anemia and PNH. *Int J Hematol.* 2002; 76(2): 168–72.
50. Sugimori C., Chuhjo T., Feng X. et al. Minor population of CD55-CD59-blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood.* 2006; 107: 1308–14. DOI: 10.1182/blood-2005-06-2485
51. Kulagin A., Lisukov I., Ivanova M. et al Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: Results of two-centre prospective study. *Br J Haematol.* 2014; 164: 546–54. DOI: 10.1111/bjh.12661
52. Zhao X., Zhang L.L., Jing L. et al. The role of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in response to immunosuppressive therapy of patients with severe aplastic anemia. *Ann Hematol.* 2015; 94: 1105–10. DOI: 10.1007/s00277-015-2348-5
53. Фидарова З.Т., Михайлова Е.А., Гальцева И.В. и др. Динамика ПНГ-клона у больных апластической анемией в процессе иммуносупрессивной терапии. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2016; 61: 490–4.
54. DeZern A.E., Symons H.J., Resar L.S. et al. Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones to exclude inherited bone marrow failure syndromes. *Eur J Haematol.* 2014; 92: 467–70. DOI: 10.1111/ejh.12299.
55. Winkler T., Hong S.G., Decker J.E. et al. Defective telomere elongation and hematopoiesis from telomerase-mutant aplastic anemia iPSCs. *J Clin Invest.* 2013; 123: 1952–63. DOI: 10.1172/JCI67146
56. Townsley D.M., Dumitriu B., Young N.. Bone marrow failure and the telomero-pathies. *Blood.* 2015; 124: 2775–84. DOI: 10.1182/blood-2014-05-526285
57. Calado R.T., Cooper J.N., Padilla-Nash H.M. et al. Short telomeres result in chromosomal instability in hematopoietic cells and precede malignant evolution in human aplastic anemia. *Leukemia.* 2012; 26: 700–7. DOI: 10.1038/leu.2011.272
58. Brummendorf T.H., Maciejewski J.P., Mak J. et al. Telomere length in leukocyte subpopulations of patients with aplastic anemia. *Blood.* 2001; 97: 895–900. DOI: 10.1182/blood.V97.4.895
59. Демина И.А., Овсянникова Г.С., Калинина И.И. и др. Значение длины теломер для индивидуализации терапии апластической анемии. *Педиатрия.* 2017; 96 (5): 97–103. DOI: 10.24110/0031-403X-2017-96-5-97-103
60. Young N.S. Telomere biology and telomere diseases: implications for practice and research. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2010; 2010: 30–5.
43. Venneker G.T., Asghar S.S. CD59: A molecule involved in antigen presentation as well as downregulation of membrane attack complex. *Exp Clin Immunogenet.* 1992; 9: 33–47.
44. Richards S.J., Rawstron A.C., Hillmen P. Application of flow cytometry to the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cytometry.* 2000; 42: 223–33.
45. Sutherland D.R., Illingworth A., Keeney M., Richards S.J. High-Sensitivity Detection of PNH Red Blood Cells, Red Cell Precursors, and White Blood Cells. *Curr Protoc Cytom.* 2015; 72: 6.37.1–29. DOI: 10.1002/0471142956.cy0637s72
46. Nishimura J.-I., Kanakura Y., Ware R.E. et al. Clinical Course and Flow Cytometric Analysis of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria in the United States and Japan. *Medicine (Baltimore).* 2004; 83: 193–207. DOI: 10.1097/01.md.0000126763.68170.46
47. Borowitz M.J., Craig F.E., Digiuseppe J.A. et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytom Part B. Clin Cytom.* 2010; 78: 211–30. DOI: 10.1002/cyto.b.20525
48. Sipol A.A., Babenko E.V., Borisov V.I. et al. An inter-laboratory comparison of PNH clone detection by high-sensitivity flow cytometry in a Russian cohort. *Hematology.* 2015; 20: 31–8. DOI: 10.1179/1607845414Y.0000000162
49. Young N.S., Maciejewski J.P., Sloand E. et al. The relationship of aplastic anemia and PNH. *Int J Hematol.* 2002; 76(2): 168–72.
50. Sugimori C., Chuhjo T., Feng X. et al. Minor population of CD55-CD59-blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood.* 2006; 107: 1308–14. DOI: 10.1182/blood-2005-06-2485
51. Kulagin A., Lisukov I., Ivanova M. et al Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: Results of two-centre prospective study. *Br J Haematol.* 2014; 164: 546–54. DOI: 10.1111/bjh.12661
52. Zhao X., Zhang L.L., Jing L. et al. The role of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in response to immunosuppressive therapy of patients with severe aplastic anemia. *Ann Hematol.* 2015; 94: 1105–10. DOI: 10.1007/s00277-015-2348-5
53. Fidarova Z.T., Mikhailova E.A., Galtseva I.V. et al. PNH-clon dynamics in aplastic anemia patients during immunosuppressive therapy. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2016; 61: 490–4 (In Russian).
54. DeZern A.E., Symons H.J., Resar L.S. et al. Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones to exclude inherited bone marrow failure syndromes. *Eur J Haematol.* 2014; 92: 467–70. DOI: 10.1111/ejh.12299
55. Winkler T., Hong S.G., Decker J.E. et al. Defective telomere elongation and hematopoiesis from telomerase-mutant aplastic anemia iPSCs. *J Clin Invest.* 2013; 123: 1952–63. DOI: 10.1172/JCI67146
56. Townsley D.M., Dumitriu B., Young N.. Bone marrow failure and the telomero-pathies. *Blood.* 2015; 124: 2775–84. DOI: 10.1182/blood-2014-05-526285
57. Calado R.T., Cooper J.N., Padilla-Nash H.M. et al. Short telomeres result in chromosomal instability in hematopoietic cells and precede malignant evolution in human aplastic anemia. *Leukemia.* 2012; 26: 700–7. DOI: 10.1038/leu.2011.272
58. Brummendorf T.H., Maciejewski J.P., Mak J. et al. Telomere length in leukocyte subpopulations of patients with aplastic anemia. *Blood.* 2001; 97: 895–900. DOI: 10.1182/blood.V97.4.895
59. Demina I.A., Ovsyannikova G.S., Kalinina I.I. et al. Telomere length value for individualization of aplastic anemia therapy. *Pediatr.* 2017; 96(5): 97–103. DOI: 10.24110/0031-403X-2017-96-5-97-103 (In Russian).
60. Young N.S. Telomere biology and telomere diseases: implications for practice and research. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2010; 2010: 30–5.

61. Кулагин А.Д., Борисов В.И., Пронкина Н.В. и др. Частота и прогностическое значение укорочения теломерных участков ДНК при апластической анемии. Гематология и трансфузиология. 2014; 59: 20.
62. Narita A., Muramatsu H., Sekiya Y. et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia. Haematologica. 2015; 100: 1546–52. DOI: 10.3324/haematol.2015.132530

Информация об авторах

Фидарова Залина Таймуразовна*, кандидат медицинских наук, заведующая отделением химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с дневным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: zalinafidarova@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0934-6094>

Абрамова Анастасия Владимировна, врач отделения высокодозной интенсивной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: anastasia.abramova@list.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8113-6115>;

Лучкин Антон Владимирович, врач отделения высокодозной интенсивной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: a_luchkin@rambler.ru, тел.: +7(495) 612-45-92;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4400-4711>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 25.04.2019

Принята к печати: 12.09.2019

61. Kulagin A.D., Borisov V.I., Pronkina N.V. et al. The frequency and prognostic value of the shortening of telomeric DNA regions in aplastic anemia. Gematologiya I transfusiologiya 2014; 59:20 (In Russian).
62. Narita A., Muramatsu H., Sekiya Y. et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia. Haematologica. 2015; 100: 1546–52. DOI: 10.3324/haematol.2015.132530

Information about the authors

Zalina T. Fidarova*, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Chemotherapy for Hemoblastoses and Hematopoiesis Depressions with a Day In-patient Facility, National Research Center for Hematology,
e-mail: zalinafidarova@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0934-6094>

Anastasia V. Abramova, MD, Department of High-Dose Intensive Chemotherapy for Hemoblastoses and Hematopoiesis Depressions with a 24-hour In-patient facility, National Research Center for Hematology,
e-mail: anastasia.abramova@list.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8113-6115>;

Anton V. Luchkin, MD, Department of High-Dose Intensive Chemotherapy for Hemoblastoses and Hematopoiesis Depressions with a 24-hour In-patient facility, National Research Center for Hematology,
e-mail: a_luchkin@rambler.ru, тел.: +7(495) 612-45-92;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4400-4711>

*** Corresponding author**

Received 25 Apr 2019

Accepted 12 Sep 2019

<https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-353-361>

ТЕРАПИЯ РЕЗИСТЕНТНЫХ ФОРМ ПОДКОЖНОЙ ПАННИКУЛИТОПОДОБНОЙ Т-КЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ

Горенкова Л. Г.*, Кравченко С. К., Силаев М. А., Рыжикова Н. В.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Подкожная панникулитоподобная Т-клеточная лимфома (ППТКЛ) относится к редкой группе кожных лимфо-пролиферативных заболеваний с клиническими проявлениями, напоминающими панникулит, α/β -цитотоксическим иммунофенотипом опухолевых клеток и разнонаправленным течением: от индолентных до агрессивных форм.

Цель работы — описать больных ППТКЛ с агрессивным клиническим течением заболевания и рефрактерностью к нескольким линиям химиотерапии.

Результаты. Представлены два клинических наблюдения больных с генерализованным характером поражения и наличием факторов неблагоприятного прогноза, у которых достигнуты полные продолжительные ремиссии заболевания в результате применения курсов химиотерапии с включением гемцитабина.

Заключение: несмотря на то, что у обоих больных ППТКЛ наблюдалась рефрактерность как минимум к трем видам лечения, использование гемцитабина позволило достигнуть длительных полных ремиссий заболевания.

Ключевые слова: подкожная панникулитоподобная Т-клеточная лимфома, лимфома кожи, ремиссия заболевания, волчаночный панникулит, гем-цитабин

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Горенкова Л.Г., Кравченко С.К., Силаев М.А., Рыжикова Н.В. Терапия резистентных форм подкожной панникулитоподобной Т-клеточной лимфомы. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(3):353–361. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-353-361>

THERAPY OF THE RESISTANT FORMS OF SUBCUTANEOUS PANNICULITIS-LIKE T-CELL LYMPHOMA

Gorenkova L. G.*, Kravchenko S. K., Silaev M. A., Ryzhikova N. V.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma (SPTCL) belongs to a rare group of skin lymphoproliferative disorders, which is characterised by panniculitis-like clinical manifestations, the α/β cytotoxic immunophenotype of tumour cells, as well as a multidirectional course from indolent to aggressive forms.

Aim. To examine patients with SPTCL having an aggressive clinical course and characterised by refractoriness to several lines of chemotherapy.

Results. We present two case reports of patients with a generalised lesions and unfavourable prognostic factors, who achieved complete long-term remission of the disease as a result of gemcitabine chemotherapy.

Conclusion. Despite the fact that both observed SPTCL patients demonstrated refractoriness to at least three types of treatment, the use of gemcitabine allowed long-term complete remissions of the disease to be achieved.

Keywords: subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma, skin lymphoma, disease remission, lupus panniculitis, gemcitabine

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Gorenkova L.G., Kravchenko S.K., Silaev M.A., Ryzhikova N.V. Therapy of the resistant forms of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(3):353–361 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-353-361>

Введение

Подкожная панникулитоподобная Т-клеточная лимфома (ППТКЛ) относится к редким типам кожных Т-клеточных лимфом, субстратом которых являются зрелые Т-лимфоциты с цитотоксическим фенотипом. Впервые новый вид Т-клеточной лимфомы, протекающий с поражением подкожной жировой клетчатки, имитирующий панникулит и с частым развитием гемофагоцитарного синдрома, был описан в 1991 г. испанскими исследователями С.Л. Gonzalez и соавт. [1]. Эти так называемые «цитотоксические лимфомы» имели агрессивный характер течения, и для их лечения было необходимо проведение системной химиотерапии [2, 3]. Однако дальнейшие исследования показали, что клинические, гистологические и иммунофенотипические признаки значительно различались между лимфомами с α/β - и γ/δ -иммунофенотипами,

что обусловило разделение описанного заболевания на две самостоятельные нозологические формы в классификации ВОЗ-ЕОRTC (2008 г.) [4, 5]: на подкожную панникулитоподобную Т-клеточную лимфому и первичную кожную γ/δ Т-клеточную лимфому.

Частота встречаемости заболевания составляет не более 1 % от всех неходжкинских лимфом: за 10 лет наблюдения крупными группами по изучению и лечению кожных лимфом описано не более 18 случаев [6, 8]. ППТКЛ встречается, как правило, среди больных молодого возраста (медиана возраста — 36 лет), примерно в 20 % случаев — 20 лет и моложе, чаще среди женщин (соотношение мужчины : женщины = 2,2 : 1) [7, 9]. Этиология заболевания в настоящее время не установлена, известны случаи развития ППТКЛ после органной трансплантации, иммуносупрессивной терапии [10,

11]. При изучении тропности опухолевых клеток к подкожно-жировой клетчатке выявлено наличие экспрессии на атипичных лимфоцитах CCL5 — лиганда к хемокиновым рецепторам CCR5, располагающимся на поверхности адипоцитов. Данный феномен специфичен только для ППТКЛ и отсутствует при неопухолевых поражениях подкожной жировой клетчатки, в том числе при волчаночном панникулите [12]. В 20 % случаев ППТКЛ отмечается ассоциация с аутоиммунными заболеваниями (системная красная волчанка, аутоиммунный тиреоидит, ювенильный ревматоидный артрит) [8].

Наиболее распространенными проявлениями ППТКЛ являются единичные или множественные подкожные инфильтраты на нижних конечностях, кожа над которыми может быть слегка гиперемирована или не изменена [13, 14]. Болезнь протекает длительно и индолентно, в части случаев отмечается самостоятельная регрессия образований. При агрессивном течении ППТКЛ отмечается несколько иная картина, а именно — быстрый рост подкожных образований в размерах с изъязвлением, периферическая лимфаденопатия, стойкая фебрильная лихорадка, уменьшение массы тела и частое развитие жизнеугрожающего состояния — гемофагоцитарного синдрома (стойкая фебрильная лихорадка, панцитопения, гепатоспленомегалия) [15].

Диагностика ППТКЛ основана на данных гистологического, иммуногистохимического и молекулярно-генетического исследований. Патоморфологически выявляется очаговый или диффузный плотный инфильтрат, располагающийся в дольках подкожно-жировой клетчатки без эпидермотропизма и поражения дермы. Инфильтрат представлен плеоморфными лимфоидными клетками среднего и редко крупного размера, характерны очаги некроза подкожно-жировой клетчатки. Опухолевые клетки имеют α/β -цитотоксический иммунофенотип: экспрессируют $\beta F1^+$, $CD3^+$, $CD8^+$, $TIA1^+$, $perforin^+$, $granzyme B^+$, отсутствует экспрессия $CD4^+$, $CD56^+$, $CD30^+$, может наблюдаться потеря пан-Т-клеточных антигенов $CD2$, $CD5$ и $CD7$, пролиферативная активность (Ki-67) варьирует от 10 до 90 % [16]. Молекулярно-генетические исследования определяют клональную реарранжировку генов β -цепи Т-клеточного рецептора в 100 % случаев и генов γ -цепи Т-клеточного рецептора — в 50–80 % [7, 13, 17].

Дифференциальную диагностику проводят с лимфомами, протекающими с поражением подкожно-жировой клетчатки, а именно с экстранодальной НК/Т-клеточной лимфомой, первичной кожной анапластической крупноклеточной лимфомой и первичной кожной γ/δ -Т-клеточной лимфомой. Различие этих лимфопролиферативных заболеваний друг от друга определяется иммунофенотипом опухолевого

субстрата. Однако основную сложность дифференциального диагноза составляют дерматозы с поражением подкожно-жировой клетчатки, самым распространенным среди которых является «люпус-панникулит». Морфологически «панникулит» имеет следующие признаки: накопление муцина, примесь плазматических клеток, скопления В-лимфоцитов с формированием центров размножения, небольшие скопления CD123 плазмацитоидных дендритических клеток [14]. Однако в части случаев подкожных панникулитоподобных лимфом, в том числе в биоптате «старого» либо частично регрессирующего очага, могут быть определены гистопатологические признаки «панникулита», aberrantный иммунофенотип и снижение индекса пролиферативной активности. Такие «перекрестные» черты ППТКЛ и «люпус-панникулита» позволили зародиться существующим и поныне двум гипотезам — трансформация доброкачественных «панникулитов» в неопластические процессы или одномоментное сосуществование Т-клеточной лимфомы и аутоиммунного заболевания [18, 19].

Прогноз при вялотекущих формах заболевания благоприятный: пятилетняя общая выживаемость составляет 80 % [8]. К факторам неблагоприятного прогноза, которые вдвое снижают медиану выживаемости больных, относят: гемофагоцитарный синдром, ангиотропизм, поражение верхних конечностей, повышение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) [20].

В терапии индолентных форм ППТКЛ хорошо себя зарекомендовало использование глюкокортикостероидной или иммуносупрессивной терапии (циклоsporин, малые дозы метотрексата), которая позволяет достичь полных ремиссий заболевания; интенсивная химиотерапия в таких случаях не имеет преимуществ [9, 21, 22, 23].

При агрессивном течении заболевания и/или резистентности к вышеперечисленным лечебным опциям больные нуждаются в проведении интенсивной терапии. Согласно данным, приведенным в нескольких крупных обзорах литературы [8, 24], стандартные схемы химиотерапии с включением антрациклиновых антибиотиков недостаточно эффективны. В педиатрической практике описано успешное применение высокодозных курсов химиотерапии по протоколу NHL BFM-90 в терапии рефрактерных форм заболевания с агрессивным клиническим течением: пятилетняя общая выживаемость и бессобытийная выживаемость составили 78 и 74 %, соответственно, у 25 % больных выполнена трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток с целью консолидации полученной ремиссии [25]. При отсутствии противоопухолевого эффекта от высокодозной химиотерапии по педиатрическим протоколам опции лечения таких больных не определены.



Рисунок 1. Обширный язвенно-некротический дефект в надлобковой области, А — общий вид; Б — язвенный дефект
Figure 1. A large ulcer tumor in suprapubic area, А — general view; Б — ulcerative defect

Цель настоящей работы — представить клинические наблюдения больных ППТКЛ с агрессивным клиническим течением заболевания и рефрактерностью к нескольким линиям химиотерапии.

Клиническое наблюдение 1

В июле 2017 г. в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» (НМИЦ гематологии) Минздрава России обратился мужчина 30 лет с жалобами на обширный язвенно-некротический дефект в надлобковой области (рис. 1а, б), множественные подкожные образования на коже груди, живота, верхних конечностей, стойкую фебрильную лихорадку 39–40 °С, уменьшение массы тела на 15–16 кг. Впервые подкожное образование в надлобковой области появилось в марте 2017 г. и прогрессивно увеличивалось в размерах, сформировался язвенный дефект. В течение трех месяцев больной получал парентерально преднизолон в дозе 20 мг/сут. Однако эффект достигнут не был, отмечено появление новых подкожных инфильтратов. Была выполнена биопсия подкожного образования, при гистологическом исследовании которого выявлен диффузный рост лимфоидных клеток небольших размеров, на основании чего установлен диагноз Т-клеточной лимфомы. Больному был проведен курс химиотерапии по программе СНОР (схема 1), несмотря на проведение которого, отмечалась прогрессия заболевания в виде увеличения в размерах подкожных образований, появления новых.

Схема 1. Программа химиотерапии СНОР

- преднизолон 100 мг внутрь 1–5-й день;
- винкристин 1,4 мг/м ² в/в струйно 1-й день;
- циклофосфан 750 мг/м ² в/в капельно 1-й день;
- доксорубицин 50 мг/м ² в/в капельно за 30 минут 1-й день.

В НМИЦ гематологии произведена повторно биопсия опухоли из язвенно-некротического дефекта. При исследовании биоптата выявлена характерная гистологическая картина: диффузный плотный инфильтрат, располагавшийся в дольках подкожно-жировой клетчатки без эпидермотропизма и поражения дермы, инфильтрат был представлен плеоморфными лимфоидными клетками среднего размера, присутствовали очаги некроза подкожно-жировой клетчатки. На основании гистологической картины, α/β-цитотоксического иммунофенотипа и выявленной клональной реаранжировки генов β-цепи Т-клеточного рецептора верифицирована ППТКЛ.

Несмотря на отсутствие гемофагоцитарного синдрома, болезнь протекала агрессивно, отмечалось генерализованное поражение в виде инфильтратов в подкожно-жировой клетчатке на туловище и верхних конечностях, В-симптомы, повышение сывороточной активности ЛДГ. Течение ППТКЛ было резистентно к терапии глюкокортикостероидными гормонами (первая линия) и химиотерапии по схеме СНОР (схема 1) (вторая линия).

При выборе метода лечения в ФГБУ «НМИЦ гематологии» было принято решение о проведении

блоковой терапии по протоколу NHL BFM-90: выполнен блок А (схема 2), в посткурсовом интервале возникли серьезные осложнения: длительный глубокий миелотоксический агранулоцитоз, грамотрицательный сепсис, вызванный *Escherichia coli*, грамположительная катетер-ассоциированная инфекция кровотока (*Staphylococcus aureus*), мукозит 3-й степени, некротическая энтеропатия, печеночная недостаточность. В результате лечения было достигнуто незначительное улучшение в виде небольшого уменьшения в размерах язвенно-некротического дефекта. После окончания второго высокодозного курса химиотерапии по выбранной программе (блок С) отмечено вновь появление В-симптомов, новых подкожных образований, что свидетельствовало о рефрактерности опухоли к проводимой терапии.

Схема 2. Протокол NHL BFM-90

Блок А:
дексаметазон 10 мг/м ² в/в капельно 1–5-й день;
винкристин 1,4 мг/м ² в/в струйно 1-й день (не более 2 мг);
метотрексат 1000 мг/м ² в/в капельно за 24 часа, кальция фолинат вводится через 12 часов от окончания введения метотрексата;
цитарабин 150 мг/м ² в/в капельно каждые 12 часов 4–5-й день;
этопозид 100 мг/м ² в/в капельно 4–5-й день;
ифосфамид 800 мг/м ² в/в капельно 1–5-й день (обязательно месна — во время инфузии, через 4 и 8 часов после окончания введения ифосфамида, из расчета 60 % от дозы вводимого ифосфамида).
Блок С:
дексаметазон 20 мг/м ² в/в капельно 1–5-й день;
винорельбин 20 мг в/в струйно;
цитозар 2 г/м ² каждые 12 часов 3-часовая инфузия в/в капельно 1–2-й день;
вепезид 150 мг/м ² в/в капельно 3–5-й день.

Следующей линией лечения была выбрана химиотерапия с включением гемцитабина, учитывая потенциальную эффективность этого цитостатического препарата при лечении рефрактерных нодальных Т-клеточных лимфом. После одного курса по программе ESGAP (схема 3) отмечена полная регрессия фебрильной лихорадки, всех инфильтратов в подкожно-жировой клетчатке в области груди, живота и верхних конечностей и постепенное сокращение в размерах язвы надлобковой области. Переносимость лечения была удовлетворительной. Суммарно выполнено три цикла химиотерапии по выбранной программе. По данным позитронно-эмиссионного исследования, совмещенного с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), после окончания третьего курса химиотерапии сохранялось лишь небольшое накопление радиофармпрепарата в инфильтрате подкожно-жировой клетчатки надлобковой области, что соответствовало 3 баллам по шкале Deauville (DS) [26]. С целью кон-

солидации частичной ремиссии заболевания выполнена трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток крови. При контрольном ПЭТ/КТ исследовании отмечено достижение полного метаболического ответа (DS 1 балл).

Схема 3. Программа химиотерапии ESGAP

солумедрол 500 мг/ м ² в/в кап 1–5-й день;
этопозид 100 мг в/в кап 1–4-й день;
цисплатин 25 мг/ м ² в/в кап за 8 часов 1–4-й день;
гемцитабин 1000 мг/м ² в/в кап за 1 час 5-й день.

На настоящий момент срок наблюдения составляет 12 месяцев: сохраняется полная ремиссия заболевания: заживление и рубцевание язвенного дефекта в надлобковой области, отсутствие образований в подкожно-жировой клетчатке ранее выявляемых и других локализациях (рис. 2, 3).

Клиническое наблюдение 2

В НМИЦ гематологии обратилась женщина 36 лет с жалобами на множественные подкожные образования передней стенки брюшной полости, поясничной и ягодичной областей. Диагноз ППТКЛ был верифицирован у нее весной 2018 г. на основании анамнеза и клинической картины заболевания, инструментальных методов обследования, гистологического исследования биоптата инфильтрата подкожно-жировой клетчатки, при котором выявлен инфильтрат, состоящий из лимфоидных клеток небольших размеров, располагающийся вдоль адипоцитов, а также иммуногистохимического исследования биоптата — иммунофенотип опухолевых клеток был представлен экспрессией CD3, CD8, TIA1, perforin, granzyme B, отсутствовала экспрессия CD4, CD56. Кроме того, была выявлена клональная реарранжировка генов и Y-цепи Т-клеточного рецептора.

Больной была проведена первая линия терапии ППТКЛ — циклоспорин А в течение месяца, однако противоопухолевого эффекта достигнуто не было. Следующим этапом лечения было проведение курса системной химиотерапии по программе СНОР, в результате которого также не отмечено положительной динамики.

Учитывая агрессивный характер заболевания, прогрессию после терапии циклоспорином А в течение одного месяца, химиотерапии по программе СНОР, больной было выполнено четыре курса высокодозной химиотерапии (суммарно в течение 2,5 месяца): цисплатин 25 мг/м², цитарабин 2 г/м², этопозид 100 мг/м², метилпреднизолон 500 мг/м². В результате был достигнут противоопухолевый эффект в виде регрессии всех выявляемых элементов. Однако через две недели после окончания четвертого курса химиотерапии отмечено появление двух новых подкожных образований на боковой поверхности брюшной стенки справа, в которых, по данным ПЭТ/КТ, отмечалось специфиче-



Рисунок 2. Заживление и рубцевание язвенного дефекта в надлобковой области
Figure 2. Regression and scarring of the ulcer in the suprapubic area

ское накопление радиофармпрепарата (SUVmax 7,8). Для верификации нозологической формы заболевания была выполнена биопсия одного из образований и на основании гистологического исследования подтвержден диагноз ППТКЛ.

В качестве четвертой линии лечения проведена терапия с включением гемцитабина (схема 4). По данным контрольного ПЭТ/КТ, после 4-го цикла терапии достигнута ремиссия заболевания.

Схема 4. Программа химиотерапии IGEV

дексаметазон 40 мг в/в 1–5-й день;
ифосфамид 2 г/ м2 в/в кап 1–4-й день;
винорельбин 20 мг/ м2 в/в 1-й день;
гемцитабин 800 мг/м2 в/в кап 1-й, 5-й день.

Обсуждение

ППТКЛ является крайне редкой нозологической формой среди кожных лимфом, развивается преимущественно в молодом возрасте и менее чем в 20 % случаев ассоциируется с агрессивным характером течения заболевания [13, 14]. В представленных клинических наблюдениях больные были моложе 40 лет, к моменту появления первых признаков заболевания, отмечалось быстротекущее течение болезни с генерализованным характером поражения.

У больных имелись множественные подкожные образования на животе, груди, верхних и нижних конечностях, кожа над инфильтратами могла быть не изменена, эритематозна или иметь вид экхимоза, у первого больного в надлобковой области определялся обширный (более 12 см в диаметре) язвенно-некротический дефект.



Рисунок 3. Отсутствие образований подкожно-жировой клетчатки в ранее выявляемых и других локализациях
Figure 3. The absence of subcutaneous tumor in previously detected and other localizations

В типичных случаях диагностика лимфомы характеризуется морфогистологическими признаками, такими как наличие очагового или диффузного плотного инфильтрата, располагающегося в дольках подкожно-жировой клетчатки, без эпидермотропизма и поражения дермы; плеоморфными лимфоидными клетками среднего и редко крупного размера с иммунофенотипом $\beta F1^+$, $CD3^+$, $CD8^+$, $CD4^-$, $TIA1^+$, $perforin^+$, $granzyme B^+$, $CD56^-$, $CD30^-$. Выявление Т-клеточной клональности по реарранжировке генов Т-клеточного рецептора является важным дополнительным методом диагностики ППТКЛ. У 2 больных выполнены повторные биопсии кожи и подкожно-жировой клетчатки и выявлены характерные гистологические признаки и иммунофенотип опухолевых клеток, а также определена моноклональность по генам β -цепи (в 1-м случае) и γ -цепи ТКР (во 2-м случае).

Несмотря на благоприятный прогноз при данном заболевании, информацию о хороших результатах лечения глюкокортикостероидными гормонами и иммуносупрессивной терапией по литературным данным [8], в представленных клинических наблюдениях отмечалось рефрактерное течение к описанной терапии, а также к химиотерапии по программе СНОР.

К факторам неблагоприятного прогноза относят гемофагоцитарный синдром, поражение подкожно-жировой клетчатки верхних конечностей, повышение активности ЛДГ. Хотя развитие гемофагоцитарного синдрома не было отмечено ни в одном случае, два других прогностически неблагоприятных признака присутствовали у обоих больных.

Терапия по программе СНОР для агрессивных форм ППТКЛ не приводит к достижению высоких результатов, но в то же время отсутствуют стандарты высокодозной химиотерапии. У первого больного резистентность отмечалась и к высокодозной химиотерапии по протоколу NHL BFM-90, во 2-м случае — к курсам, которые используются для терапии 2-й линии диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфом.

Литература

1. Gonzalez C.L., Medeiros L.J., Braziiel R.M., Jaffe E.S. T-cell lymphoma involving subcutaneous tissue: a clinicopathologic entity commonly associated with hemophagocytic syndrome. *Am J Surg Pathol.* 1991; 15(1): 17–27.
2. Hoque S.R., Child F.J., Whittaker S.J. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a clinicopathological, immunophenotypic and molecular analysis of six patients. *Br J Dermatol.* 2003; 148 (3): 516–25.
3. Lozzi G.P., Massone C., Citarella L. et al. Rimming of adipocytes by neoplastic lymphocytes: a histopathologic feature not restricted to subcutaneous T-cell lymphoma. *Am J Dermatopathol.* 2006; 28: 9–12.
4. Willemze R., Cerroni L., Kempf W. et al. The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lymphomas. *Blood.* 2019; 133 (16): 1703–14. DOI: 10.1182/blood-2018-11-881268
5. Swerdlow S.H., Campo E., Pileri S.A. et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood.* 2016; 127: 2375–90.
6. Lopez-Lerma I., Penate Y., Gallardo F. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: clinical features, therapeutic approach, and outcome in a case series of 16 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2018; 79(5): 892–8.
7. Rutnin S., Porntharukcharoen S., Boonsakan P. Clinicopathologic, immunophenotypic, and molecular analysis of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: A retrospective study in a tertiary care center. *J Cutan Pathol.* 2019; 46 (1): 44–51.
8. Willemze R., Jansen P.M., Cerroni L. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: definition, classification, and prognostic factors: an EORTC Cutaneous Lymphoma Group study of 83 cases. *Blood.* 2008; 111(2): 838–45.
9. Michonneau D., Petrella T., Ortonne N. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: immunosuppressive drugs induce better response than polychemotherapy. *Acta Derm Venereol.* 2017; 97(3): 358–64.
10. Michot C., Costes V., Gerard-Dran D. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma in a patient receiving etanercept for rheumatoid arthritis. *Br J Dermatol.* 2009; 160: 889–90.
11. Bregman S.G., Yeane G.A., Greig B.W. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma in a cardiac allograft recipient. *J Cutan Pathol.* 2005; 32: 366–70.
12. Margo C.M., Wang X. CCL5 expression in panniculitic T-cell dyscrasias and its potential role in adipocyte tropism. *Am J Dermatopathol.* 2013; 35: 332–7.
13. Kong Y.Y., Dai B., Kong J.C. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a clinicopathologic, immunophenotypic and molecular study of 22 Asian cases according to WHO-EORTC classification. *Am J Surg Pathol.* 2008; 32 (10): 1495–502.
14. Ohtsuku M., Miura T., Yamamoto T. Clinical characteristics, differential diagnosis, and treatment outcome of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a literature review of published Japanese cases. *Eur J Dermatol.* 2017; 27(1): 34–41.
15. Yi L., Qun S., Wenjie Z. et al. The presenting manifestations of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma and T-cell lymphoma and cutaneous γ/δ T-cell

Схемы лечения с применением гемцитабина хорошо зарекомендовали себя в терапии периферических Т-клеточных лимфом в первой и последующих линиях [27, 28]. Как показывают результаты лечения больных в представленных наблюдениях, несмотря на рефрактерность, как минимум к трем видам лечения, использование гемцитабина позволило достигнуть длительных полных ремиссий заболевания.

References

1. Gonzalez C.L., Medeiros L.J., Braziiel R.M., Jaffe E.S. T-cell lymphoma involving subcutaneous tissue: a clinicopathologic entity commonly associated with hemophagocytic syndrome. *Am J Surg Pathol.* 1991; 15(1): 17–27.
2. Hoque S.R., Child F.J., Whittaker S.J. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a clinicopathological, immunophenotypic and molecular analysis of six patients. *Br J Dermatol.* 2003; 148 (3): 516–25.
3. Lozzi G.P., Massone C., Citarella L. et al. Rimming of adipocytes by neoplastic lymphocytes: a histopathologic feature not restricted to subcutaneous T-cell lymphoma. *Am J Dermatopathol.* 2006; 28: 9–12.
4. Willemze R., Cerroni L., Kempf W. et al. The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lymphomas. *Blood.* 2019; 133 (16): 1703–14. DOI: 10.1182/blood-2018-11-881268
5. Swerdlow S.H., Campo E., Pileri S.A. et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood.* 2016; 127: 2375–2390.
6. Lopez-Lerma I., Penate Y., Gallardo F. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: clinical features, therapeutic approach, and outcome in a case series of 16 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2018; 79(5): 892–8.
7. Rutnin S., Porntharukcharoen S., Boonsakan P. Clinicopathologic, immunophenotypic, and molecular analysis of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: A retrospective study in a tertiary care center. *J Cutan Pathol.* 2019; 46 (1): 44–51.
8. Willemze R., Jansen P.M., Cerroni L. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: definition, classification, and prognostic factors: an EORTC Cutaneous Lymphoma Group study of 83 cases. *Blood.* 2008; 111(2): 838–45.
9. Michonneau D., Petrella T., Ortonne N. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: immunosuppressive drugs induce better response than polychemotherapy. *Acta Derm Venereol.* 2017; 97(3): 358–64.
10. Michot C., Costes V., Gerard-Dran D. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma in a patient receiving etanercept for rheumatoid arthritis. *Br J Dermatol.* 2009; 160: 889–90.
11. Bregman S.G., Yeane G.A., Greig B.W. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma in a cardiac allograft recipient. *J Cutan Pathol.* 2005; 32: 366–70.
12. Margo C.M., Wang X. CCL5 expression in panniculitic T-cell dyscrasias and its potential role in adipocyte tropism. *Am J Dermatopathol.* 2013; 35: 332–7.
13. Kong Y.Y., Dai B., Kong J.C. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a clinicopathologic, immunophenotypic and molecular study of 22 Asian cases according to WHO-EORTC classification. *Am J Surg Pathol.* 2008; 32 (10): 1495–502.
14. Ohtsuku M., Miura T., Yamamoto T. Clinical characteristics, differential diagnosis, and treatment outcome of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a literature review of published Japanese cases. *Eur J Dermatol.* 2017; 27(1): 34–41.
15. Yi L., Qun S., Wenjie Z. et al. The presenting manifestations of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma and T-cell lymphoma and cutaneous γ/δ T-cell

lymphoma may mimic those of rheumatic diseases: a report of 11 cases. *Clin Rheumatol.* 2013; 32: 1169–75.

16. Willemze R. Cutaneous lymphomas with a panniculitic presentation. *Seminars in Diagnostic Pathology.* 2017; 34(1): 36–43. DOI: 10.1053/j.sem-dp.2016.11.009.

17. Lee D.W., Yang J.H., Lee S.M. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a clinical and pathologic study of 14 Korean patients. *Ann Dermatol.* 2011; 23(3): 329–37.

18. Sitthinamsuwan P, Pattanaprichakul P., Treetipsatit J. et al. Subcutaneous Panniculitis-Like T-Cell Lymphoma Versus Lupus Erythematosus Panniculitis: Distinction by Means of the Periadipocytic Cell Proliferation Index. *Am J Dermatopathol.* 2018; 40(8): 567–74.

19. Pincus L.B., LeBoit P.E., McCalmont T.H. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma with overlapping clinicopathologic features of lupus erythematosus: coexistence of 2 entities. *Am J Dermatopathol.* 2009; 31: 520–6.

20. Massone C., Lozzi G.P., Egberts F. et al. The protean spectrum of non-Hodgkin lymphomas with prominent involvement of subcutaneous fat. *J. Cutan. Pathol.* 2006; 33: 418–25.

21. Mizutani S., Kuroda J., Shimura Y. et al. Cyclosporine A for chemotherapy-resistant subcutaneous panniculitis-like T cell lymphoma with hemophagocytic syndrome. *Acta Haematol.* 2011; 126: 8–12.

22. Jang M.S., Baek J.W., Kang D.Y. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: successful treatment with systemic steroid alone. *J. Dermatol.* 2012; 39(1): 96–9.

23. Briki H., Bouaziz J.D., Molinier-Frenkel V. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: complete sustained remission with corticosteroids and methotrexate. *Br J Dermatol.* 2010; 163(5): 1136–8.

24. Go R.S., Wester S.M. Immunophenotypic and molecular features, clinical outcomes, treatments, and prognostic factors associated with subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a systemic analysis of 156 patients reported in literature. *Cancer.* 2004; 101(6): 1404–13.

25. Mellgren K., Attarbaschi A., Abba O. et al. Non-anaplastic peripheral T-cell lymphoma in children and adolescents – an International review of 143 cases. *Ann Hematol.* 2016; 95(8): 1295–305.

26. Cheson B.D. PET/CT in lymphoma: Current overview and future directions. *Semin Nucl Med.* 2018; 48(1): 76–81.

27. Ng M., Waters J., Cunningham D. et al. Gemcitabine, cisplatin and methylprednisolone (GEM-P) is an effective salvage regimen in patients with relapsed and refractory lymphoma. *Br J Cancer.* 2005; 92(8): 1352–7.

28. Yim K.L., Ashley S. Assessment of gemcitabine, cisplatin and methylprednisolone (GEM-P) combination treatment for non-Hodgkin T cell lymphoma. *Med Oncol.* 2012; 29(5): 3535–9.

Информация об авторах

Горенкова Лилия Гамилевна*, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: l.aitova@mail.ru; 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3967-9183>

lymphoma may mimic those of rheumatic diseases: a report of 11 cases. *Clin Rheumatol.* 2013; 32:1169–75.

16. Willemze R. Cutaneous lymphomas with a panniculitic presentation. *Seminars in Diagnostic Pathology.* 2017; 34(1): 36–43. DOI: 10.1053/j.sem-dp.2016.11.009.

17. Lee D.W., Yang J.H., Lee S.M. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a clinical and pathologic study of 14 Korean patients. *Ann Dermatol.* 2011; 23(3): 329–37.

18. Sitthinamsuwan P, Pattanaprichakul P., Treetipsatit J. et al. Subcutaneous Panniculitis-Like T-Cell Lymphoma Versus Lupus Erythematosus Panniculitis: Distinction by Means of the Periadipocytic Cell Proliferation Index. *Am J Dermatopathol.* 2018; 40(8): 567–74.

19. Pincus L.B., LeBoit P.E., McCalmont T.H. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma with overlapping clinicopathologic features of lupus erythematosus: coexistence of 2 entities. *Am J Dermatopathol.* 2009; 31: 520–26.

20. Massone C., Lozzi G.P., Egberts F. et al. The protean spectrum of non-Hodgkin lymphomas with prominent involvement of subcutaneous fat. *J. Cutan. Pathol.* 2006; 33: 418–25.

21. Mizutani S., Kuroda J., Shimura Y. et al. Cyclosporine A for chemotherapy-resistant subcutaneous panniculitis-like T cell lymphoma with hemophagocytic syndrome. *Acta Haematol.* 2011; 126: 8–12.

22. Jang M.S., Baek J.W., Kang D.Y. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: successful treatment with systemic steroid alone. *J. Dermatol.* 2012; 39(1): 96–9.

23. Briki H., Bouaziz J.D., Molinier-Frenkel V. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: complete sustained remission with corticosteroids and methotrexate. *Br J Dermatol.* 2010; 163(5): 1136–8.

24. Go R.S., Wester S.M. Immunophenotypic and molecular features, clinical outcomes, treatments, and prognostic factors associated with subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a systemic analysis of 156 patients reported in literature. *Cancer.* 2004; 101(6): 1404–13.

25. Mellgren K., Attarbaschi A., Abba O. et al. Non-anaplastic peripheral T-cell lymphoma in children and adolescents – an International review of 143 cases. *Ann Hematol.* 2016; 95(8): 1295–305.

26. Cheson B.D. PET/CT in lymphoma: Current overview and future directions. *Semin Nucl Med.* 2018; 48(1): 76–81.

27. Ng M., Waters J., Cunningham D. et al. Gemcitabine, cisplatin and methylprednisolone (GEM-P) is an effective salvage regimen in patients with relapsed and refractory lymphoma. *Br J Cancer.* 2005; 92(8): 1352–7.

28. Yim K.L., Ashley S. Assessment of gemcitabine, cisplatin and methylprednisolone (GEM-P) combination treatment for non-Hodgkin T cell lymphoma. *Med Oncol.* 2012; 29(5): 3535–9.

Information about the authors

Liliya G. Gorenkova*, Cand. Sci. (Med.), Researcher, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy for Hemoblastoses, National Research Center for Hematology, e-mail: l.aitova@mail.ru; 125167, Moscow, Novyy Zыkovskiy proezd, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3967-9183>

Кравченко Сергей Кириллович, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий отделением интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: kravchenko.s@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7721-2074>

Силаев Максим Анатольевич, кандидат медицинских наук, врач-хирург научно-клинического отделения гематологической хирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: silaev.m@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4937-018X>

Рыжикова Наталья Валерьевна, научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: ryzhikova.n@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2424-9524>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 22.01.2019

Принята к печати: 14.05.2019

Sergey K. Kravchenko, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy for Hemoblastoses, National Research Center for Hematology,
e-mail: kravchenko.s@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7721-2074>

Maxim A. Silaev, Cand. Sci. (Med.), Surgeon, Scientific and Clinical Department of Hematological Surgery, National Research Center for Hematology.
e-mail: silaev.m@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4937-018X>

Natalya V. Ryzhikova, Researcher, Laboratory of Molecular Haematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: ryzhikova.n@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2424-9524>

*** Corresponding author**

Received 22 Jan 2019

Accepted 14 May 2019

СРАВНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ДО ЛЕЧЕНИЯ И ПОСЛЕ КОНСТАТАЦИИ РЕЦИДИВА МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ (КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ)

Сергеева А. М.^{1,*}, Абрамова Т. В.¹, Сурин В. Л.¹, Обухова Т. Н.¹, Довыденко М. В.¹, Сунцова М. В.^{2,3}, Буздин А. А.^{3,4}, Менделеева Л. П.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

² ФГБУН «Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, 117198, Москва, Россия

³ ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, Москва, Россия

⁴ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Множественная миелома (ММ) является лимфопролиферативным заболеванием, длительность ремиссии которого сложно прогнозировать.

Цель работы: проанализировать молекулярно-генетический статус опухоли у больного с коротким периодом ремиссии в дебюте и рецидиве ММ и сопоставить с клиническим течением заболевания.

Материалы и методы. Соматические мутации определяли методом секвенирования по Сэнгеру. Уровень экспрессии генов анализировали с помощью секвенирования РНК на платформе Illumina. Для изучения хромосомных перестроек проводили флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH-исследование).

Результаты. До начала лечения и в рецидиве заболевания у больного выявлена гетерозиготная клональная мутация с.182А>С (р.Q61P) в гене *N-RAS*, нарушающая регуляцию сигнального пути MAPK. Транскриптомный анализ, выполненный методом RNA-seq, показал резкое усиление экспрессии гена *Il6* при рецидиве (в 30 раз), которое могло послужить пусковым механизмом прогрессии множественной миеломы, поскольку этот цитокин стимулирует клеточную пролиферацию, активируя различные сигнальные пути (MAPK, JAK-STAT, PI3K). Прогрессия заболевания сопровождалась также усилением экспрессии ключевых регуляторных генов (*c-MYC*, *Notch2*, *MDM*, *RAF1*, *STAT4*, *mTOR*) и резким уменьшением экспрессии генов иммуноглобулинов, вызвавшим у больного глубокий иммунодефицит. При молекулярно-цитогенетическом исследовании (FISH) в дебюте заболевания была выявлена трисомия по хромосомам 5, 9, и 15. Рецидив заболевания сопровождался амплификацией локуса 1q21 при сохранении гипердиплоидии.

Заключение. Для прогноза длительности периода ремиссии необходимо проводить комплексный молекулярно-генетический скрининг.

Ключевые слова: множественная миелома, соматические мутации, экспрессия генов, цитогенетика

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Сергеева А.М., Абрамова Т.В., Сурин В.Л., Обухова Т.Н., Довыденко М.В., Сунцова М.В., Буздин А.А., Менделеева Л.П. Сравнение молекулярно-генетической структуры опухолевых клеток до лечения и после констатации рецидива множественной миеломы (краткий обзор и описание клинического случая). Гематология и трансфузиология. 2019; 64(3):362–374. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-362-374>

MOLECULAR GENETIC STRUCTURE OF MULTIPLE MYELOMA TUMOUR CELLS PRIOR TO TREATMENT AND AT THE TIME OF RELAPSE: SHORT REVIEW AND CASE REPORT

Sergeeva A. M.^{1,*} Abramova T. V.¹, Surin V. L.¹, Obukhova T. N.¹, Dovydenko M. V.¹, Suntsova M. V.^{2,3}, Buzdin A. A.^{3,4}, Mendeleeva L. P.¹

¹ National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

² Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 117198, Moscow, Russian Federation

³ Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, 117997, Moscow, Russian Federation

⁴ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 119991, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Multiple myeloma (MM) is a lymphoproliferative disorder, for which the duration of remission is hard to predict.

Aim. To analyse the molecular genetic status of the tumour of MM patient with a short remission period at the onset and relapse of the disease, as well as to conduct its comparison with the clinical course of the disease.

Materials and methods. Somatic mutations were detected through Sanger sequencing. The level of gene expression was analysed using RNA sequencing on the Illumina platform. In order to study chromosomal rearrangements, the authors performed fluorescence hybridisation in situ (FISH study).

Results. Prior to the treatment and during the relapse of the disease, the patient revealed a heterozygous clonal mutation p.182A>C (p.Q61P) in the *N-RAS* gene, which is known to hamper regulation of the MAPK signalling pathway. The transcriptome analysis performed using the RNA-seq method revealed a sharp increase in the expression of the *IL6* gene during relapse (by 30 times), which could have served as a trigger for the progression of multiple myeloma, given that this cytokine stimulates cell proliferation by activating various signalling pathways (MAPK, JAK-STAT, PI3K). The progression of the disease was also accompanied by an increased expression of key regulatory genes (*c-MYC*, *Notch2*, *MDM*, *RAF1*, *STAT4*, *mTOR*) and a sharp decrease in the expression of immunoglobulin genes, which caused deep immunodeficiency in the patient. A molecular cytogenetic study (FISH) revealed trisomy of chromosomes 5, 9 and 15 at the onset of the disease. Disease relapse occurred with the amplification of the 1q21 locus, with hyperdiploidy being preserved.

Conclusion. In order to predict the duration of the remission period, a complex molecular genetic screening is required.

Keywords: multiple myeloma, MM, somatic mutation, gene expression, cytogenetics

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Sergeeva A.M., Abramova T.V., Surin V.L., Obukhova T.N., Dovydenko M.V., Suntsova M.V., Buzdin A.A., Mendeleeva L.P. Molecular genetic structure of multiple myeloma tumour cells prior to treatment and at the time of relapse: Short review and case report. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(3):362–374 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-3-362-374>

Введение

Множественная миелома (ММ) относится к злокачественным заболеваниям системы крови с клональной пролиферацией плазматических клеток. Патогенез ММ представляет собой многоступенчатый процесс трансформации генетического материала клетки, который изучен лишь частично [1]. Молекулярно-ци-

тогенетическое исследование клеток костного мозга у больных ММ является рутинным методом обследования, по результатам которого проводится стратификация больных на группы риска и стадирование ММ. При цитогенетическом исследовании определяются: транслокации с вовлечением локуса генов IGH

14-й хромосомы, наличие трисомий по целому ряду нечетных хромосом, делеция короткого плеча 17-й хромосомы, моносомия или делеция длинного плеча 13-й хромосомы (*del13q*) и амплификация локуса *1q21* (*amp1q21*) [2]. Наряду с этим для тестирования точечных мутаций в генах, ассоциированных с развитием ММ, широко используется метод секвенирования по Сэнгеру, позволяющий получать надежные результаты при анализе последовательности ДНК на предмет единичных нуклеотидных замен, микроделений и микроинсерций коротких участков длиной от одного нуклеотида до нескольких десятков оснований. Однако этот метод пригоден только для анализа мутаций, носящих клональный характер или присутствующих в субклонах, составляющих не менее 10 % от общей опухолевой массы. Исследования с использованием современных методов секвенирования показали высокую гетерогенность различных генетических нарушений при ММ [3, 4].

По данным, полученным на большой выборке больных с использованием секвенирования полного экзона (*whole exome sequencing*, WES), наиболее часто встречающимися нарушениями у больных ММ являются точечные мутации в генах сигнального MAPK-пути (*N-RAS*, *K-RAS*, *BRAF*) и онкосупрессора *TP53*, которые суммарно встречаются примерно у половины больных [5].

В патогенезе ММ нарушается регуляция транскрипции целого ряда генов, таких как *C-MYC*, *MMSET* (*NSD2*), *CCND1*, *CCND2*, *CKS1B*, *Notch2*, *IL-6*, *MDM2*. В результате появляется понятие «профиля» экспрессии генов, различные варианты которого могут иметь прогностическое значение, определяя характер течения заболевания и его резистентность к терапии [6].

Гены семейства RAS. Гены семейства *RAS* — наиболее часто мутирующие гены при ММ. В исследовании W. Chng и соавт. [7] частота встречаемости мутаций генов семейства *RAS* составила 23 % (102/561), из них у 74 (17 %) были выявлены мутации в гене *N-RAS*, у 28 (6 %) — в гене *K-RAS*. Большинство мутаций было детектировано в кодоне 61-го гена *N-RAS* (64 из 74). По данным литературы [8], активирующие миссенс-мутации в генах *N-RAS* и *K-RAS* изменяют свойства соответствующих белков и превращают протоонкогены в онкогены. Функциональная нагрузка таких мутаций заключается в том, что белки *RAS* теряют ГТФ-азную активность, вследствие чего нарушается их нормальная регуляция цитокинами в передаче митоген-активирующего сигнала к ядру, что приводит к повышенной пролиферации клеток [8]. Стадия, предшествующая ММ, моноклональная гаммапатия неясного генеза (МГНГ), на молекулярном уровне отличается от ММ отсутствием мутаций в генах семейства *RAS* [9]. Имеющиеся в литературе сведения о роли активирующих мутаций в генах *K-RAS* и *N-RAS* в патогенезе

ММ весьма противоречивы. По одним данным, они считаются фактором неблагоприятного прогноза, ассоциируются с прогрессией заболевания и меньшей общей выживаемостью, по другим — могут влиять только на резистентность к терапии определенными препаратами (например, бортезомибом) [7, 10, 11].

BRAF. Киназа *BRAF* передает сигнал от *RAS* белков к нижестоящим эффекторным белкам сигнального пути MAPK. Частота мутаций в гене *BRAF* при ММ варьирует от 4 до 14,9 % [12]. Чаще всего встречается активирующая мутация в 600-м кодоне с заменой валина на глютаминовую кислоту (V600E). Показано [13], что эта мутация ассоциируется с клинически более агрессивным течением ММ, более низкими показателями общей выживаемости, а также с высокой частотой (>50 %) выявления экстрамедуллярных очагов.

TP53. Опухолевый супрессор *p53* является транскрипционным фактором. Этот белок связывается с промоторами различных генов и может как активировать, так и ингибировать их транскрипцию. Белок *p53* вовлечен в репликацию и репарацию ДНК. Отсутствие гена *TP53* ведет к развитию синдрома Ли — Фраумени, проявляющегося предрасположенностью к отдельным новообразованиям и возникновению первично-множественных опухолей [14]. Известен спектр нарушений, ведущих к дисфункции белка *p53*. Сюда относятся мутации гена *TP53*, метилирование его регуляторных областей, нарушение транспорта белка *p53* в ядро, амплификация ингибитора *p53* белка *mdm2*, связывание с вирусным белком Е6, которое ведет к деградации *p53* [14]. Кроме того, при делеции короткого плеча хромосомы 17 (*p17del*) одна копия гена утрачивается полностью. Инактивация белка *p53* считается универсальным изменением в опухолевой клетке и встречается в 50–60 % новообразований. В основном генные нарушения встречаются в гетерозиготном состоянии, представлены миссенс-мутациями, приводящими к аминокислотным заменам, и затрагивают чаще всего ДНК-связывающий домен. В результате подобных мутаций происходит изменение вторичной структуры белка и появление новых свойств, таких как способность активировать экспрессию некоторых генов, к которым относятся *c-MYC*, *CCND1*, *MRD1*. Усиление экспрессии *MRD1* связано с появлением множественной лекарственной устойчивости у клеток опухоли [15].

c-MYC. Протоонкоген *c-MYC* задействован во многих путях передачи сигналов от рецепторных комплексов на поверхности мембраны клетки. Его экспрессия находится под контролем целого набора транскрипционных регуляторов [16]. Белок *c-myc* вовлечен в большое число внутриклеточных взаимодействий, его повышенная экспрессия ассоциирована с начальными стадиями неопластической трансформации клеток и усилением их пролиферации [17]. В спектр функций *c-myc*

входит регуляция внутриклеточных систем энергообеспечения — гликолиза, метаболизма глутамина и биогенеза митохондрий, которые приводят к аккумуляции энергии для репликации ДНК и деления клетки [18]. Повышенная экспрессия этого белка ассоциируется с геномной нестабильностью, вызываемой стимуляцией митохондрий, которая приводит к наработке активных форм кислорода [19], и в частности может быть связана с появлением транслокаций [20].

MMSET (NSD2). Белок MMSET (multiple myeloma SET domain) является гистонметилтрансферазой и принимает участие в реорганизации хроматина. Его повышенная экспрессия наблюдается на начальных стадиях патогенеза ММ. Транслокация с участием гена *MMSET* t(4;14) является фактором неблагоприятного прогноза. Искусственная репрессия белка MMSET приводит к пониженному темпу пролиферации, индукции апоптоза и клеточной адгезии [21].

CCND1 и CCND2. Высококонсервативные белки из семейства D-циклинов, CCND1 и CCND2, представляют собой регуляторные субъединицы киназ, необходимые для перехода клетки из G1 в S-фазу клеточного цикла. Эти белки взаимодействуют с опухолевым супрессором Rb, и их экспрессия положительно регулируется Rb. Результатом ранних событий в патогенезе множественной миеломы, таких как IGH-транслокации, появление гипердиплоидности и трисомии, является гиперэкспрессия этих циклинов [22].

CKS1B. Увеличение экспрессии гена субъединицы 1B циклинкиназы является фактором неблагоприятного прогноза при ММ. Функция *CKS1B* заключается в активации циклина через его фосфорилирование [23]. Ген расположен на длинном плече 1-й хромосомы, его амплификация регулярно встречается среди генетических нарушений множественной миеломы [24].

Notch2. Белки семейства Notch вовлечены в регуляцию гемопоэза. Отсутствие белков этого семейства ведет к нарушению поздних стадий дифференцировки В-клеток [25]. Нарушение регуляторных механизмов работы рецепторов или их лигандов, входящих в сигнальный путь Notch, исследовано в различных типах злокачественных солидных и гематологических опухолей, в том числе и при ММ. Ингибирование Notch индуцирует апоптоз в клетках опухоли, уменьшает устойчивость к лекарственным препаратам, изменяет характеристики миграции/рециркуляции плазматических клеток и их обновление [26]. Notch может участвовать в прогрессии ММ, увеличивая уровень интерлейкина-6 (IL-6), одного из ключевых факторов, стимулирующих клеточную пролиферацию [27].

Интерлейкин-6. Представляет собой цитокин плеiotропного действия. Он индуцирует дифференцировку и рост разных типов клеток, в том числе дифференцировку нормальных В-клеток в плазматические клетки, производящие антитела. Пролиферативная

активность клеток множественной миеломы зависит от IL-6, осуществляющего ее аутокринную регуляцию [28]. Экспрессия IL-6 ассоциирована с агрессивным течением заболевания, высоким пролиферативным индексом и устойчивостью к лекарственным препаратам, запускающим апоптоз [29]. Повышение активности IL-6 связано с остеодеструкцией — повышенной активностью и пролиферацией остеокластов и снижением количества остеобластов при ММ [30]. Высокий уровень экспрессии IL-6 является фактором плохого прогноза при ММ.

MDM2 (murine double minute 2) — белок ингибитор TP53. Изначально ген этого белка был идентифицирован в экстрахромосомной ДНК, образующейся в раковых клетках. Его взаимодействие с *TP53* ведет к тому, что комплекс *MDM2/TP53* направляется из ядра в цитоплазму, где подвергается убиквитинированию. В условиях стресса сайты связывания *MDM2* и *TP53* фосфорилируются, и комплекс, в котором *TP53* не активен, не образуется. В результате белок *TP53* переходит из латентной формы в активированную форму, запускает процессы остановки клеточного цикла и апоптоза. Гиперэкспрессия *MDM2* — типичный механизм разоружения раковой клетки, лишаящий ее защитных функций опухолевого супрессора *TP53* [31].

Цель исследования — проанализировать молекулярно-генетический статус опухоли у больного ММ с коротким периодом ремиссии в дебюте и рецидиве заболевания и сопоставить с клиническим течением заболевания.

Материалы и методы

Пункцию костного мозга для молекулярно-генетического скрининга (fluorescence *in situ* hybridization (FISH), измерение экспрессии и мутационный статус генов) проводили дважды — в дебюте и рецидиве ММ.

Для оценки значимости изменения величин экспрессии генов регуляторных белков у больного ММ в дебюте и рецидиве заболевания сравнивали их с соответствующими показателями для клеток CD138⁺, полученных от 10 доноров (5 женщин, 5 мужчин в возрасте от 25 до 41 года). Если значение экспрессии гена у больного вписывалось в диапазон значений, характерных для доноров, считали, что оно находится в пределах нормы.

Выделение мононуклеаров из костного мозга и CD138⁺-клеток. Используя градиент плотности фиколла (1,077 г/см³), из костномозговой взвеси выделяли фракцию мононуклеаров. В дальнейшем проводилась высокоактивная магнитная сепарация согласно протоколу Miltenyi Biotec (Miltenyi Biotec GmbH, Germany, <http://www.miltenyibiotec.com>) с использованием магнитного сепаратора OctoMacs, антител anti-CD138, конъюгированных с 50-нм частицами оксида железа и анти-

тел anti-CD138, конъюгированных с фикоэритрином. Чистота выделения моноклеаров, обогащенных CD138⁺-клетками, в дебюте (установка диагноза 29.05.2013) и прогрессии (констатация рецидива 01.08.2014) составила 80 и 70 % соответственно. В дальнейшем полученные моноклеары и CD138⁺-клетки использовали для проведения FISH-исследования, измерения уровня экспрессии генов и определения мутационного статуса генов.

Флуоресцентная гибридизация in situ (FISH). Молекулярно-цитогенетическое исследование клеток костного мозга выполняли в лаборатории кариологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. В дебюте заболевания FISH-исследование проводилось на моноклеарах костного мозга для выявления первичных (t(14q32)/*IGH*, множественные трисомии) и вторичных (del17p13/*TP53*, del13q14/-13, del1p32, amplq21 и t(8q24)/*cMYC*) хромосомных аномалий. В прогрессии заболевания на сепарированных CD138⁺-клетках проводился повторный FISH-анализ с ДНК-зондами для выявления del17p13/*TP53*, del13q14/-13, del1p32, amplq21, t(8q24)/*cMYC* и множественных трисомий. В работе использовали различные центромерные и локус-специфичные ДНК-зонды: XL *IGH plus*, XL P53, XL *cMYC* BA, XL 1p32/1q21, XL 5p15/9q22/15q22 Hyperdiploidy Amplification Probe (MetaSystems, Germany) и D13S25 (Cytocell, UK). Исследование проводили согласно протоколам производителей. Для каждого зонда анализировали по 200 интерфазных ядер с четкими сигналами. Результаты FISH-анализа описывали в соответствии с международной номенклатурой (International System for Cytogenetic Nomenclature, ISCN, 2013) [32].

Анализ экспрессии генов. Тотальную фракцию РНК выделяли из плазматических клеток костного мозга с поверхностным маркером CD138⁺ при помощи лизиса в гуанидин-изотиоцианатном буфере с последующей очисткой стандартным фенол-хлороформным методом. Полученную РНК хранили при температуре -70 °С в EtOH. Для анализа экспрессии генов использовали метод секвенирования РНК нового поколения (RNA-seq). Анализ проводили на приборе Illumina HiSeq (Illumina, США) с использованием наборов для подготовки библиотеки транскриптома тотальной РНК (Whole-transcriptome analysis with total RNA sequencing). Выравнивание полученных после секвенирования последовательностей на референсный геном и сборка транскриптома проводилось с помощью программного обеспечения STAR [33]. Пересчет уровня экспрессии генов был выполнен в программе DESeq2. Числовые значения экспрессии (normalized gene counts, ngc) представляют собой абсолютные значения, полученные при сборке и выравнивании транскрипта гена на последовательность референсного гена с последующим нормированием на глубину секвенирования [34]. Для определения значимости различий между экспрессией в опухолевых клетках

в дебюте и рецидиве заболевания полученные значения приведены с меньшим и большим диапазоном значений экспрессии в плазматических клетках 10 добровольцев (табл. 1).

Анализ соматических мутаций. Соматические мутации в геномной ДНК плазматических клеток CD138⁺ костного мозга анализировали методом секвенирования по Сэнгеру. В данной работе исследовались кодирующие области генов *N-RAS*, *K-RAS*, *TP53*, и экзон 15 гена *BRAF*. Геномную ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. Клетки лизировали в 1 мл STE (Sodium Chloride-Tris-EDTA) буфера, содержащего 1 % додецилсульфат натрия (SDS) и протеиназу К (200 мкг/мл), в течение ночи при 37 °С или двух часов при 60 °С с последующей фенольной экстракцией.

Для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали смесь PCR Master Mix (2X) Thermo Scientific™, 0,01–0,02 мкг геномной ДНК и 10 пкмоль каждого из праймеров в усредненных условиях (94 °С — 1 мин., 60–62 °С — 1 мин., 72 °С — 1–2 мин., 30 циклов). Все праймерные системы и зонды являются оригинальными и разработаны в ходе проведения данного исследования. Для гена *BRAF* праймеры были синтезированы для 15-го экзона: прямой праймер *BRAF15D*: *gatctcttacctaaactcttca*; обратный праймер *BRAF15R*: *cttcaatgactttctagtaact*, для гена *NRAS* и *KRAS* праймеры были подобраны таким образом, чтобы амплифицировать 2, 3 и 4-й экзоны обоих генов: *RAS1D*: *atgtggctgcgcaattaacc* и *RAS1R* *tgggtaaatgatgatcgacaa*; *RAS1*: *cccttaccctccacaccccc*; *RAS2* *ctcatttccccataaagattcag*; *NRAS3x*: *ttaagcagctgcctctct*; *NRAS4*: *aactgatgcaaaccttgcaca*; *KRAS1D*: *gatacagctgtgcagtcac*; *KRAS1R*: *tctgcaccagtaaatatgc*; *KRAS2D*: *ccagactgtgttctctctg*; *KRAS2R*: *ttactccactgctctaatccc*; *KRAS3*: *gacaaaagtggtggacaggt*; *KRAS4*: *ggacactggattaagaagcaa*. Все кодирующие экзоны *TP53*, кроме 11-го, были включены в анализ и амплифицировались с использованием следующих праймеров: *TP53D1*: *gccgagctgtctcagacact*; *TP53R1*: *gaggaatcccaaatgtcccaacaa*; *TP53D2*: *acg ccaactctctctagctc*; *TP53R2*: *ggccactgacaaccaccctta*; *TP53D3*: *ggcctccctgtgttgcaca*; *TP53R3*: *caaccaccctgtgtcttct*; *TP53D4*: *ggttctctccacactact*; *TP53R4*: *gcaggctaggttaagctatga*; *TP53D5*: *catgtgtgtttgtaccgtca*; *TP53R5*: *cagctgcctttgacatgaa*.

Продукты ПЦР разделяли при помощи электрофореза в 6 % полиакриламидном геле (ПААГ) и визуализировали в УФ-свете после окрашивания бромистым этидием. Для секвенирования ПЦР-продукты реакции очищали на колонках Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System Promega.

Праймеры синтезировали в ООО «Синтол». Секвенирование проводили с помощью набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v.3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ДНК ABI PRISM 3500 в ЦКП «Геном». Полученные с секвенатора электрофореграммы анализировали в программе Vector NTI.

Таблица 1. Изменения уровня экспрессии генов в дебюте ММ и при констатации рецидива у больного в сравнении со значениями экспрессии этих генов у доноров**Table 1.** Gene expression fold changes are at the time of diagnosis and progression in comparison with a range of gene expression values for a group of donors

Гены Genes	Доноры (n = 10) Donors (n = 10)		Больной Patient	
	минимальное значение, ngc min value, ngc	максимальное значение, ngc max value, ngc	дебют заболевания, ngc disease debut, ngc	рецидив заболевания, ngc disease relapse, ngc
c-тус	188	493	1374	2074
CCND1	5	981	117	12
CCND2	332	4592	4383	613
MMSET(NSD2)	611	1608	338	1195
Notch2	945	2276	1763	5805
CKS1B	4	40	17	29
IL6	2	41	33	953
TP53	166	479	237	210
MDM2	384	910	1821	4458
RAF1	706	1395	791	1710
STAT4	22	143	46	145
mTOR	456	723	625	1585
Клональные IGH/L Clonal IGH/L				
IGHG2	35146	280485	628255	67532
IGHM	46047	279812	2118	298
IGHV3-33	811	11080	13954	1246
IGLC2	25465	126208	242255	22381
IGLV1-44	1460	6682	21176	1491
Неклональные IGH Non-clonal IGH				
IGHV3-23	8970	48891	940	14
IGHV2-5	3204	15381	1613	36

Примечание. ngc — normalized gene counts, единица измерения экспрессии гена, выраженная в количестве прочтений гена, нормированного на общее число прочтений в образце.

Note. ngc — normalized gene counts (units of given values).

Результаты

Клиническое течение заболевания

Больной И. Ю. И., 1957 года рождения, наблюдался в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с мая 2013 г. с диагнозом ММ IIA ст. по Durie-Salmon, I ст. по ISS, I ст. по R-ISS. Диагноз был установлен в соответствии с критериями, разработанными Международной рабочей группой по изучению ММ (The International Myeloma Working Group — IMWG) [35]. На момент диагностики заболевания был выполнен первый молекулярно-генетический скрининг (FISH, определение экспрессии и мутационный статус генов). При проведении индукции ремиссии было выполнено пять курсов по программе PAD (бортезомиб + адриабластин + дексаметазон). После второго курса была достигнута частичная ремиссия (ЧР), а после пяти — очень хорошая частичная ремиссия (ОХЧР).

На фоне ОХЧР были выполнены мобилизация и сбор аутологичных стволовых клеток крови по схеме 4 г/м² и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор 5 мкг/кг. За две процедуры лейкофереза было заготовлено 13,0 × 10⁶/кг CD34⁺-клеток. В перерыве между сбором аутологичных стволовых клеток крови и выполнением трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) с целью сдерживания достигнутого противоопухолевого ответа проведено четыре бортезомиб-содержащих курса (VCD: бортезомиб + дексаметазон). По результатам обследования непосредственно перед ауто-ТГСК была констатирована полная строгая ремиссия заболевания (результаты иммунохимического исследования, данные костного мозга). Однако сохранялись остеодеструктивные очаги, замещенные содержимым жировой плотности. При обследовании на +100-й день после ауто-ТГСК была констатирована прогрессия заболевания (В-симптомы,

по данным иммунохимического исследования сыворотки крови и мочи помимо исходного парапротеина G-лямбда, впервые за весь период наблюдения была выявлена секреция парапротеина М-лямбда 5,3 г/л). Реиндукционные бортезомиб-содержащие курсы оказались неэффективными. Больной был переведен на вторую линию терапии иммуномодулирующими препаратами, на фоне которой удалось достичь лишь частичного противоопухолевого ответа. Спустя четыре месяца от момента констатации рецидива заболевания больной умер от тяжелых инфекционных осложнений.

Молекулярно-цитогенетическое исследование (FISH). При молекулярно-цитогенетическом исследовании (FISH) в дебюте заболевания был выявлен лишь гипердиплоидный тип ММ (трисомии 5, 9, 15) в 50 % ядер. При повторном цитогенетическом исследовании на фоне прогрессии заболевания сохранялся гипердиплоидный тип ММ, однако появилась *amp1q21* в 170 интерфазных ядрах из 200 исследованных, то есть в 85 % ядер. На рисунке 1 представлены результаты FISH-исследования мононуклеаров костного мозга в дебюте заболевания, а на рисунке 2 — результаты FISH *CD138*⁺-клеток костного мозга в рецидиве ММ.

Анализ экспрессии генов *c-MYC*, *MMSET*, *CCND1*, *CCND2*, *CKS1B*, *NOTCH2*, *IL-6*, *BCL2*, *TP53*, *MDM2*. Анализ экспрессии гена *c-MYC* показал, что в рецидиве заболевания в плазматических клетках костного мозга больного незначительно повысилось количество мРНК *c-MYC* (в 1,5 раза по сравнению с моментом диагностики заболевания). Экспрессия *c-MYC* на момент диагностики была в 4,4 раза выше, чем сред-

нее значение, полученное в результате измерений для 10 доноров.

Значительное увеличение уровня экспрессии при развитии рецидива заболевания было выявлено для гена *Notch2*. Экспрессия *Notch2* увеличилась в 3,2 раза, причем в дебюте заболевания она не превышала верхние показатели, полученные для доноров, но была выше усредненного значения. Наиболее заметное повышение экспрессии наблюдалось для гена *IL-6* в рецидиве заболевания, его экспрессия увеличилась в 29 раз по сравнению с дебютом заболевания. Уже до начала лечения значение экспрессии гена *IL-6* было выше в три раза, чем среднее значение у доноров. Высокий уровень экспрессии гена *MDM2* — репрессора *p53* — был зарегистрирован в дебюте и при рецидиве заболевания, причем при рецидиве его количество возросло в 2,5 раза. Во время диагностики ММ его уровень был выше верхних показателей у доноров в два раза. Повышенное значение экспрессии в рецидиве по сравнению с дебютом заболевания можно также отметить у генов *MMSET* и *CKS1B* (в 3,5 и 1,8 раза соответственно). Значительное снижение экспрессии во время прогрессии ММ было детектировано у генов *CCND1* и *CCND2*. Однако ее значения находятся в диапазоне колебаний уровня экспрессии у доноров, и, вероятно, эти изменения не несут функциональной нагрузки. Экспрессия гена *TP53* у больного не выходила за рамки значений, полученных для доноров (166 и 479 *ngc* соответственно) и существенно не изменилась в рецидиве по сравнению с дебютом заболевания.

Отмечено снижение на порядок при рецидиве экспрессии генов клональных иммуноглобулинов, ха-

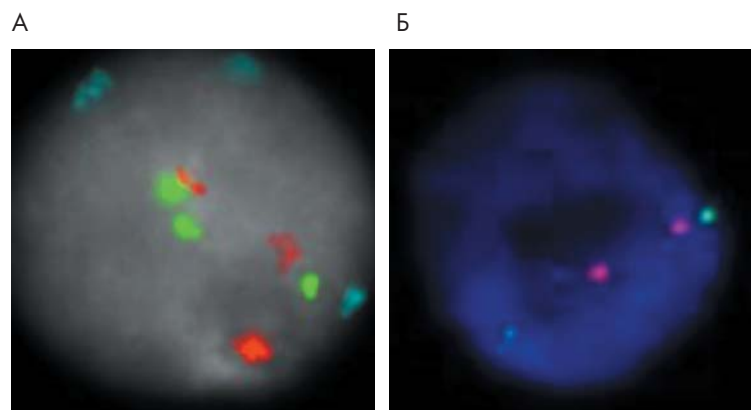


Рисунок 1. Результаты FISH-исследования мононуклеаров костного мозга в дебюте заболевания: А — гипердиплоидия (трисомии 5, 9, 15): три зеленых сигнала от локуса 5p12, три голубых сигнала от локуса 9q22/NR4A3 и три красных сигнала от локуса 15q22/SMAD6; Б — амплификация локуса 1q21 не выявлена: два зеленых сигнала от локуса 1p32/CDKN2C и два красных сигнала от локуса 1q21/CKS1B

Figure 1. Results of FISH-analysis mononuclear cells bone marrow at diagnosis: А — hyperdiploidy (trisomies 5, 9, 15): three green signals of 5p12 locus, three blue signals of 9q22/NR4A3 locus и three red signals of 15q22/SMAD6 locus; Б — Amplification of locus 1q21 was not found: two green signals of 1p32/CDKN2C locus and two red signals of 1q21/CKS1B locus

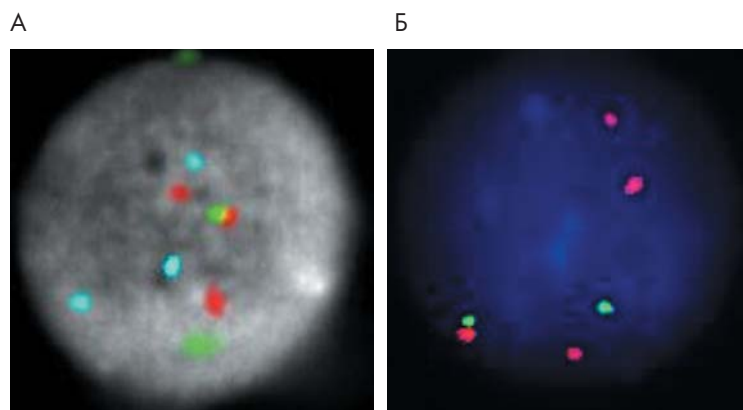


Рисунок 2. Результаты FISH-исследования *CD138*⁺-клеток костного мозга в рецидиве заболевания: А — гипердиплоидия (трисомии 5, 9, 15): три зеленых сигнала от локуса 5p12, три голубых сигнала от локуса 9q22/NR4A3 и три красных сигнала от локуса 15q22/SMAD6; Б — амплификация локуса 1q21: два зеленых сигнала от локуса 1p32/CDKN2C и четыре красных сигнала от локуса 1q21/CKS1B (два из них дополнительные)

Figure 2. Results of FISH-analysis *CD138*⁺ cells bone marrow at the time of relapse: А — hyperdiploidy (trisomies 5, 9, 15): three green signals of 5p12 locus, three blue signals of 9q22/NR4A3 locus и three red signals of 15q22/SMAD6 locus; Б — Amplification of locus 1q21: two green signals of 1p32/CDKN2C locus and four red signals of 1q21/CKS1B locus (two of them are additional)

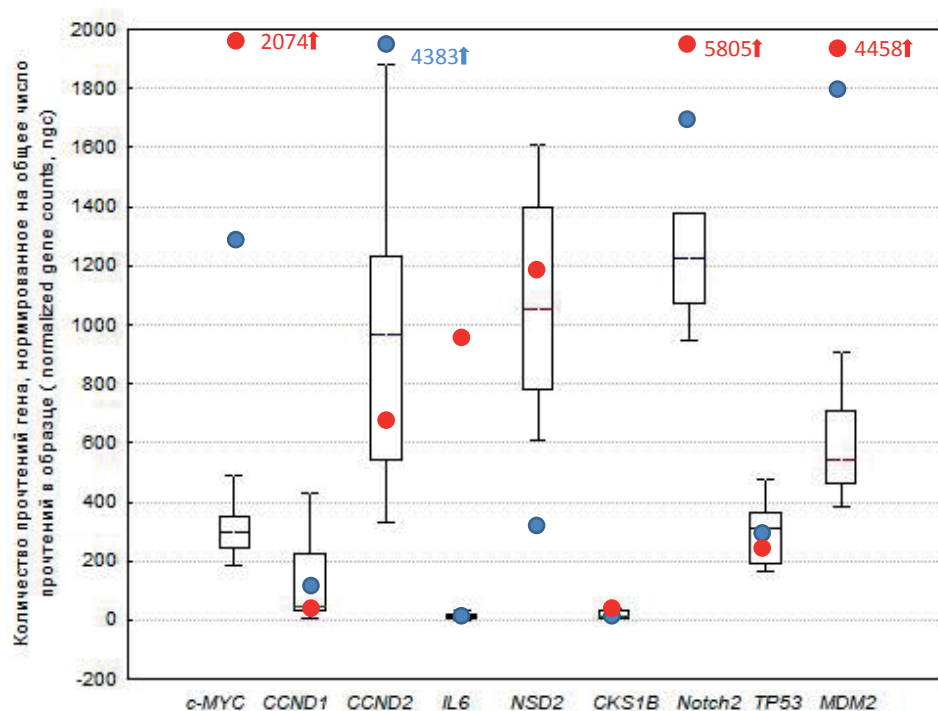


Рисунок 3. Изменение экспрессии генов в дебюте ММ и при констатации рецидива у больного в сравнении со значениями экспрессии этих генов у доноров. По оси абсцисс расположены гены, по оси ординат — значения их экспрессии, выраженной в количестве прочтений гена, нормированное на общее число прочтений (normalized gene counts, ngc). Уровень экспрессии генов проанализирован в дебюте (синие окружности) и рецидиве (красные окружности) заболевания. Диапазон значений экспрессии данных генов у здоровых людей представлен в виде прямоугольников с перцентилями. Перцентилями отображают разброс значений, где в верхнюю и в нижнюю перцентили попадает по 25 % крайних значений. Пересекающая прямоугольник линия — это медиана значений экспрессии для данного гена

Figure 3. Change in gene expression at the diagnosis of MM and at the time of relapse in comparison with the range expression of those genes in the group of donors. Axis X: genes, axis Y: gene expression values in normalized gene counts, ngc. Gene expression level (gene normalized counts) is analyzed at the diagnosis (blue circles) and at the time of relapse (red circles) of the patient with MM. Range of health people gene expression values are represented in the boxes with percentiles. The percentiles show the value below (lower percentiles) or above (upper percentiles) which 25 % of the observations may be found. The line which is crossing the box determines the median value of the expression of the gene

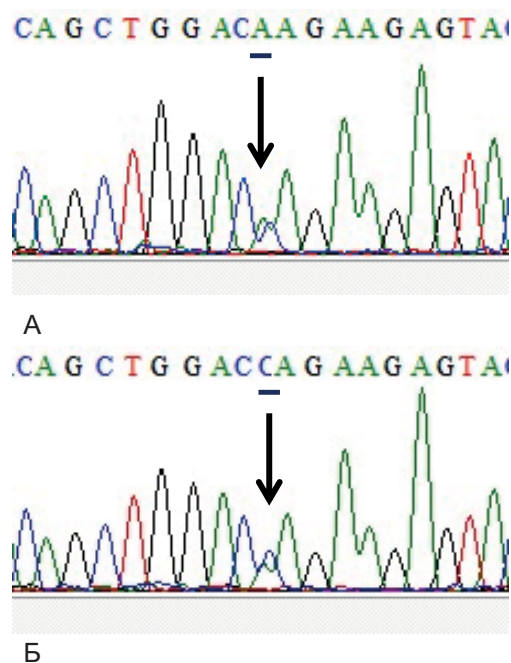


Рисунок 4. Активирующая мутация гена *N-RAS* в кодоне 61. Фрагменты электрофореграмм 3-го экзона гена *N-RAS*, содержащие миссенс-мутацию (замена аденина на цитозин в 61-м кодоне): А — дебют заболевания; Б — рецидив заболевания

Figure 4. Activating mutation of *N-RAS* gene in 61st codon. Fragment of the sequence electrophoregram of *N-RAS* gene 3rd exon containing missense mutation (replacement of adenine by cytosine in 61 codon): A — disease debut; Б — disease relapse

рактизирующих опухолевые клетки (*IGHV3-33/IGHG2, IGLV1-44/IGLC2*), что соответствует выявленному при иммунохимическом исследовании уменьшению моноклональной секреции парапротеина G-лямбда с 23,8 до 5,4 г/л. В то же время экспрессия неклональных иммуноглобулинов (в таблице 1 для примера приведены *IGHV3-23* и *IGHV2-5*) снизилась почти на два порядка, что свидетельствует о наличии у больного с рецидивом заболевания глубокого иммунодефицита. Полученные результаты анализа экспрессии генов представлены на рисунке 3 и в таблице 1.

Мутационный статус генов *N-RAS*, *K-RAS*, *BRAF* и *TP53*

Секвенирование экзонов 2, 3 и 4 генов *N-RAS* и *K-RAS* выявило у больного активирующую соматическую миссенс-мутацию с.182A>C в кодоне 61-го гена *N-RAS* (p.Q61P). В материале, взятом у больного во время рецидива, диагностированная ранее мутация в той же позиции сохранилась (рис. 4). Соотношение нормального и мутантного пиков на электрофореграмме, близкое к 1, свидетельствует о клональном характере данного нарушения.

При параллельном секвенировании ДНК и РНК гена *N-RAS* в клетках CD138⁺ опухоли в дебюте и рецидиве

заболевания, электрофореграммы практически не отличались друг от друга (соотношение нормально-го и мутантного пиков 1:1), что свидетельствует об отсутствии различий в экспрессии мутантного аллеля и аллеля «дикого типа».

Секвенирование экзона 15 гена *BRAF*, в котором обычно локализуются активирующие соматические мутации, в том числе наиболее распространенная p.V600E, показало отсутствие каких-либо отклонений от референсной последовательности как в первичном, так и в рецидивном материале.

Была проанализирована также первичная структура всех функционально важных областей гена *TP53* в материале опухоли как при диагностике ММ, так и при рецидиве заболевания. Соматических мутаций найдено не было. Выявлен только полиморфный вариант (p.P72R, rs1042522 в базе данных NCBI/SNP) в гетерозиготном состоянии, не имеющий функционального значения [36].

Обсуждение

В работе был сопоставлен молекулярно-генетический статус опухолевых клеток у больного ММ в дебюте и при рецидиве заболевания. Исходно противоопухолевый ответ на индукционную терапию бортезомиб-содержащими курсами расценивался как полная иммунохимическая ремиссия, однако при рецидиве заболевания была констатирована резистентность к терапии бортезомибом. Рецидив заболевания сопровождался не только сохранением прежнего клонального парапротеина IgG-λ, но и появлением не выявлявшегося ранее парапротеина IgM-λ. Иммунохимический рецидив характеризовался появлением симптомокомплекса CRAB: включающего гиперкальциемию (Calcium), почечную недостаточность (Renal failure), анемию (Anemia) и остеолитическое поражение костей (Bone lesions). Больной умер в результате инфекционных осложнений через четыре месяца от момента диагностики прогрессии заболевания.

При молекулярно-цитогенетическом исследовании в дебюте и при рецидиве заболевания была выявлена трисомия хромосом 5, 9 и 15. Гипердиплоидия при ММ ассоциируется с благоприятным прогнозом и лучшей выживаемостью больных [37].

На фоне прогрессии ММ у больного возникла новая цитогенетическая абберация — амплификация локуса хромосомы 1 (amp1q21). Анализ экспрессии гена *CKS1B*, расположенного в этом локусе, показал ее возрастание при рецидиве примерно в два раза по сравнению с дебютом заболевания, что согласуется с увеличением его копиюности. Данная хромосомная аномалия считается фактором плохого прогноза. Отчасти это может быть связано с увеличением числа копий гена *CKS1B* и усилением его экспрессии, которое может влиять на общую и без-

рецидивную выживаемость, а также резистентность к бортезомиб-содержащим курсам [38]. Показано [39] также, что amp1q21 значительно реже встречается при МГНГ, чем при ММ, и может способствовать прогрессии заболевания, однако авторы этой работы пришли к выводу о том, что уровень экспрессии гена *CKS1B* на этот процесс не влияет, и он обусловлен, скорее всего, генетической нестабильностью длинного плеча хромосомы 1 как таковой.

Анализ транскриптомных данных показал, что при рецидиве в сравнении с дебютом заболевания повышена экспрессия генов *c-MYC*, *Notch2*, *MDM2* и *IL-6*. Однако, если экспрессия первых трех генов повысилась всего в 1,5–3 раза, количество транскрипта гена *IL-6* возросло почти в 30 раз. Не исключено, что именно резкое усиление экспрессии этого цитокина послужило пусковым механизмом прогрессии ММ у больного, поскольку *IL-6* стимулирует клеточную пролиферацию, активируя различные сигнальные пути (MAPK, JAK-STAT, PI3K) [1, 40].

При рецидиве внутри каждого из этих путей наблюдалось повышение экспрессии по крайней мере одного гена регуляторного белка (*RAFI*, *STAT4* и *mTOR* соответственно). В свою очередь, индукция *IL-6* может, по крайней мере отчасти, объясняться усилением экспрессии гена *Notch2* (в 3,3 раза по сравнению с дебютом заболевания). *Notch2* активирует экспрессию *IL-6* в клетках костномозговых ниш (клетках стромы) и плазматических клетках костного мозга. Показано, что *IL6* является одним из ключевых факторов, влияющих на жизнеспособность и неконтролируемое деление миеломных клеток [30].

Экспрессия гена транскрипционного фактора *c-MYC* повысилась при рецидиве заболевания незначительно, всего в 1,5 раза, однако, как и в дебюте заболевания, была на существенно более высоком уровне, чем у доноров. Механизм повышенной экспрессии в данном случае остается не ясен, так как при FISH-исследовании ни транслокации с вовлечением локуса гена *c-MYC*, ни трисомия 8 не были выявлены. Возможно, имеет место эпигенетическая регуляция гена *c-MYC*. Клетки, конститутивно экспрессирующие высокий уровень *c-MYC*, обладают пониженной зависимостью от ростовых факторов и большей скоростью пролиферации. Таким образом, повышенный уровень *c-MYC* также мог быть одним из факторов, спровоцировавших прогрессию ММ.

Экспрессия гена *TP53* при рецидиве существенно не изменилась, оставаясь в пределах диапазона значений экспрессии гена *TP53* у доноров (табл. 1), и никаких мутаций в нем выявлено не было. При этом экспрессия гена белка mdm2, являющегося ингибитором *TP53*, увеличилась в 2,5 раза, что вполне могло повлечь за собой ослабление функции *TP53* при прогрессии заболевания.

Резкое снижение экспрессии всех генов иммуноглобулинов, в том числе и клональных, соответствующих парапротеину G-лямбда, свидетельствовало о наличии глубокого иммунодефицита при прогрессии ММ.

В дебюте заболевания больной не относился к группе высокого риска по клиническим и цитогенетическим данным, однако у него была выявлена клональная гетерозиготная мутация p.Q61P в гене *N-RAS*, благодаря которой происходит неконтролируемая активация сигнального пути МАРК, ведущая к повышению пролиферативного потенциала опухолевых клеток. После проведения курсов терапии при рецидиве заболевания мутация сохранилась в клональном состоянии. Влияние активирующих мутаций в генах семейства *RAS* на патогенез ММ исследуется давно и достаточно активно, однако результаты опубликованных работ приводят к противоречивым выводам об их значимости. В исследовании, посвященном изучению дифференциальной экспрессии мутантного и нормального аллелей

[11], было показано, что мутантный аллель экспрессируется слабее аллеля «дикого типа». У наблюдавшегося больного нормальная и мутантная копии гена *N-RAS* в дебюте и рецидиве ММ экспрессировались с одинаковой эффективностью. Оба варианта белка могли играть существенную роль в активации сигнального МАРК-пути при прогрессии заболевания: мутантный белок — за счет потери контроля над ним со стороны цитокинов, нормальный белок — вследствие стимуляции гиперэкспрессией *IL-6*.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что при ММ целесообразно выполнять комплексную молекулярную диагностику, включающую развернутое цитогенетическое исследование, анализ экспрессии и мутационный анализ широкого спектра генов регуляторных белков, так как единичная хромосомная или генная аномалия вряд ли может сама по себе служить определяющим фактором прогноза развития заболевания и его резистентности к применяемой терапии.

Литература

1. Prideaux S.M., Conway O'Brien E., Chevassut T.J. The genetic architecture of multiple myeloma. *Adv. Hematol.* 2014; 864058. DOI: 10.1155/2014/864058
2. Fonseca R., Barlogie B., Bataille R. et al. Genetics and cytogenetics of multiple myeloma: A workshop report. *Cancer Res.* 2004; 64: 1546–58.
3. Maura F., Degasperi A., Nadeu F. et al. A practical guide for mutational signature analysis in hematological malignancies. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 2969. DOI: 10.1038/s41467-019-11037-8
4. Bolli N., Biancon G., Moarii M. et al. Analysis of the genomic landscape of multiple myeloma highlights novel prognostic markers and disease subgroups. *Leukemia.* 2018; 32(12): 2604–16. DOI: 10.1038/s41375-018-0037-9
5. Bolli N., Avet-Loiseau H., Wedge D.C. et al. Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. *Nat Commun.* 2014; 5: 2997. DOI: 10.1038/ncomms3997
6. Szalat R., Avet-Loiseau H., Munshi N.C. Gene Expression Profiles in Myeloma: Ready for the Real World? *Clin Cancer Res.* 2016; 22(22): 5434–42. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0867
7. Chng W.J., Gonzalez-Paz N., Price-Troska T. et al. Clinical and biological significance of RAS mutations in multiple myeloma. *Leukemia.* 2008; 22: 2280–4. DOI: 10.1038/leu.2008.142
8. Pylayeva-Gupta Y., Grabocka E., Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer.* 2011; 11: 761–74.
9. Rasmussen T., Kuehl M., Lodahl M. et al. Possible roles for activating RAS mutations in the MGUS to MM transition and in the intramedullary to extramedullary transition in some plasma cell tumors. *Blood.* 2005; 105(1): 317–23.
10. Kim S.J., Shin H.T., Lee H.O. et al. Recurrent mutations of MAPK pathway genes in multiple myeloma but not in amyloid light-chain amyloidosis. *Oncotarget.* 2016; 7(42): 68350–9. DOI: 10.18632/oncotarget.12029
11. Rashid N.U., Sperling A.S., Bolli N. et al. Differential and limited expression of mutant alleles in multiple myeloma. *Blood.* 2014; 124: 3110–7.
12. Hu Y., Chen E., Wang J. Progress in the identification of gene mutations involved in multiple myeloma. *Onco Targets Ther.* 2019; 12: 4075–80. DOI: 10.2147/OTT.S205922
13. Andrulis M., Lehnert N., Capper D. et al. Targeting the BRAF V600E mutation in multiple myeloma. *Cancer Discov.* 2013; 3: 862–9. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0014

References

1. Prideaux S.M., Conway O'Brien E., Chevassut T.J. The genetic architecture of multiple myeloma. *Adv. Hematol.* 2014; 864058. DOI: 10.1155/2014/864058
2. Fonseca R., Barlogie B., Bataille R. et al. Genetics and cytogenetics of multiple myeloma: A workshop report. *Cancer Res.* 2004; 64: 1546–58.
3. Maura F., Degasperi A., Nadeu F. et al. A practical guide for mutational signature analysis in hematological malignancies. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 2969. DOI: 10.1038/s41467-019-11037-8
4. Bolli N., Biancon G., Moarii M. et al. Analysis of the genomic landscape of multiple myeloma highlights novel prognostic markers and disease subgroups. *Leukemia.* 2018; 32(12): 2604–16. DOI: 10.1038/s41375-018-0037-9
5. Bolli N., Avet-Loiseau H., Wedge D.C. et al. Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. *Nat Commun.* 2014; 5: 2997. DOI: 10.1038/ncomms3997
6. Szalat R., Avet-Loiseau H., Munshi N.C. Gene Expression Profiles in Myeloma: Ready for the Real World? *Clin Cancer Res.* 2016; 22(22): 5434–42. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0867
7. Chng W.J., Gonzalez-Paz N., Price-Troska T. et al. Clinical and biological significance of RAS mutations in multiple myeloma. *Leukemia.* 2008; 22: 2280–4. DOI: 10.1038/leu.2008.142
8. Pylayeva-Gupta Y., Grabocka E., Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer.* 2011; 11: 761–74.
9. Rasmussen T., Kuehl M., Lodahl M. et al. Possible roles for activating RAS mutations in the MGUS to MM transition and in the intramedullary to extramedullary transition in some plasma cell tumors. *Blood.* 2005; 105(1): 317–23.
10. Kim S.J., Shin H.T., Lee H.O. et al. Recurrent mutations of MAPK pathway genes in multiple myeloma but not in amyloid light-chain amyloidosis. *Oncotarget.* 2016; 7(42): 68350–9. DOI: 10.18632/oncotarget.12029
11. Rashid N.U., Sperling A.S., Bolli N. et al. Differential and limited expression of mutant alleles in multiple myeloma. *Blood.* 2014; 124: 3110–7.
12. Hu Y., Chen E., Wang J. Progress in the identification of gene mutations involved in multiple myeloma. *Onco Targets Ther.* 2019; 12: 4075–80. DOI: 10.2147/OTT.S205922
13. Andrulis M., Lehnert N., Capper D. et al. Targeting the BRAF V600E mutation in multiple myeloma. *Cancer Discov.* 2013; 3: 862–9. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0014

14. Levine A.J. p53, the Cellular Gatekeeper for Growth and Division. *Cell*. 1997; 88: 323–31.
15. Salmon S.E., Dalton W.S., Grogan T.M. et al. Multidrug-resistant myeloma: laboratory and clinical effects of verapamil as a chemosensitizer. *Blood*. 1991; 78: 44–50.
16. Brooks T.A., Hurley L.H. Targeting MYC Expression through G-Quadruplexes. *Genes Cancer*. 2010; 1(6): 641–9.
17. Dang C.V. MYC on the path to cancer. *Cell*. 2012; 149(1): 22–35. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.003
18. Gao P., Tchernyshyov I., Chang T.C. et al. c-myc suppression of miR-23a/b enhances mitochondrial glutaminase expression and glutamine metabolism. *Nature*. 2009; 458(7239): 762–5. DOI: 10.1038/nature07823
19. Kuzyk A., Mai S. c-MYC-induced genomic instability. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014; 4(4): a014373. DOI: 10.1101/cshperspect.a014373
20. Karlsson A., Giuriato S., Tang F. et al. Genomically complex lymphomas undergo sustained tumor regression upon MYC inactivation unless they acquire novel chromosomal translocations. *Blood*. 2003; 101(7): 2797–803.
21. Mirabella F., Wu P., Wardell C.P. et al. MMSET is the key molecular target in t(4;14) myeloma. *Blood Cancer J*. 2013; 3(5): 114. DOI: 10.1038/bcj.2013.9
22. Chesi M., Bergsagel P.L. Molecular pathogenesis of multiple myeloma: basic and clinical updates. *Int J Hematol*. 2013; 97(3): 313–23. DOI: 10.1007/s12185-013-1291-2
23. Zhan F., Colla S., Wu X. et al. CKS1B, overexpressed in aggressive disease, regulates multiple myeloma growth and survival through SKP2- and p27Kip1-dependent and -independent mechanisms. *Blood*. 2007; 109(11): 4995–5001.
24. Smol T., Dufour A., Tricot S. et al. Combination of t(4;14), del(17p13), del(1p32) and 1q21 gain FISH probes identifies clonal heterogeneity and enhances the detection of adverse cytogenetic profiles in 233 newly diagnosed multiple myeloma. *Mol Cytogenet*. 2017; 10: 26. DOI: 10.1186/s13039-017-0327-3
25. Lobry C., Oh P., Mansour M.R. et al. Notch signaling: switching an oncogene to a tumor suppressor. *Blood*. 2014; 123(16): 2451–9. DOI: 10.1182/blood-2013-08-355818
26. Colombo M., Mirandola L., Platonova N. et al. Notch-directed microenvironment reprogramming in myeloma: a single path to multiple outcomes. *Leukemia*. 2013; 27(5): 1009–18. DOI: 10.1038/leu.2013.6
27. Colombo M., Galletti S., Bulfamante G. et al. Multiple myeloma-derived Jagged ligands increases autocrine and paracrine interleukin-6 expression in bone marrow niche. *Oncotarget*. 2016; 7(35): 56013–29. DOI: 10.18632/oncotarget.10820
28. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood*. 1989; 74: 1–10.
29. Frassanito M.A., Cusmai A., Iodice G., Dammacco F. Autocrine interleukin-6 production and highly malignant multiple myeloma: relation with resistance to drug-induced apoptosis. *Blood*. 2001; 97(2): 483–9.
30. Gadó K., Domján G., Hegyesi H., Falus A. Role of interleukin-6 in the pathogenesis of multiple myeloma. *Cell Biol Int*. 2000; 24(4): 195–209.
31. Herrero A.B., Rojas E.A., Misiewicz-Krzeminska I. et al. Molecular Mechanisms of p53 Deregulation in Cancer: An Overview in Multiple Myeloma. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(12): 2003. DOI: 10.3390/ijms17122003
32. Simons A., Shaffer L.G., Hastings R.J. Cytogenetic Nomenclature: Changes in the ISCN 2013 Compared to the 2009 Edition. *Cytogenet. Genome Res* 2013; 141: 1–6. DOI: 10.1159/000353118
33. Dobin A., Davis C.A., Schlesinger F. et al. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*. 2013; 29(1): 15–21. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts635
34. Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol*. 2014; 15(12): 550.

35. Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Palumbo A. et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014; 15(12): 538–48. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5
36. Kodal J., Vedel-Krogh S., Kobylecki C. et al. TP53 Arg72Pro, mortality after cancer, and all-cause mortality in 105,200 individuals. *Sci Rep.* 2017; 7: 336. DOI: 10.1038/s41598-017-00427-x
37. Smadja N.V., Bastard C., Brigaudeau C. et al. Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood.* 2001; 98(7): 2229–38.
38. Chen M.H., Qi C., Reece D., Chang H. Cyclin kinase subunit 1B nuclear expression predicts an adverse outcome for patients with relapsed/refractory multiple myeloma treated with bortezomib. *Hum Pathol.* 2012; 43(6): 858–64. DOI: 10.1016/j.humpath.2011.07.013
39. Stella F., Pedrazzini E., Baialardo E. et al. Quantitative analysis of CKS1B mRNA expression and copy number gain in patients with plasma cell disorders. *Blood Cells Mol Dis.* 2014; 53(3): 110–7. DOI: 10.1016/j.bcmd.2014.05.006
40. Chauhan D., Uchiyama H., Akbarali Y. et al. Multiple myeloma cell adhesion-induced interleukin-6 expression in bone marrow stromal cells involves activation of NF-kappa B. *Blood.* 1996; 87(3): 1104–12.

Информация об авторах

Сергеева Анна Михайловна*, научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: curleww@gmail.com, тел.: +7 (495) 612-09-37; 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-4902>

Абрамова Татьяна Валерьевна, кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории кариологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: abramova.blood@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3163-4930>

Довыденко Мария Вячеславовна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: nareyko@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6082-0110>

Сурин Вадим Леонидович, старший научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: vadsurin@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Обухова Татьяна Никифоровна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией кариологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: obukhova_t@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

35. Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Palumbo A. et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014; 15(12): 538–48. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5
36. Kodal J., Vedel-Krogh S., Kobylecki C. et al. TP53 Arg72Pro, mortality after cancer, and all-cause mortality in 105,200 individuals. *Sci Rep.* 2017; 7: 336. DOI: 10.1038/s41598-017-00427-x
37. Smadja N.V., Bastard C., Brigaudeau C. et al. Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood.* 2001; 98(7): 2229–38.
38. Chen M.H., Qi C., Reece D., Chang H. Cyclin kinase subunit 1B nuclear expression predicts an adverse outcome for patients with relapsed/refractory multiple myeloma treated with bortezomib. *Hum Pathol.* 2012; 43(6): 858–64. DOI: 10.1016/j.humpath.2011.07.013
39. Stella F., Pedrazzini E., Baialardo E. et al. Quantitative analysis of CKS1B mRNA expression and copy number gain in patients with plasma cell disorders. *Blood Cells Mol Dis.* 2014; 53(3): 110–7. DOI: 10.1016/j.bcmd.2014.05.006
40. Chauhan D., Uchiyama H., Akbarali Y. et al. Multiple myeloma cell adhesion-induced interleukin-6 expression in bone marrow stromal cells involves activation of NF-kappa B. *Blood.* 1996; 87(3): 1104–12.

Information about the authors

Anna M. Sergeeva*, Researcher, Laboratory of Genetic Engineering, National Research Center for Hematology, e-mail: curleww@gmail.com, tel.: +7 (495) 612-09-37; 125167, Moscow, Novyy Zыkovskiy proezd, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-4902>

Tatyana V. Abramova, Cand. Sci. (Med.), Pathologist, Laboratory of Karyology, National Research Center for Hematology, e-mail: abramova.blood@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3163-4930>

Mariya V. Dovydenko, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Department of Intensive High-dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology, e-mail: nareyko@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6082-0110>

Vadim L. Surin, Senior Researcher, Laboratory of Genetic Engineering National Research Centre for Hematology, e-mail: vadsurin@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Tatyana N. Obukhova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Karyology Laboratory, National Research Centre for Hematology, e-mail: obukhova_t@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

Сунцова Мария Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории геномного анализа сигнальных систем клетки ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук,
e-mail: suntsova@oncobox.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Буздин Антон Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией клинической и геномной биоинформатики ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет),
e-mail: buzdin@oncobox.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9866-3424>

Менделеева Лариса Павловна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением высокодозной химиотерапии парпротеинемических гемобластозов ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: Mendeleeva.L@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4966-8146>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 19.03.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Mariya V. Suntsova, Junior Researcher, Laboratory for the Genomic Analysis of Cell Signaling Systems, Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS,
e-mail: suntsova@oncobox.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Anton A. Buzdin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Laboratory for Clinical and Genomic Bioinformatics, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
e-mail: buzdin@oncobox.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9866-3424>

Larisa P. Mendeleeva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of High-dose Chemotherapy for Paraproteinemic Hemoblastoses, National Research Center for Hematology,
e-mail: Mendeleeva.L@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4966-8146>

*** Corresponding author**

Received 19 Mar 2019

Accepted 12 Sep 2019



НАЦИОНАЛЬНОЕ
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО



V Конгресс
Гематологов
России

V КОНГРЕСС ГЕМАТОЛОГОВ РОССИИ

16–18 АПРЕЛЯ 2020 ГОДА, МОСКВА

Глубокоуважаемые коллеги!

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ ИМЕНИ ДМИТРИЯ РОГАЧЕВА» МИНЗДРАВА РОССИИ
НАЦИОНАЛЬНОЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО
НАЦИОНАЛЬНОЕ ОБЩЕСТВО ДЕТСКИХ ГЕМАТОЛОГОВ И ОНКОЛОГОВ
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО ОНКОГЕМАТОЛОГОВ

**ПРОВОДЯТ 16–18 АПРЕЛЯ 2020 ГОДА В МОСКВЕ
V КОНГРЕСС ГЕМАТОЛОГОВ РОССИИ**

**Место проведения: Конгресс-Парк гостиницы
«Украина», г. Москва, Кутузовский пр., 2/1, стр. 1
Вся информация по Конгрессу будет размещена
на сайте Национального гематологического
общества (НГО) <https://npngo.ru>**

**На сайте НГО открыта регистрация
и подача тезисов на
V Конгресс гематологов России!**

Регистрация on-line открыта до

01.04.2020

Прием тезисов on-line открыт до

30.11.2019

Все зарегистрировавшиеся участники
будут обеспечены материалами
Конгресса. Участие в Конгрессе не
предусматривает регистрационных
взносов.

Программа секционных заседаний,
а также постерная сессия будут
формироваться на основе отбора лучших
тезисов экспертным советом Конгресса.

