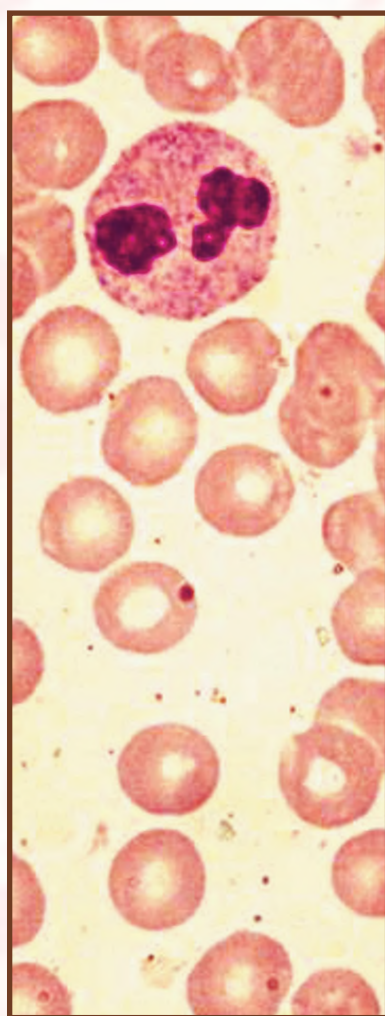


ISSN (Print) 0234-5730
ISSN (Online) 2411-3042

ГЕМАТОЛОГИЯ и ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

Hematology and Transfusiology



4' 2017

Издательство "МЕДИЦИНА"

Volume 62 • № 4 • 2017

ISSN 0234-5730



9 770234 573007

ГЕМАТОЛОГИЯ и ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

4' 2017

КВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В ЯНВАРЕ 1956 ГОДА

ОКТАБРЬ—ДЕКАБРЬ ТОМ 62

Учредитель журнала ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

ПОЧТОВЫЙ АДРЕС РЕДАКЦИИ:

115088, Москва,
ул. Новоостاپовская, д. 5, стр. 14
ОАО «Издательство "Медицина"»

ТЕЛЕФОН РЕДАКЦИИ:

+7 495 150 07 47

E-mail: RBelGT@yandex.ru

Зав. редакцией **М. Ю. Белоусова**

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел./факс +7 495 150 07 47, доб 101

Ответственность за достоверность
информации, содержащейся в реклам-
ных материалах, несут рекламодатели

Редактор **Л. И. Федяева**

Корректор **В. С. Смирнова**

Графика и верстка
С. М. Мешкорудникова

Сдано в набор 20.10.17.
Подписано в печать 20.11.17.
Формат 60 x 88 1/8.
Печать офсетная.
Печ. л. 7,00.
Усл. печ. л. 6,86.
Уч.-изд. л. 7,35.
Заказ 723.

E-mail: oao-meditsina@mail.ru

WWW страница: www.medlit.ru

ЛР № 010215 от 29.04.97 г.

Журнал зарегистрирован
в Роскомнадзоре РФ.
Свидетельство о регистрации
ПИ № ФС 77-36821 от 14 июля 2009 г.
Отпечатано в типографии
ООО "Подольская Периодика",
142110, г. Подольск, ул. Кирова, 15

Каталог АО "Роспечать": Индекс 71426

Объединенный каталог "Пресса России":
Индекс 41284

Подписка через интернет:
www.akc.ru, www.pressa-rf.ru

Подписка на электронную версию
журнала: elibrary.ru

ISSN 0234-5730 (Print).
ISSN 2411-3042 (Online).
Гематология и трансфузиология. 2017.
Т. 62. № 4, 169–232.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор журнала

ВОРОБЬЕВ Андрей Иванович, академик РАН,
доктор мед. наук, профессор

Заместитель главного редактора

ГОРОДЕЦКИЙ Владимир Матвеевич, член-корр. РАН,
доктор мед. наук, профессор

Ответственный секретарь (трансфузиология), научный редактор

ГАЛСТЯН Геннадий Мартинович, доктор мед. наук

Ответственный секретарь (гематология)

ТРОИЦКАЯ Вера Витальевна, кандидат мед. наук

ЧЛЕНЫ РЕДКОЛЛЕГИИ:

Бирюкова Людмила Семеновна, доктор мед. наук
Васильев Сергей Александрович, доктор мед. наук, профессор
Воробьев Иван Андреевич, член-корр. РАН, доктор биол.
наук, профессор
Голенков Анатолий Константинович, доктор мед. наук,
профессор
Головкина Лариса Леонидовна, доктор мед. наук
Домрачева Елена Васильевна, доктор мед. наук, профессор
Донсков Сергей Иванович, доктор мед. наук, профессор
Козинец Геннадий Иванович, доктор мед. наук, профессор
Мамонов Василий Евгеньевич, кандидат мед. наук
Масчан Алексей Александрович, доктор мед. наук, профессор
Османов Евгений Александрович, доктор мед. наук, профессор
Паровичникова Елена Николаевна, доктор мед. наук
Рагимов Гейдар Алекперович, доктор мед. наук, профессор
Савченко Валерий Григорьевич, академик РАН, доктор мед.
наук, профессор
Судариков Андрей Борисович, доктор биол. наук
Тупицын Николай Николаевич, доктор мед. наук, профессор
Франк Георгий Авраамович, член-корр. РАН, доктор мед. наук,
профессор
Хватов Валерий Борисович, доктор мед. наук, профессор
Хорошко Нина Дмитриевна, доктор мед. наук, профессор
Чернов Вениамин Михайлович, доктор мед. наук, профессор

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Афанасьев Борис Владимирович (Санкт-Петербург, Россия), Берковский
Арон Ленидович (Москва, Россия), Дризе Нина Иосифовна (Москва,
Россия), Карякин Александр Вадимович (Москва, Россия), Калинин Николай
Николаевич (Москва, Россия), Ковалева Лидия Григорьевна (Москва,
Россия), Криволапов Юрий Александрович (Санкт-Петербург, Россия),
Лукина Елена Алексеевна (Москва, Россия), Менделеева Лариса Павловна
(Москва, Россия), Мисюрин Андрей Витальевич (Москва, Россия), Никитин
Иван Куприянович (Москва, Россия), Поспелова Татьяна Ивановна
(Новосибирск, Россия), Рукавицын Олег Анатольевич (Москва, Россия),
Сахибов Яшен Даминович (Москва, Россия)

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

Бахрамов Саиджалол Махмудович (Ташкент, Республика Узбекистан), Новак
Василий Леонидович (Львов, Украина), Перехрестенко Петр Михайлович
(Киев, Украина)

ОАО «Издательство "Медицина"» – соучредитель Ассоциации научных редакторов и изда-
телей (АНРИ). Журналы Издательства «Медицина» придерживаются рекомендаций АНРИ.

О А О « И З Д А Т Е Л Ь С Т В О " М Е Д И Ц И Н А " »



GEMATOLOGIYA i TRANSFUZIOLOGIYA

4' 2017

FREQUENCY 4 ISSUES PER YEAR

RUSSIAN JOURNAL OF HEMATOLOGY AND TRANSFUSIOLOGY

FOUNDED IN 1956

OCTOBER—DECEMBER VOL. 62

Founder of the Journal Hematology Research Center, Moscow, Russia

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief Vorobiev Andrey I., academician of Russian Academy of Sciences, MD, PhD, DSc, professor

Deputy Editor

Gorodetsky Vladimir M., corresponding member of Russian Academy of Sciences, MD, PhD, DSc, professor

Executive Editor of Transfusiology

Scientific Editor

Galstyan Gennady M., MD, PhD, DSc

Executive Editor of Haematology

Troitskaya Vera V., MD, PhD

Editorial Board:

Biryukova Ludmila S., MD, PhD, DSc; Vasiliev Sergey A., MD, PhD, DSc, prof.; Vorobiev Ivan A., corresponding member of Russian Academy of Natural Sciences, BD, PhD, DSc, prof.; Golonkov Anatoliy K., MD, PhD, DSc, prof.; Golovkina Larisa L., MD, PhD, DSc; Domracheva Elena V., MD, PhD, DSc, prof.; Donskov Sergey I., MD, PhD, DSc, prof.; Kozinets Gennady I., MD, PhD, DSc, prof.; Mamonov Basil E., MD, PhD; Maschan Alexey A., MD, PhD, DSc, prof.; Osmanov Eugeniy A., MD, PhD, DSc, prof.; Parovichnikova Elena N., MD, PhD, DSc; Rahimov Heydar A., MD, PhD, DSc, prof.; Savchenko Valeriy G., academician Russian Academy of Sciences, MD, PhD, DSc, prof.; Sudarikov Andrey B., BD, PhD, DSc; Tupitsin Nikolay N., MD, PhD, DSc, prof.; Frank George A., corresponding member of Russian Academy of Medical Sciences, MD, PhD, DSc, prof.; Hvatov Valeriy B., MD, PhD, DSc, prof.; Khoroshko Nina D., MD, PhD, DSc, prof.; Chernov Benyamin M., MD, PhD, DSc, prof.

Advisory Board

Afanasyev Boris V. (St. Petersburg, Russia), Berkovskiy Aron L. (Moscow, Russia), Drize Nina I. (Moscow, Russia), Karyakin Alexander V. (Moscow, Russia), Kalinin Nikolay N. (Moscow, Russia), Kovaleva Lydia G. (Moscow, Russia), Krivolapov Yuri A. (Saint-Petersburg, Russia), Lukina Elena A. (Moscow, Russia), Mendeleeva Larisa P. (Moscow, Russian), Misyurin Andrey V. (Moscow, Russia), Nikitin Ivan K. (Moscow, Russia), Pospelova Tatiana I. (Novosibirsk, Russia), Rukavitsyn Oleg A. (Moscow, Russia), Sakhilov Yashen D. (Moscow, Russia)

International Advisory Board

Bakhramov Saidzhalol M. (Tashkent, Uzbekistan), Novak Vasily L. (Lviv, Ukraine), Perehrestenko Peter M. (Kiev, Ukraine)

"Izdatel'stvo «Meditsina»" – co-founder of the Association of Science Editors and Publishers (ASEP). Journals published by "Izdatel'stvo «Meditsina»" adhere to the recommendations of the ASEP.

The scientific and practical peer-reviewed medical journal is addressed to hematologists, researchers, transfusiologists, blood transfusion officers, laboratory doctors, general practitioners, surgeons, pediatricians, anesthesiologists, intensive care specialists, experts in physiology, pathophysiology, pathology, allied healthcare disciplines, and other specialists interested in blood disorders and blood transfusion.

© Meditsina Publishers, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Гаврилина О.А., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Кузьмина Л.А., Бондаренко С.Н., Соколов А.Н., Лапин В.А., Зарубина К.И., Басхаева Г.А., Лукьянова И.А., Клясова Г.А., Судариков А.Б., Обухова Т.Н., Савченко В.Г. Результаты ретроспективного многоцентрового исследования терапии больных Ph-позитивным острым лимфобластным лейкозом по протоколам российской исследовательской группы 172-180
- Бабенецкая Д.В., Моторин Д.В., Петров А.В., Алексеева Ю.А., Зарицкий А.Ю. Мобилизация гемопоэтических стволовых клеток препаратами циклофосфамид и цитарабин в сочетании с колониестимулирующим фактором у больных множественной миеломой, кандидатов для проведения трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток 180-187
- Охмат В.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н., Двирник В.Н., Кузьмина Л.А., Кравченко С.К., Савченко В.Г. Применение микафунгина – препарата из класса эхинокандинов у больных опухолями системы крови 188-196
- Азимова М. Х., Гапонова Т.В., Галстян Г.М., Гальцева И.В., Давыдова Ю.О., Капранов Н.М., Савченко В.Г. Изменения маркеров активации донорских тромбоцитов при хранении после проведения инактивации патогенов с помощью технологии амотосален и ультрафиолетовое облучение спектра А 196-203
- Спирин М.В., Галстян Г.М., Полеводова О.А., Кудлай Д.А., Полянская Т.Ю., Зозуля Н.И., Лихачева Е.А., Троицкая В.В. Периферически имплантируемые центральные венозные катетеры для обеспечения длительного сосудистого доступа у больных с геморрагическим синдромом 203-210
- Лобанова Т.И., Паровичникова Е.Н., Тихомиров Д.С., Гаранжа Т.А., Троицкая В.В., Михайлова Е.А., Фидарова З.Т., Савченко В.Г. Вирус герпеса человека 6-го типа у больных с заболеваниями системы крови на фоне программной химиотерапии и после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток 211-217

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

- Рахмани А.Ф., Михайлова Е.А., Дубинкин И.В. Тактика трансфузионной терапии концентратами тромбоцитов у больных с депрессиями кроветворения 218-222
- Матосова Е.В., Андрияков Б.Г. Морфофункциональная характеристика защитных механизмов нейтрофилов при бактериальных инфекциях и их вклад в патогенез провоспалительных реакций 223-229

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

- Меликян А.Л., Суборцева И.Н., Гилязитдинова Е.А., Ковригина А.М., Судариков А.Б., Абдуллаев А.О. Терапия истинной полицитемии руксолитинибом 229-232

CONTENTS

ORIGINAL PAPERS

- Gavrilina O.A., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Kuzmina L.A., Bondarenko S.N., Sokolov A.N., Lapin V.A., Zarubina K.I., Baskhaeva G.A., Lukyanova I.A., Klyasova G.A., Sudarikov A.B., Obukhova T.N., Savchenko V.G. The results of the retrospective multicentre study of the therapy of Ph-positive acute lymphoblastic leukemia according to the protocols of the Russian Research Group
- Babenetskaya D.V., Motorin D.V., Petrov A.V., Alekseeva Yu. A., Zaritskey A. Yu. Mobilization of hematopoietic stem cells with cyclophosphamide or cytarabine in combination with granulocyte colony-stimulating factor in patients with multiple myeloma, who are candidates for autologous stem cell transplantation
- Okhmat V.A., Klyasova G.A., Parovichnikova E.N., Dvirnik V.N., Kuzmina L.A., Kravchenko S.K., Savchenko V.G. The use of micafungin in patients with hematological malignancies
- Azimova M.Kh., Gaponova T.V., Galstyan G.M., Galtseva I.V., Davydova Yu.O., Kapranov N.M., Savchenko V.G. Changes of platelet activation markers in donor platelets concentrates during the storage after the inactivation of pathogens by amotosalen and ultraviolet A radiation technology
- Spirin M.V., Galstyan G.M., Polevodova O.A., Kudlay D.A., Polyanskaya T.Yu., Zozulya N.I., Likhacheva E.A., Troitskaya V.V. Peripherally inserted central catheter for long-term vascular access in patients with hemorrhagic syndrome
- Lobanova T.I., Parovichnikova E.N., Tikhomirov D.S., Garanzha T.A., Troitskaya V.V., Mikhailova E.A., Fidarova Z.T., Savchenko V.G. Human herpes virus 6 in patients with blood system diseases during chemotherapy courses and after autologous blood stem cell transplantation

REVIEWS OF LITERATURE

- Rakhmani A.F., Mikhaylova E.A., Dubinkin I.V. Tactics of platelet transfusion therapy in patients with depression of the hematopoiesis: review
- Matosova E.V., Andryukov B.G. Morphofunctional characteristics of protective mechanisms of neutrophils against bacterial infections and their contribution in pathogenesis of pro-inflammatory responses

CASES REPORT

- Melikyan A.L., Subortseva I.N., Gilyazitdinova E.A., Kovrigina A.M., Sudarikov A.B., Abdullaev A.O. Therapy of polycythemia vera with ruxolitinib

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал адресован гематологам, научным сотрудникам, трансфузиологам, работникам службы крови, врачам-лаборантам, терапевтам, хирургам, педиатрам, анестезиологам, реаниматологам, а также физиологам, патофизиологам, патологам и другим представителям теоретических дисциплин и всем врачам, интересующимся вопросами переливания крови и патологии системы крови.

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук. Журнал принимает статьи по следующим группам специальностей: 14.00.21 – гематология и переливание крови (медицинские и биологические науки), 14.01.20 – анестезиология и реаниматология, 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Журнал "Гематология и трансфузиология" индексируется в следующих информационных системах: РИНЦ, Scopus, Web of Science, Excerpta Medica; Biological Abstracts; Chemical Abstracts; Index Medicus; INIS Atomindex (International Nuclear Information System); Nutrition Abstracts and Reviews; Ulrich's International Periodicals Directory.

Все права защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

© ОАО «Издательство "Медицина"», 2017

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.155.392.2-036.11-085

Гаврилина О.А.¹, Паровичникова Е.Н.¹, Троицкая В.В.¹, Кузьмина Л.А.¹, Бондаренко С.Н.²,
Соколов А.Н.¹, Лапин В.А.³, Зарубина К.И.¹, Басхаева Г.А.¹, Лукьянова И.А.¹, Клясова Г.А.¹,
Судариков А.Б.¹, Обухова Т.Н.¹, Савченко В.Г.¹

РЕЗУЛЬТАТЫ РЕТРОСПЕКТИВНОГО МНОГОЦЕНТРОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ РН-ПОЗИТИВНЫМ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ ПО ПРОТОКОЛАМ РОССИЙСКОЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ГРУППЫ

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России,
125167, г. Москва, Россия;

² НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой
ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, 197022, г. Санкт-Петербург, Россия;

³ ГБУЗ Ярославской области «Областная клиническая больница», 150062, г. Ярославль, Россия

С 2009 г. российской научно-исследовательской группой по изучению острых лейкозов проводится терапия Rh-позитивных (Rh⁺) острых лимфобластных лейкозов (ОЛЛ) по протоколам химиотерапии (ХТ), основанным на постоянном непрерывном химиотерапевтическом воздействии в комбинации с ежедневным непрерывным применением иматиниба. По результатам исследований, полученным в 2011 г., был разработан протокол ОЛЛ-2012 для лечения Rh⁺ ОЛЛ, в котором была деэскалирована ХТ.

Цель исследования – сравнить результаты терапии, – эффективность и долгосрочные результаты у больных, пролеченных по протоколу «ОЛЛ-2009» с ингибиторами тирозинкиназ и по протоколу «ОЛЛ-2012».

Материалы и методы. В исследование включены больные с впервые диагностированным Rh⁺ ОЛЛ, которым с 2009 по 2017 гг. проводили терапию в одном из трех центров (НМИЦ гематологии г. Москва, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ОКБ г. Ярославль), из них 12 больным проводили лечение по протоколу «ОЛЛ-2009» с постоянным приемом иматиниба, 23 больным – по протоколу «ОЛЛ-2012». В исследование не включены больные, которым выполняли терапию в других центрах.

Результаты. На каждом из протоколов были зарегистрированы по 2 летальных исхода при терапии: «ОЛЛ-2009» с иматинибом – 1 (8%) больной в индукции от тромботических осложнений (тромбоз мезентериальной легочной артерии), 1 (8%) больной на консолидации после достижения ремиссии от инфекционных осложнений; «ОЛЛ-2012» – 1 (4%) больной, находящийся в индукции от инфекционных осложнений (инвазивный микоз), 1 (4%) больной на консолидации от тромботических осложнений (острое нарушение мозгового кровообращения). Статистически значимых различий в частоте достижения полных ремиссий после индукционных курсов не выявлено, и их частота составила 83 и 87% соответственно. У больных, получивших лечение по протоколу «ОЛЛ-2009» с ингибиторами тирозинкиназ (ИТК), частота достижения полной молекулярной ремиссии (ПМР) после 2-го курса индукционной терапии (70-й день протокола) наблюдалась у 3(43%) из 7 больных, а при проведении терапии по протоколу «ОЛЛ-2012» у 11 (55%) из 20 больных. При этом различия в частоте не были статистически значимыми ($p > 0,05$). Рефрактерное течение заболевания констатировано у 1 (8%) больного при терапии по протоколу «ОЛЛ-2009» с ИТК и у 1 (4%) больного при терапии по протоколу «ОЛЛ-2012». У всех больных Rh-позитивным ОЛЛ ($n = 35$), которым проводили терапию по протоколам российской исследовательской группы, общая выживаемость составила 55%, а безрецидивная – 40%. У 14 (40%) из 35 больных была выполнена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Заключение. По данным ретроспективного многоцентрового исследования российской группы по лечению ОЛЛ было показано, что деинтенсификация химиотерапевтического воздействия на фоне постоянной терапии ИТК не повлияла на эффективность терапии, но позволила повысить выполняемость протокола у больных.

Ключевые слова: Rh-позитивный острый лимфобластный лейкоз; ингибиторы тирозинкиназ; лечение.

Для цитирования: Гаврилина О.А., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Кузьмина Л.А., Бондаренко С.Н., Соколов А.Н., Лапин В.А., Зарубина К.И., Басхаева Г.А., Лукьянова И.А., Клясова Г.А., Судариков А.Б., Обухова Т.Н., Савченко В.Г. Результаты ретроспективного многоцентрового исследования терапии Rh-позитивных острых лимфобластных лейкозов по протоколам российской исследовательской группы. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(4): 172-180. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-172-180>

Gavrilina O.A.¹, Parovichnikova E.N.¹, Troitskaya V.V.¹, Kuzmina L.A.¹, Bondarenko S.N.², Sokolov A.N.¹, Lapin V.A.³,
Zarubina K.I.¹, Baskhaeva G.A.¹, Lukyanova I.A.¹, Klyasova G.A.¹, Sudarikov A.B.¹, Obukhova T.N.¹, Savchenko V.G.¹

THE RESULTS OF THE RETROSPECTIVE MULTICENTRE STUDY OF THE THERAPY OF PH-POSITIVE ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA ACCORDING TO THE PROTOCOLS OF THE RUSSIAN RESEARCH GROUP

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

² Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantology n.a. R.M. Gorbacheva
Pavlov's First St Petersburg State Medical University, St. Petersburg, 197022, Russian Federation;

³ Yaroslavl Regional Clinical Hospital, Yaroslavl, 150062, Russian Federation

Introduction. Since 2009, the RALL Group has been treating Ph-positive ALL by protocols based on a continuous chemotherapeutic approach with TKI combination. Based on the results of the studies received in 2011, a protocol was developed for ALL-2012 for the treatment of Ph-positive ALL, in which chemotherapy was de-escalated.

Aim. The aim of the study was to compare the efficacy and long-term results in patients treated by ALL-2009 protocol with TKI and ALL-2012 protocol.

Materials and methods. The study included patients with newly diagnosed Ph-positive ALL who received therapy from 2009 to 2017 in one of 3 centers: 12 patients who were treated according to the ALL-2009 protocol with TKI, and 23 patients treated according to the ALL-2012 protocol. The study does not include patients who have been treated in other centers.

Results. Two deaths were recorded on each protocol: ALL-2009 with imatinib – 1 (8%) in induction and 1 (8%) in consolidation; ALL-2012 – 1 (4%) patient in induction and 1 (4%) in consolidation treatment. There were no significant differences in the frequency of complete remissions after induction courses, and their incidence was 83% and 87%, respectively. In group of patients that were treated by ALL-2009 protocol with ITK, the frequency of complete molecular remission after 2 courses of induction therapy (the 70th day of the protocol) was 43% (3 of 7 patients), and those who received therapy by ALL-2012 protocol – 55% (in 11 of 20 patients). The differences in the frequency were not statistically significant ($p > 0.05$).

Refractory of the disease was detected in 1 (8%) of the patients on the ALL-2009 protocol with ITK and in 1 (4%) of the patients on the ALL-2012 protocol. In all patients with Ph-positive ALL ($n = 35$) the overall survival was 55% and the disease-free survival was 40%. Fourteen (40%) of 35 patients underwent transplantation of hematopoietic stem cells.

The conclusion. According to the retrospective multicentre study of the RALL, it was shown that de-intensification of chemotherapeutic treatment against the background of constant therapy of TKI did not affect the effectiveness of therapy.

Key words: acute lymphoblastic leukemia; tyrosine kinase inhibitors; therapy.

For citation: Gavrilina O.A., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Kuzmina L.A., Bondarenko S.N., Sokolov A.N., Lapin V.A., Zarubina K.I., Baskhaeva G.A., Lukyanova I.A., Klyasova G.A., Sudarikov A.B., Obukhova T.N., Savchenko V.G. The results of the retrospective multicentre study of the therapy of Ph-positive acute lymphoblastic leukemia according to the protocols of the Russian research group. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(4): 172-180. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-172-180>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 25 Dec 2017

Accepted 29 Dec 2017

Результаты терапии больных Ph-позитивным острым лимфобластным лейкозом по протоколам различных исследовательских групп

Ph-позитивный (Ph⁺) острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) встречается, по данным разных авторов, у 2–10% детей, больных ОЛЛ, и у 25–30% взрослых, больных ОЛЛ. Его частота увеличивается с возрастом, и у больных ОЛЛ старше 50 лет более 50% составляют именно Ph⁺ вариант ОЛЛ [1–4]. Обнаружение транслокации (9;22) (q34;q11) имеет важное клиническое значение, поскольку современная терапия для этой группы больных предполагает применение ингибиторов тирозинкиназ.

В начале 1980-х годов лишь около 10% взрослых больных ОЛЛ переживали 5-летний период. До недавнего времени Ph⁺ ОЛЛ расценивали как вариант заболевания с плохим прогнозом. Это нашло отражение в классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ за 2008 г., где было указано, что этот вариант ОЛЛ и у детей, и у взрослых имеет наихудший прогноз среди

всех вариантов ОЛЛ [4]. В последние годы частота полных ремиссий достигла в среднем 84%, а по данным некоторых исследований – 95–100%; при этом 5-летняя безрецидивная выживаемость (БРВ) составляла 35–40% [5–9]. Эти результаты достигнуты благодаря появлению новых лекарственных препаратов и внедрению высокоэффективных режимов терапии.

Применение ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) радикально изменило результаты терапии Ph⁺ ОЛЛ. К препаратам 1-го поколения ингибиторов тирозинкиназ относится иматиниб. Применение монотерапии иматинибом не позволяло добиваться длительного сохранения ремиссии. В связи с этим иматиниб был использован в сочетании с разными программами химиотерапии (ХТ) (табл. 1). Американские, японские и французские исследователи представили результаты лечения иматинибом в суточной дозе 600 мг на фоне ХТ [10–15]. Достижение клинко-гематологической ремиссии отмечалось у 93–96% больных, при этом у 60% больных в американском исследовании была достигнута и молекулярная ремиссия [12, 13]. Корейские и немецкие исследователи также представили результаты ХТ в сочетании с иматинибом при разных режимах. К. Lee и соавт. [14, 15] продемонстрировали оптимистичные результаты выживаемости при поочередном применении иматиниба с ХТ. В. Wassmann и соавт. [16] показали преимущества ХТ на фоне непрерывного применения иматиниба. Таким образом, включение постоянного приема иматиниба в терапию Ph⁺ ОЛЛ заметно улучшило результаты выживаемости больных как при применении иматиниба поочередно с ХТ, так и при их одновременном использовании [10–18].

Дальнейшие исследования рабочих групп по изучению ОЛЛ были направлены на деэскалацию химиотерапевтического подхода. Это было необходимо вследствие того, что этот вариант ОЛЛ чаще встречается у больных старшей возрастной группой, что обуславливает высокую токсичность и летальность на фоне высокодозной ХТ,

Для корреспонденции:

Гаврилина Ольга Александровна, кандидат мед. наук, научный сотрудник, врач-гематолог отделения интенсивной химиотерапии гемобластозов и депрессии кроветворения со стационаром дневного пребывания ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, 126167, г. Москва, Россия. E-mail: dr.gavrilina@mail.ru

For correspondence:

Gavrilina Olga A., MD, PhD, researcher National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: dr.gavrilina@mail.ru

Information about authors:

Gavrilina O.A., <http://orcid.org/0000-0002-9969-8482>;
Parovichnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>;
Troitskaya V.V., <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>;
Kuzmina L.A., <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>;
Sokolov A.N., <http://orcid.org/0000-0003-1494-7978>;
Zarubina K.I., <http://orcid.org/0000-0003-2947-6398>;
Klyasova G.A., <https://orcid.org/0000-0001-5973-5763>;
Sudarikov A.B., <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>;
Obukhova T.N., <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>;
Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>.

Таблица 1

Клинические исследования по применению иматиниба в терапии 1-й линии у больных Ph⁺ острым лимфобластным лейкозом

Исследование	Число больных	Медиана возраста, годы	Применение иматиниба с ХТ	ПР, %	Рецидив, %	БСВ, % (годы)	ОВ, % (годы)
D. Thomas [10, 11]	45	51 (17–84)	Одновременно	93	22	68 (3)	55 (3)
M. Yanada [12], M. Towatary [13]	80	48 (15–63)	Одновременно	96	26	51 (2)	58 (2)
K. Lee [14, 15]	20	37 (15–67)	Одновременно	95	32	62 (2)	59 (2)
	29	36 (18–55)	Поочередно	79	4	78 (3)	78 (3)
B. Wassmann [16]	45	41 (19–63)	Одновременно	НД	НД	61 (2)	43 (2)
	47	46 (21–65)	Поочередно	НД	НД	52 (2)	36 (2)
A. de Labarthe [17]	45	45 (16–59)	Одновременно	96	19	51 (1,5)	65 (1,5)
A. Delannoy [18]	30	66 (58–78)	Поочередно	72	60	58 (1)	66 (1)

Примечание. БСВ – бессобытийная выживаемость; ОВ – общая выживаемость; ПР – полная ремиссия.

а, кроме того, учитывая высокую частоту развития рецидивов при Ph⁺ ОЛЛ, молодые больные и пациенты без тяжелых сопутствующих заболеваний должны рассматриваться как кандидаты для выполнения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток к (ТГСК).

Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto (группа GIMEMA) провела исследование (GIMEMA LAL 0201-B) у пожилых больных с использованием стратегии индукции на основе иматиниба. Больные получали глюкокортикостероидные гормоны для профилактики нейрорлейкемии, но не получали системной ХТ. Все 29 больных в возрасте от 61 до 83 лет (медиана возраста 69 лет), включенные в исследование, достигли полной клинко-гематологической ремиссии, а молекулярная ремиссия была у 1 больного. Хотя это исследование не рассматривало лечение после достижения ремиссии из-за возраста больных, оно представляло собой первое доказательство принципа эффективности индукционного лечения, которое не включало системную ХТ [19].

Следующее исследование этой рабочей группы называлось GIMEMA LAL 0904. Оно было основано на полученных результатах исследования GIMEMA LAL 0201-B и направлено на оценку эффективности дезэскалационного подхода у молодых больных. В исследование были включены 49 больных в возрасте от 16,9 до 59,7 года (медиана возраста 45,9 года). Была применена та же стратегия индукции, что и в протоколе LAL 0201-B, но больным моложе 60 лет после достижения клинко-гематологической ремиссии проводили консолидацию с применением высоких доз цитарабина и митоксантрона и, при возможности, выполняли аллогенную или аутологичную ТГСК (алло-ТГСК и ауто-ТГСК). В результате индукционной терапии иматинибом с дексаметазоном полная клинко-гематологическая ремиссия была достигнута у 96% больных, после консолидации у 100% больных она была достигнута. 5-летняя общая выживаемость (ОВ) достигла 48,8%, а 5-летняя бессобытийная выживаемость (БСВ) составила 45,8% [20].

После появления ингибиторов тирозинкиназ 2-го поколения (дазатиниб) было выполнено исследование GIMEMA LAL 1205, в котором также применялся подход с дезэскалацией ХТ, но в 1-й линии терапии включало применение дазатиниба вместо иматиниба. У всех больных в этом исследовании ($n = 55$, медиана возраста 53,6 года) была достигнута полная клинко-гематологическая ремиссия после индукции, кроме того у 22,7% больных достигнута молекулярная ремиссия (чувствительность метода 10^{-3}) [21].

В рандомизированном исследовании, проведенном французской рабочей группой по лечению ОЛЛ (GRAALL), сравнивали эффективность терапии

у больных, которым выполнена деинтенсификация ХТ в сочетании с постоянным приемом иматиниба, и стандартные схемы терапии (Hyper-CVAD) с иматинибом [10]. Было показано, что в результате деинтенсифицированной терапии полная клинко-гематологическая ремиссия получена у 98% больных на этой ветви протокола, в сравнении с 91% – при стандартной ХТ. Достижение молекулярных полных ответов было сопоставимо в обеих группах (66% против 64%), а статистически значимых различий в показателях ОВ и БСВ не получено, 5-летняя ОВ составила 48,3% против 43% ($p = 0,37$) и БСВ 42,2% против 32,1% ($p = 0,13$) [22].

Применение трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) у больных в первой ремиссии Ph⁺ ОЛЛ заметно улучшило результаты терапии. G. Laport и соавт. [6] опубликовали результаты лечения 79 больных Ph⁺ ОЛЛ, которым проводили терапию с 1985 по 2005 г. Медиана возраста больных составила 36 лет. 10-летняя ОВ при алло-ТГСК в первой ремиссии составила 54%, а медиана времени до развития рецидива 12 мес. Значимость ТГСК у больных в первой ремиссии Ph⁺ ОЛЛ была также показана в одном из крупнейших исследований Великобритании MRC UKALL XII/ECOG E2993 [23], были проанализированы данные 267 больных моложе 55 лет в первой ремиссии, наблюдавшихся с 1993 по 2004 г. После консолидации ремиссии больным выполняли родственную или неродственную алло-ТГСК. В случае отсутствия донора больных рандомизировали на группы, которым проводили ауто-ТГСК или продолжали ХТ. Алло-ТГСК была выполнена 28% больным. 5-летняя общая выживаемость у больных, которым была выполнена родственной алло-ТГСК составила 44%, у больных с неродственной алло-ТГСК – 36%. Меньшая выживаемость при неродственной алло-ТГСК, скорее всего, обусловлена большей смертностью, связанной с трансплантацией (реакция «трансплантат против хозяина» – РТПХ, инфекционные осложнения). Смертность, связанная с трансплантацией, при выполнении родственной ТГСК составила 27%, при неродственной – 39%. У больных, которым была продолжена ХТ, 5-летняя ОВ составила лишь 19% [23].

После появления ингибиторов тирозинкиназ 2-го поколения (дазатиниб и нилотиниб) они были включены в режимы ХТ при Ph⁺ ОЛЛ. Препараты 2-го поколения активны в отношении большинства мутаций *BCR-ABL* тирозинкиназного домена у больных Ph⁺ ОЛЛ, у которых выявлена резистентность к иматинибу, кроме случаев обнаружения мутации T315I. Применение ингибиторов тирозинкиназ 2-го и последующих поколений позволило достичь большего числа полных молекулярных ответов, в настоящее время несколькими исследованиями показано [24], что выполнение алло-ТГСК в некоторых группах

больных не улучшает результаты терапии, а даже ухудшает за счет летальности, связанной с ТГСК, в сравнении с продолжением терапии ингибиторами тирозинкиназ (например, у больных старше 40 лет по данным MD Anderson Cancer Center) [24].

Результаты терапии больных Ph^+ острым лимфобластным лейкозом по протоколам российской исследовательской группы

В 2004 г. в рамках российского многоцентрового исследования по лечению острых лейкозов был инициирован протокол терапии Ph^+ ОЛЛ с непрерывным применением иматиниба в суточной дозе 400 мг на фоне ХТ. При отсутствии молекулярной ремиссии дозу препарата увеличивали до 600–800 мг/сут. Полная ремиссия (ПР) была достигнута у 85% больных. Однако высокая частота рецидивов на фоне ХТ еще раз подтвердила необходимость выполнения трансплантации костного мозга как значимого этапа лечения больных Ph^+ ОЛЛ [25].

Применение протокола лечения больных Ph^+ острым лимфобластным лейкозом «ОЛЛ-2009» с ингибиторами тирозинкиназ

С 2009 г. российская научно-исследовательская группа по изучению острых лейкозов приняла решение о комбинированном применении иматиниба в суточной дозе 600 мг на фоне программы ХТ «ОЛЛ-2009» [26].

С февраля 2010 г. по октябрь 2011 г. в исследование были включены 16 больных Ph^+ ОЛЛ из шести центров Российской Федерации. Программа лечения подразумевала применение иматиниба одновременно с протоколом «ОЛЛ-2009». Медиана возраста больных составила 45 лет (диапазон 19–68 лет), из 16 больных было 7 мужчин и 9 женщин. У всех больных было выполнено иммунофенотипическое исследование бластных клеток костного мозга. Ранний пре-В-фенотип определен у 2 (12,5%) больных, общий пре-В – у 10 (62,5%), пре-В – у 4 (25%). У всех больных диагноз доказан на основании обнаружения химерного гена *BCR-ABL* методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), а у 11 (69%) больных также подтвержден молекулярно-биологическим методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). При цитогенетическом исследовании костного мозга у 4 (25%) больных были обнаружены дополнительные хромосомные aberrации.

Протокол лечения предусматривал морфологическое исследование костного мозга после предфазы преднизолоном в дозе 60 мг/м² на 8-й день лечения. Сведения по итогам предфазы были представлены по 14 больным, из них у 6 (43%) больных ОЛЛ клиничко-гематологическая ремиссия не была достигнута после терапии преднизолоном. У 5 (83%) из этих 6 больных преднизолон был заменен на дексаметазон, а 1 больному была продолжена монотерапия ИТК. Клиничко-гематологическая ремиссия после индукционной терапии достигнута у 87,5% взрослых больных Ph^+ ОЛЛ. Молекулярный мониторинг химерного транскрипта *BCR-ABL* был выполнен только у 8 больных, из них у 3 (37,5%) молекулярная ремиссия была достигнута уже через 1,5 мес терапии, у 1 (12,5%) больного через 2,5 мес. Молекулярная ремиссия была констатирована при полном отсутствии химерного транскрипта *BCR-ABL*, определяемого методом ПЦР с чувствительностью 10^{-4} . У остальных 4 (50%) из 8 больных отмечена персистенция минимальной резидуальной болезни по результатам исследования транскрипта *BCR-ABL* на фоне терапии иматинибом. Таким образом, у 50% больных достигнута молекулярная ремиссия после 2,5 мес ХТ с иматинибом. В ранее проведенном российской группой исследовании этот показатель составлял 35% [25]. По данным испанского исследования РЕТНЕМА, молекулярная ремиссия была достигнута у 42% больных Ph^+ ОЛЛ после

1-го курса консолидации ремиссии, т.е. после почти 2 мес лечения иматинибом [27]. Сопоставимые результаты были также продемонстрированы южнокорейской группой исследователей: у 45,8% больных была достигнута молекулярная ремиссия после 8 нед терапии иматинибом [28].

В исследовании «ОЛЛ-2009» в сочетании с иматинибом рефрактерная форма ОЛЛ была зарегистрирована только у 1 больной 68 лет [26]. В связи с токсичностью химиотерапевтического воздействия больной проводили с 22-го дня лечения монотерапию иматинибом, впоследствии ее перевели на терапию для пожилых больных ОЛЛ в сочетании с иматинибом. Однако больная умерла вследствие прогрессирования заболевания. В связи с развитием тромбоэмболии легочной артерии 1 (6%) больной умер во время индукции ремиссии на 23-й день лечения. На этапе индукции была проанализирована информация об инфекционных осложнениях, геморрагическом синдроме, наличии и длительности цитопении. Показано, что во время 1-й фазы индукционной терапии у 6 (60%) из 10 больных, о которых есть информация, отмечалась лейкопения менее $1,0 \times 10^9/л$. Во время 2-й фазы индукции цитопения зарегистрирована у 4 (44%) из 9 проанализированных больных. У подавляющего большинства больных наблюдались различные инфекционные осложнения, которые развивались с одинаковой частотой как при применении иматиниба с преднизолоном, так и иматиниба с дексаметазоном. Были проанализированы 12 больных с инфекционными осложнениями, среди которых зарегистрированы были: пневмония – у 9 (75%), стоматит – у 7 (58%), сепсис – у 2 (17%), токсический гепатит – у 3 (25%), полинейропатия – у 4 (33%), тромбозы – у 4 (33%) больных. Токсичность L-аспарагиназы была оценена у 13 больных. Анафилактический шок зарегистрирован у 1 (8%) больного, в связи с чем ему в дальнейшем терапию L-аспарагиназой не проводили. У 1 (8%) больного отмечена тромбоэмболия легочной артерии. Таким образом, токсичность L-аспарагиназы зарегистрирована у 16% больных. О токсичности непрерывной терапии ингибиторами тирозинкиназ на фоне стандартного протокола лечения «ОЛЛ-2009» для Ph -негативных ОЛЛ свидетельствовала также низкая выполняемость терапии. Из 16 больных, включенных в исследование, 7 (44%) были сняты с протокола и переведены на другие режимы терапии, у 3 (19%) протокол выполнялся с разными отклонениями, снижением доз препаратов и интенсивности воздействия. Высокодозную ХТ удалось выполнить 8 (50%) больным: из них 3 (38%) получили курсы высокодозной консолидации, 5 (62%) – ТГСК. Родственная алло-ТСКК проведена у 3 (60%) больных, неродственная алло-ТСКК – у 1 (20%), ауто-ТГСК – у 1 (20%). У 5 (31%) из 16 больных на разных этапах лечения ИТК был заменен на препарат 2-го поколения. У 2 (12,5%) больных терапия дазатинибом начата в связи с констатированным молекулярным рецидивом при сохранении клиничко-гематологической ремиссии через 5 и 6 мес соответственно, еще 2 (12,5%) больным дазатиниб назначен с учетом отсутствия ПМР после 70 дней терапии, несмотря на наличие клиничко-гематологической ремиссии. В 1-й линии терапии дазатиниб был назначен 1 (6%) больному. Результаты описываемого протокола показали при этом весьма оптимистичными при длительности наблюдения 17 мес. ОВ составила 75%, а БРВ – 92%. При сравнении этих показателей с данными других исследований у больных Ph^+ ОЛЛ при таком же сроке наблюдения можно прийти к заключению, что результаты терапии в российском исследовании не отличаются от представляемых в других работах [26]. По данным A. de Labarthe и соавт. [17] ОВ в течение 1,5 года составила 65%, а БРВ – 58%. По итогам немецких исследований

[16], 2-летняя ОВ у больных с медианой возраста 41 год при комбинированном использовании иматиниба на фоне стандартной ХТ составила 43%, а 2-летняя БРВ – 61%. Одновременное использование ингибиторов тирозинкиназ на фоне ХТ продемонстрировало достаточную эффективность, но высокую токсичность и неполную выполняемость протокола [16].

При анализе токсичности и выполняемости комбинированного лечения ингибиторами тирозинкиназ с ХТ стало очевидным, что для больных Ph^+ ОЛЛ необходимо снижение интенсивности цитостатического воздействия [26]. К такому же выводу пришло и большинство европейских авторов. Немецкие исследователи модифицировали индукционную терапию при Ph^+ ОЛЛ и включили такие препараты, как винкристин, дексаметазон и пегилированная аспарагиназа, на фоне непрерывного применения иматиниба у больных моложе 55 лет [29].

Несмотря на достижение оптимистичных результатов при применении ингибиторов тирозинкиназ у больных Ph^+ ОЛЛ, выполнение ТГСК остается значимым этапом лечения, способствующим сохранению длительной ремиссии. В настоящее время показано, что назначение ингибиторов тирозинкиназ после успешно выполненной ТГСК позволяет в ряде случаев избежать развития рецидива и продлить достигнутый эффект.

Проанализировав собственные результаты терапии в исследовании «ОЛЛ-2009» с применением иматиниба при Ph^+ ОЛЛ, российская исследовательская группа по лечению острых лейкозов приняла решение о необходимости разработки и создания нового низкотоксичного протокола лечения больных Ph^+ ОЛЛ [26].

Применение протокола лечения больных Ph^+ острым лимфобластным лейкозом «ОЛЛ-2012».

В 2012 г. российской исследовательской группой по изучению острых лимфобластных лейкозов (RALL) был разработан протокол «ОЛЛ-2012» для лечения больных Ph^+ ОЛЛ. В этом протоколе были сохранены основные принципы терапии, которые применялись в протоколе «ОЛЛ-2009» с применением ингибиторов тирозинкиназ, но предпринята деэскалация ХТ, с целью уменьшения токсичности и реализации большего числа алло-ТГСК.

Протокол «ОЛЛ-2012» сохранил в себе основные принципы терапии протокола «ОЛЛ-2009 с ингибиторами тирозинкиназ», а именно: постоянная непрерывная ХТ с одновременным применением иматиниба в дозе 600 мг/сут, смена ингибитора тирозинкиназы на ингибитор 2-го поколения (дазатиниб) на 70-й день терапии (после 2,5 мес терапии) при недостижении ПМР, выполнение по возможности всем больным консолидации в виде алло-ТГСК или ауто-ТГСК (при невозможности выполнения алло-ТГСК и достижении ПМР).

При этом была выполнена деинтенсификация химиотерапевтического воздействия. Индукционная терапия по протоколу ОЛЛ-2012 подразумевала применение дексаметазона одновременно с иматинибом в дозе 600 мг/сут, или смена преднизолона на дексаметазон после подтверждения Ph^+ -варианта ОЛЛ, но уменьшение длительности применения дексаметазоном до 3 нед с дальнейшей постепенной отменой в течение недели. 1-я фаза индукции, кроме дексаметазона и иматиниба, включала еженедельное введение винкристина в дозе 2 мг в течение 6 нед терапии. 2-я фаза индукции включала только еженедельное введение Л-аспарагиназы на фоне продолжающейся терапии иматинибом в течение 4 нед. После завершения индукционной терапии (70-й день) выполняли контрольную пункцию костного мозга, и проводили морфологическое, цитогенетическое и молекулярное исследования с целью верификации клинико-гематологической, цитогенетической

и молекулярной ремиссии. При недостижении ПМР с 70-го дня терапия иматинибом заменяли на ингибитор 2-го поколения (дазатиниб). В консолидации деэскалация ХТ представляла собой отказ от блоков с применением высоких доз метотрексата и цитарабина, и исключение циклофосфана. В консолидационные курсы предполагали также непрерывное применение ИТК (иматиниб или дазатиниб). I курс консолидации состоял из постоянного приема меркаптопурина в течение 5 нед, и двух введений метотрексата в дозе 500 мг/м² и двух введений Л-аспарагиназы. II курс консолидации составлял 4 нед и состоял из 2 нед терапии дексаметазоном в дозе 6 мг/м², двух введений идарубицина в дозе 6мг/м² и двух введений винкристина в стандартной дозе. III курс консолидации составлял 4 нед терапии меркаптопурином, двух введений цитарабина в дозе 50 мг/м² и двух введений Л-аспарагиназы.

С декабря 2011 г. по февраль 2017 г. в протокол «ОЛЛ-2012» включены 23 больных (11 мужчин и 12 женщин) в возрасте от 17 до 61 лет (медиана возраста 35 лет) из трех центров России в Москве, Санкт-Петербурге и Ярославле (ФГБУ ГНЦ, СПб НИИТГиТ и ЯОКБ). У всех больных было выполнено иммунофенотипическое исследование бластных клеток костного мозга. Ранний пре-B-фенотип определен у 4, общий пре-B – у 15, пре-B – у 4 больных. У всех больных диагноз доказан на основании обнаружения *BCR-ABL* при использовании метода FISH, у 20 больных подтвержден методом ПЦР. Тип транскрипта p190 выявлен у 12 (60%) больных, p210 – у 4 (20%), одновременно p190 и p210 – у 4 (20%) больных. При цитогенетическом исследовании костного мозга у 7 (30%) больных были обнаружены дополнительные хромосомные aberrации, у 1 больной среди хромосомных аномалий выявлена моносомия 7, у 1 больного одновременно выявлены вовлечение MLL и p53.

Лейкоцитоз $30 \times 10^9/л$ и выше отмечался у 10 (44%) больных, показатели лактатдегидрогеназы выше нормальных значений – у 20 (87%) больных.

Один больной отказался на момент индукционной терапии от продолжения лечения и был снят с протокола. Во время индукционной терапии 1 (4%) больной умер без достижения ремиссии от инфекционных осложнений (инвазивный аспергилез легких), 1 (5%) больная умерла после достижения ремиссии заболевания во время консолидации от тромботических осложнений, острого нарушения мозгового кровообращения, вероятно, обусловленного применением Л-аспарагиназы. Констатировано резистентное течение ОЛЛ у 1 (4%) больного. Таким образом, клинико-гематологическая ремиссия достигнута была у 20 (90%) из 22 больных. На 70-й день протокола (2,5 мес терапии) ПМР подтверждена у 11 (55%) из 20 больных. Остальным 9 больным была выполнена смена терапии на дазатиниб, из них у 1 сохранялась МРБ на терапии ИТК 2-го поколения, в связи с чем была проведена смена на ИТК следующего поколения (босутиниб), после чего ПМР была достигнута.

ТГСК выполнена 9 больным в первой ремиссии: 2 больным – алло-ТГСК от родственного донора, 6 – алло-ТГСК от неродственного донора, 1 больному выполнена ауто-ТГСК в ПМР заболевания. Остальным 10 больным была продолжена терапия по протоколу, из них 3 больным на момент проводимого анализа проводится поиск неродственного донора для выполнения алло-ТГСК в первой полной ремиссии. В группе больных, которым выполнена алло-ТГСК, 3 (33%) больных умерли вследствие осложнений, связанных с трансплантацией (РТПХ, инфекционные осложнения), из них у 1 (с вовлечением MLL и делецией p53) был диагностирован молекулярный и цитогенетический рецидив через 2 мес после алло-ТГСК.

Все умершие пациенты были старше 45 лет. Остальные 6 (67%) больных находятся под наблюдением, у них сохраняется полная ремиссия заболевания.

В группе больных, которым не удалось выполнить ТГСК в связи с коморбидностью, возрастом старше 60 лет или отсутствием донора, было детектировано 5 (50%) рецидивов заболевания, остальные 5 больных находятся под наблюдением.

3-летняя ОВ больных при лечении на протоколе «ОЛЛ-2012» составила 49%, а БРВ – 47%.

Цель исследования – сравнить результаты терапии, эффективность и долгосрочные результаты у больных, пролеченных по протоколу «ОЛЛ-2009» с ингибиторами тирозинкиназ и по протоколу «ОЛЛ-2012». В задачи исследования оценка токсичности терапии не включена, так как исходно предполагалось уменьшение токсичности и повышение выполнимости протокола «ОЛЛ-2012» в связи с деинтенсификацией химиотерапевтического подхода в сравнении с протоколом «ОЛЛ-2009».

Материалы и методы

В исследование включены пациенты с впервые диагностированным Рн-позитивным ОЛЛ, которым с 2009 по 2017 гг. проводилась терапия в одном из трех центров (НМИЦ гематологии, г. Москва; НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, г. Санкт-Петербург; ОКБ г. Ярославль): 12 пациентов, которым проводили лечение по протоколу «ОЛЛ-2009» с постоянным приемом иматиниба, и 23 пациента, пролеченных по протоколу «ОЛЛ-2012». В исследование не включены пациенты, которым выполняли терапию в других центрах.

При анализе основных демографических, клинико-лабораторных признаков статистически значимых различий в группах больных, включенных в протокол «ОЛЛ-2009» с постоянным приемом иматиниба и «ОЛЛ-2012», не выявлено (табл. 2).

Статистически значимых различий в параметрах не обнаружено.

Таким образом, несмотря на различия в числе пациентов, которым выполняли разные протоколы лечения, сравнительный анализ показал однородность сравниваемых групп пациентов в зависимости от клинико-демографических факторов риска.

Для математической обработки данных использовали программу SAS 9.3. Для сравнения частотных характеристик оценивали критерий χ^2 . ОВ и БРВ анализировали по методу Каплана–Мейера. Для сравнения показателей ОВ и БРВ между группами больных использовали тест log-rank. С помощью Кокс-регрессионной модели проведен многофакторный анализ. Результаты считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

Результаты

На каждом из протоколов были зарегистрированы по 2 смерти на терапии: «ОЛЛ-2009» с иматинибом – 1 (8%) больной в индукции от тромботических осложнений (тромбоэмболия легочной артерии), 1 (8%) больной на консолидации после достижения ремиссии от инфекционных осложнений; «ОЛЛ-2012» – 1 (4%) больной в индукции от инфекционных осложнений (инвазивный микоз), 1 (4%) больной на консолидации от тромботических осложнений (острое нарушение мозгового кровообращения). Статистически значимых различий в частоте достижения полных ремиссий после индукционных курсов не выявлено, и их частота составила 83 и 87% соответственно. При лечении по каждому из протоколов было по 1 отказу от терапии: на протоколе «ОЛЛ-2009» с ИТК больной отказался от терапии на первом курсе консолидации после подтверждения достижения клинико-гематологической ремиссии, на протоколе «ОЛЛ-2012» – во время 1-го курса индукции до достижения полной ремиссии.

Частоту достижения ПМР можно было оценить у 7 больных на протоколе «ОЛЛ-2009» с ИТК и у 20 больных на протоколе «ОЛЛ-2012», у тех больных, которым

Таблица 2

Основные демографические и клинико-лабораторные характеристики больных, включенных в исследование

Основной параметр	«ОЛЛ-2009 с ИТК» (n = 12)		«ОЛЛ-2012» (n = 23)	
	абс.	%	абс.	%
Пол:				
мужской	5	42	11	48
женский	7	58	12	52
Возраст, годы:				
медиана	39		35	
разброс	(19–68)		(17–61)	
Вариант:				
В1	2	17	4	17
ВП	7	58	15	66
ВШ	3	25	4	17
Нейролейкемия	1	8	5	22
Лейкоцитоз более $30 \times 10^9/\text{л}$	7	58	10	44
Транскрипт:				
p190	3	43	12	60
p210	1	14	4	20
оба	3	43	4	20
ЛДГ выше нормы	11	92	20	87

исходно был определен тип транскрипта и осуществляли его мониторинг. По данным анализа у больных, получивших лечение по протоколу «ОЛЛ-2009» с ИТК, частота достижения ПМР после 2-го курса индукционной терапии (70-й день протокола) составила 3(43%) из 7 больных, а у тех, которым проводили терапию по протоколу «ОЛЛ-2012» – у 11 (55%) из 20 больных. При этом различия в частоте не были статистически значимыми ($p > 0,05$).

Рефрактерное течение заболевания констатировано у 1 (8%) больного на протоколе «ОЛЛ-2009» с ИТК и у 1 (4%) больного на протоколе «ОЛЛ-2012».

У всех 35 больных с Ph⁺ ОЛЛ, которым проводили терапию по протоколам российской исследовательской группы, ОВ составила 55%, а БРВ – 40%. У 14 (40%) из 35 больных была выполнена ТГСК: 13 пациентам выполнили алло-ТГСК, а 1 больному – ауто-ТГСК после кондиционирования в миелоаблативном режиме в ПМР.

Анализ долгосрочных результатов не выявил улучшения показателей выживаемости 35 больных в зависимости от выполнения алло-ТГСК в 1-й ремиссии заболевания. 5-летняя ОВ 14 больных, которым была выполнена ТГСК, составила 66%, а у 21 больных, которым проводили только полихимиотерапию – 53% ($p = 0,18$). 5-летняя БРВ больных, получивших трансплантацию, составила 63%, а у больных, оставшихся на ХТ, – 25% ($p = 0,19$).

Мы выполнили однофакторный анализ ОВ и БРВ у больных в зависимости от достижения ПМР после окончания индукционной терапии (70-й день протокола) и от типа транскрипта *BCR-ABL*. 5-летняя ОВ у больных, достигших ПМР на 70-й день лечения по протоколу составила 50%, а у больных с персистенцией транскрипта на 70-й день – 58% ($p = 0,47$). 5-летняя БРВ в данных группах составила 55 и 21% соответственно ($p = 0,35$). Статистически значимых различий по итогам статистического анализа не получено. Вероятнее всего, такие результаты получены в связи с тем, что большинство больных достигали в дальнейшем, после 70-го дня терапии, ПМР в результате терапии ингибиторами 2-го и 3-го поколений. 5-летняя ОВ в зависимости от типа транскрипта составила у больных с p190 39%, с p210 – 50%, с обоими транскрип-

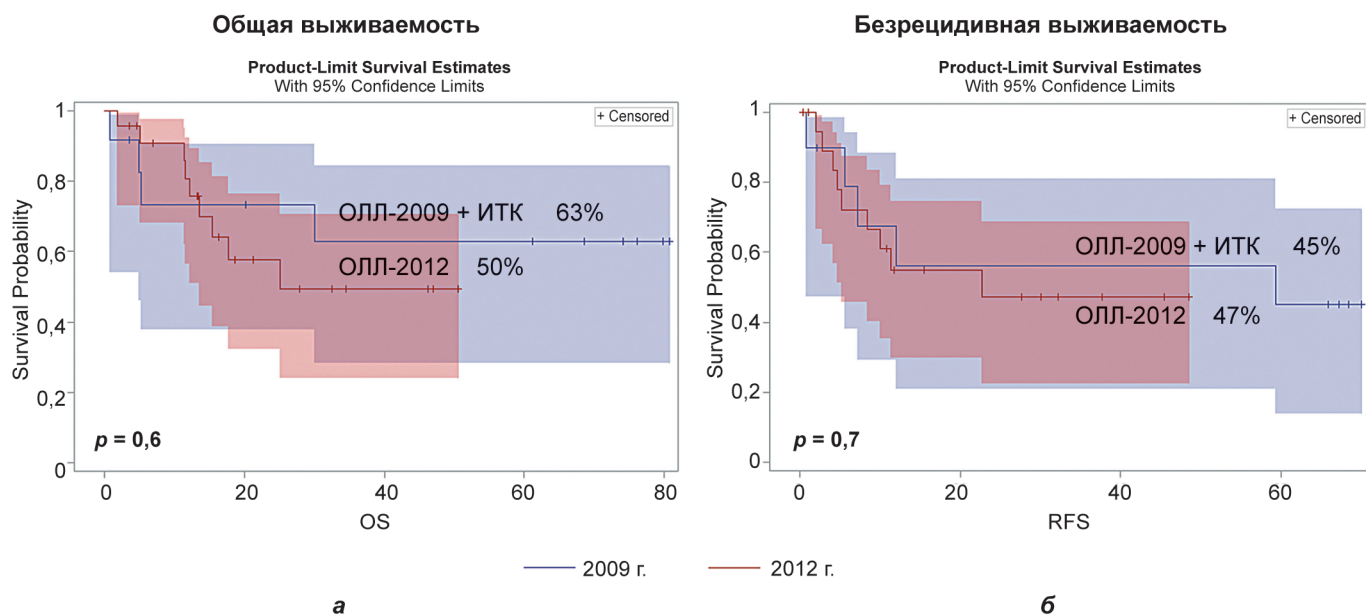


Рис. 1. Результаты терапии по протоколам «ОЛЛ-2009» с иматинибом и «ОЛЛ-2012» у больных Rh-положительным острым лимфобластным лейкозом.

а – общая выживаемость больных Rh-положительным ОЛЛ на протоколах российской исследовательской группы;
б – безрецидивная выживаемость больных Rh-положительным ОЛЛ на протоколах российской исследовательской группы.

тами – 69% ($p = 0,6$), а БРВ в тех же группах составила 44, 50 и 67% соответственно ($p = 0,71$).

Сравнительный анализ ОВ и БРВ показал отсутствие статистически значимых различий в результатах терапии на протоколах «ОЛЛ-2009» с иматинибом и «ОЛЛ-2012» (рис. 1). ОВ составила 63 и 50%, а БРВ – 45 и 47% соответственно ($p > 0,05$).

По данным многофакторного анализа, только возраст больного старше 45 лет являлся неблагоприятным фактором при выполнении обоих протоколов, что, вероятнее всего, было обусловлено летальностью больных после алло-ТГСК. Причинами летальности стали осложнения

(РТПХ, инфекции на фоне иммуносупрессивной терапии (рис. 2).

У 11 больных старше 45 лет частота летального исхода во время индукционной терапии составила 18% (против 0% в группе 24 больных 45 лет и моложе). В обеих возрастных группах зарегистрировано по 1 смерти в полной ремиссии во время выполнения консолидации. ТГСК выполнена у 4 (57%) больных старше 45 лет и у 10 (42%) больных 45 лет и моложе. При этом в группе молодых больных не было летальности, связанной с самой ТГСК, а в группе больных старше 45 лет летальность, связанная с ТГСК, составила 75% (3 из 4 больных умерли) (табл. 3).

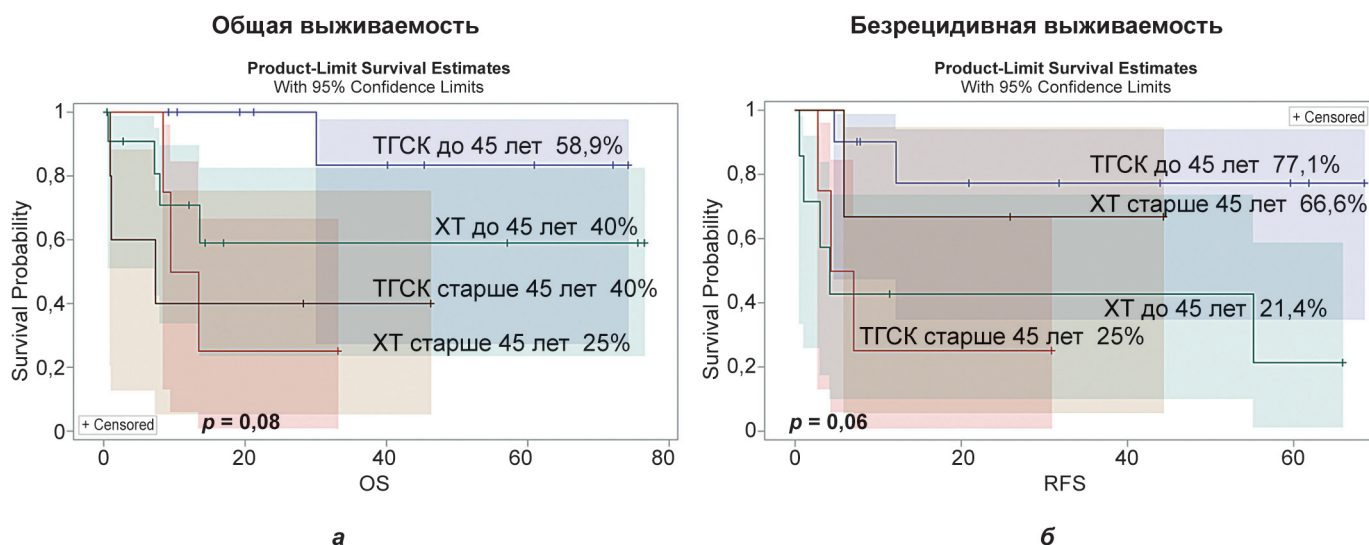


Рис. 2. Результаты терапии по протоколам «ОЛЛ-2009» с иматинибом и «ОЛЛ-2012» больных Rh-положительным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от возраста больного и выполнения ТГСК.

а – общая выживаемость больных Rh-положительным ОЛЛ на протоколах российской исследовательской группы;
б – безрецидивная выживаемость больных Rh-положительным ОЛЛ на протоколах российской исследовательской группы.

Таблица 3
Основные параметры эффективности терапии
на протоколах лечения Ph-положительных ОЛЛ
русской исследовательской группы

Параметр эффективности	ОЛЛ-2009 с ИТК (n = 12)		ОЛЛ-2012 (n = 23)	
	абс.	%	абс.	абс.
Полная ремиссия после 1-го курса индукции	10	83	20	87
Полная молекулярная ремиссия после 2-го курса индукции	3 из 7	43	11 из 20	55
Смерть в индукции	1	8	1	4
Смерть в ремиссии	1	10	1	5
Первично-рефрактерное течение	1	8	1	4
Отказ от терапии	1	8	1	8

Обсуждение

В ретроспективном многоцентровом исследовании российской группы по лечению ОЛЛ показано, что деинтенсификация химиотерапевтического воздействия на фоне постоянной терапии ИТК не повлияла на эффективность терапии, но позволила повысить выполняемость протокола у больных. Статистическая значимость различий как в скорости достижения ПМР, так и в показателях 3-летней ОВ и БРВ не получено, что позволяет рекомендовать деинтенсифицированный подход терапии согласно протоколу «ОЛЛ-2012» для этой группы больных ОЛЛ.

Также было показано, что ТГСК улучшает прогноз у больных Ph⁺ ОЛЛ только в возрасте моложе 45 лет. У больных старше 45 лет, которым выполнена ТГСК, неблагоприятные результаты, были получены в связи с тяжелыми осложнениями, такими как отторжение трансплантата, развитие тяжелой формы РТПХ и инфекционных осложнений на ее фоне. Полученные данные позволяют рассматривать для больных старше 45 лет другие варианты поздней консолидации, например, выполнение ауто-ТГСК или продолжение поддерживающей терапии химиопрепаратами и ингибиторами тирозинкиназ.

Смена ИТК при недостижении ПМР после 2,5 мес терапии позволила практически у всех больных в дальнейшем достичь полного молекулярного ответа, что, видимо, и обусловило отсутствие различий в группах больных, достигших ПМР на 70-й день и не достигших. В случаях отсутствия ПМР при применении ИТК 1-го поколения и других необходимо исследовать мутационный статус *BCR-ABL* с целью выявления мутаций, которые обуславливают резистентность к ИТК и, таким образом, повысить эффективность таргетной терапии.

Наши исследования дают возможность предположить, что возможна дальнейшая деинтенсификация терапии для больных с Ph⁺ ОЛЛ. Деинтенсификация возможна при условии терапии ИТК под контролем мониторинга минимальной резидуальной болезни с определением количества химерного транскрипта на каждом из этапов терапии. Кроме того, остается открытым вопрос о необходимости выполнения алло-ТГСК, в том числе и молодым больным, при достижении ПМР. Для больных, у которых достигнут быстрый и глубокий ответ (ПМР), возможно рассмотрение возможности выполнения ауто-ТГСК после кондиционирования в миелоаблативном режиме, что исключит осложнения связанные с аллогенным трансплантатом (РТПХ, отторжение трансплантата, инфекционные осложнения на фоне иммуносупрессивной терапии).

С учетом полученных результатов нашего исследования, мы предприняли дальнейшие изменения с

деэскалацией химиотерапевтического воздействия и разработали новый протокол «Ph⁺ALL-2012m». В протоколе полностью исключены курсы консолидации с высокими дозами метотрексата, а также введения L-аспарагиназы. В протокол включено исследование мутационного статуса с целью выявления мутаций, которые обуславливают резистентность к ИТК.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Паровичникова Е.Н. Результаты лечения Ph-положительных острых лимфобластных лейкозов взрослых по протоколу ГНЦ РАМН. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика.* 2010; 3(1): 75.
- Давидян Ю.Р., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Соколов А.Н., Клясова Г.А., Кузьмина Л.А., и др. Терапия Ph-положительного острого лимфобластного лейкоза. Результаты исследовательской группы RALL. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика.* 2011; 4(4): 315-319.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Pullarkat V., Slovak M.L., Kopecky K.J., Forman S.J., Appelbaum F.R. Impact of cytogenetics on the outcome of adult acute lymphoblastic leukemia: results of Southwest Oncology Group 9400 study. *Blood.* 2008; 111(5): 2563-72.
- Burneister T., Schwartz S., Bartram C.R., Gokbuget N., Hoelzer D., Thiel E.; GMALL study group. Patients age and BCR-ABL frequency in adult B-precursor ALL: a retrospective analysis from the GMALL study group. *Blood.* 2008; 112(3): 918-9.
- Chiaretti S., Vitale A., Cazzaniga G., Orlando S.M., Silvestri D., Fazi P., et al. Clinico-biological features of 5202 patients with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the Italian AIEOP and GIMEMA protocols and stratified in age cohorts. *Haematologica.* 2013; 98(11): 1702-10.
- Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., et al. World Health Organization classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008.
- Larson R.A., Dodge R.K., Burns C.P., Lee E.J., Stone R.M., Schulman P., et al. A five-drug remission induction regimen with intensive consolidation for adults with acute lymphoblastic leukemia. Cancer and Leukemia Group Study 8811. *Blood.* 1995; 85(8): 2025-37.
- Laport G.G., Alvarnas J.C., Palmer J.M., Snyder D.S., Slovak M.L., Cherry A.M., et al. Long-term remission of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation from matched sibling donors: a 20-year experience with the fractionated total body irradiation-etoposide regimen. *Blood.* 2008; 112(3): 903-9.
- Hoelzer D., Thiel E., Löffler H., Buchner T., Ganser A., Heil G., et al. Prognostic factors in a multicenter study for treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults. *Blood.* 1988; 71(1): 123-31.
- Gokbuget N., Hoelzer D. Treatment of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *ASH Educational Pr. Book Hematology*, 2008; 133-41. Available at: <http://asheducationbook.hematologylibrary.org/content/2006/1/133.long> (accessed 14 Dec 2017)
- Fielding A.K., Rowe J.M., Richards S.M., Buck G., Moorman A.V., Durrant I.J., et al. Prospective outcome data on 267 unselected adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia confirms superiority of allogeneic transplantation over chemotherapy in the pre-imatinib era: Results from the international ALL trial MRC UKALLXII/ECOG2993. *Blood.* 2009; 113(19): 4489-96.
- Thomas D.A., Faderl S., Cortes J., O'Brien S., Giles F.J., Kornblau S.M., et al. Treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphocytic leukemia with hyper-CVAD and imatinib mesylate. *Blood.* 2004; 103(12): 4396-407.
- Thomas D.A., Kantarjian H.M., Cortes J., Ravandi F., Faderl S., Jones D., et al. Outcome after frontline therapy with the hyper-CVAD and imatinib mesylate regimen for adults with de novo or minimally treated Philadelphia Chromosome (Ph) positive acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood.* 2008; 112(11): Abstr. 2931. Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/112/11/2931?ss-checked=true> (accessed 14 Dec 2017)
- Yanada M., Takeuchi J., Sugiura I., Akiyama H., Usui N., Yagasaki F., et al. High complete remission rate and promising outcome by combination of imatinib and chemotherapy for newly diagnosed BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia: a phase II study by the Japan Adult Leukemia Study Group. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24(3): 460-6.
- Towatary M., Yanada M., Usui N., Takeuchi J., Sugiura I., Takeuchi M., et al. Combination of intensive chemo- therapy and imatinib can rapidly induce high-quality complete remission for a majority of patients with newly diagnosed BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2004; 104(12): 3507-12.
- Lee K.H., Lee J.H., Choi S.J., Lee J.H., Seol M., Lee Y.S., et al. Clinical effect of imatinib added to intensive combination chemotherapy for newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2005; 19(9): 1509-16.
- Lee K.H., Kim Y.J., Min C.K., Kim H.J., Eom K.S., Kim D.W., et al. The effect of first-line imatinib interim therapy on the outcome of allogeneic stem cell transplantation in adults with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2005; 105(9): 3449-57.
- Wassmann B., Pfeifer H., Gokbuget N., Beelen D.W., Beck J., Steljes M., et al. Alternating versus concurrent schedules of imatinib and chemotherapy as front-line therapy for Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL). *Blood.* 2006; 108(5): 1469-77.
- de Labarthe A., Rousselot P., Huguet-Rigal F., Delabesse E., Witz F., Maury S., et al. Imatinib combined with induction or consolidation chemotherapy in

- patients with de novo Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: results of the GRAAPH-2003 study. *Blood*. 2007; 109(4): 1408–13.
18. Delannoy A., Delabesse E., Lheritier V., Castaigne S., Rigal-Huguet F., Raffoux E., et al. Imatinib and methylprednisolone alternated with chemotherapy improve the outcome of elderly patients with Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia: results of the GRAALL AFR09 study. *Leukemia*. 2006; 20(9): 1526–32.
 19. Vignetti M., Fazi P., Cimino G., Martinelli G., Di Raimondo F., Ferrara F., et al. Imatinib plus steroids induces complete remissions and prolonged survival in elderly Philadelphia chromosome-positive patients with acute lymphoblastic leukemia without additional chemotherapy: results of the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto (GIMEMA) LAL0201-B protocol. *Blood*. 2007; 109(9): 3676–8.
 20. Chiaretti S., Vitale A., Vignetti M., Piciocchi A., Fazi P., Elia L., et al. A sequential approach with imatinib, chemotherapy and transplant for adult Ph+ acute lymphoblastic leukemia: final results of the GIMEMA LAL 0904 study. *Haematologica*. 2016; 101(12): 1544–52.
 21. Foa R., Vitale A., Vignetti M., Meloni G., Guarini A., De Propriis M.S., et al. GIMEMA Acute Leukemia Working Party. Dasatinib as first-line treatment for adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2011; 118(25): 6521–8.
 22. Chalandon Y., Thomas X., Hayette S., Cayuela J.M., Abbal C., Huguet F., et al. Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (GRAALL). Randomized study of reduced-intensity chemotherapy combined with imatinib in adults with Ph-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015; 125(24): 3711–9.
 23. Moorman A.V., Harrison C.J., Buck G.A., Richards S.M., Secker-Walker L.M., Martineau M., et al. Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/ Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood*. 2007; 109(8): 3189–97.
 24. Daver N., Thomas D., Ravandi F., Cortes J., Garriss R., Jabbour E., et al. Final report of a phase II study of imatinib mesylate with hyper-CVAD for the front-line treatment of adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2015; 100(5): 653–61.
 25. Parovnichnikova E.N. Results of the treatment of Ph-positive acute adult lymphoblastic leukemia by the protocol of the State Scientific Center of the Russian Academy of Medical Sciences. *Clinical Oncohematology. Basic Research and Clinical Practice. Russian journal (Klinicheskaya onkogematologiya)*. 2010; 3(1): 75. (in Russian)
 26. Davidyan Yu.R., Parovnichnikova E.N., Troitskaya V.V., Sokolov A.N., Klyasova G.A., Kuzmina L.A., etc. Therapy of Ph-positive acute lymphoblastic leukemia. Results of the research group RALL. *Clinical oncohematology. Basic Research and Clinical Practice. Russian journal (Klinicheskaya onkogematologiya)*. 2011; 4(4): 315–9. (in Russian)
 27. Ribera J.M., Oriol A., Gonzalez M., Vidriales B., Brunet S., Esteve J., et al. Concurrent intensive chemotherapy and imatinib before and after stem cell transplantation in newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. Final results of the CSTIBES02 trial. *Haematologica*. 2010; 95(1): 87–95.
 28. Lee S.H., Kim Y.J., Chung N.G., Lim J., Lee D.G., Kim H.J., et al. The extent of minimal residual disease reduction after the first 4-week imatinib therapy determines outcome of allogeneic stem cell transplantation in adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*. 2009; 115(3): 561–70.
 29. Gokbuget N., Hoelzer D. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Semin. Hematol.* 2009; 46(1): 64–75.

Поступила 25.12.17

Принята к печати 29.12.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК УДК 616-006.448-031.13-08:615.361.4-013.3

Бабенцкая Д.В., Моторин Д.В., Петров А.В., Алексеева Ю.А., Зарицкий А.Ю.

МОБИЛИЗАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ПРЕПАРАТАМИ ЦИКЛОФОСФАМИД И ЦИТАРАБИН В СОЧЕТАНИИ С КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИМ ФАКТОРОМ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ, КАНДИДАТОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК

ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр
им. В.А. Алмазова» Минздрава России, 197341, Санкт-Петербург, Россия

Проведено сравнение разных режимов мобилизации гемопоэтических стволовых клеток: стимуляция гранулопоэза с помощью только колониестимулирующего фактора и мобилизационные режимы с применением циклофосфамида и цитарабина, произведена оценка их эффективности и токсичности. У 91% больных получен трансплантат достаточной клеточности. У больных в полной ремиссии количество CD34⁺-клеток, собранных за 1-й сеанс лейкоцитафереза и за всю мобилизацию, было больше, чем у больных без ремиссии заболевания. Выявлена значимая корреляция между количеством CD34⁺-клеток в крови в день проведения лейкоцитафереза и клеточностью полученного продукта. Общее количество полученных CD34⁺-клеток было выше при использовании мобилизации с применением химиотерапии (ХТ). При сравнении двух групп мобилизации с применением ХТ количество CD34⁺-клеток в крови в день лейкоцитафереза было незначимо выше в группе с применением цитарабина ($p = 0,173$). По другим анализируемым параметрам эффективности не было показано значимых различий между двумя группами. Показана меньшая токсичность в группе цитарабина.

Ключевые слова: мобилизация гемопоэтических стволовых клеток; трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток; множественная миелома.

Для цитирования: Бабенцкая Д.В., Моторин Д.В., Петров А.В., Алексеева Ю.А., Зарицкий А.Ю. Мобилизация гемопоэтических стволовых клеток препаратами циклофосфамида и цитарабин в сочетании с колониестимулирующим фактором у больных множественной миеломой, кандидатов для проведения трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(4): 180–187. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-180-187>

Babenetskaya D.V., Motorin D.V., Petrov A.V., Alekseeva Yu.A., Zaritskey A.Yu.

MOBILIZATION OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS WITH CYCLOPHOSPHAMIDE OR CYTARABINE IN COMBINATION WITH GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA, WHO ARE CANDIDATES FOR AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION

Federal Almazov North-West Medical Research Centre, St. Petersburg, 197341, Russian Federation

In our research the comparison of different regimes of mobilization of HSC were carried out. First regime: conduct stimulation of granulopoiesis using granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF). Other regimes: of mobilization with chemotherapy (cyclophosphamide or cytarabine). The efficiency and the toxicity were assessed. The grafts with satisfactory cellularity were obtained in 91% patients. The number of CD34⁺ cell/ml were obtained in the first apheresis and from whole mobilization in patients with complete remission (CR) were more than the number of in patients with < CR. CD34⁺ cell number in the blood correlate well with total

number of CD34⁺ yielded from apheresis in same day. The number of CD34⁺ cells/*microliter* yielded from mobilization was more in group with chemomobilization than in group with G-CSF only. In comparison two groups of chemomobilization: the number of CD34⁺ in peripheral blood in day apheresis was more in group with AraC-G-CSF; $p = 0.173$. There was revealed lesser toxicity in group with AraC-G-CSF.

Keywords: hematopoietic stem cell mobilization; hematopoietic stem cell transplantation; multiple myeloma.

For citation: Babenetskaya D.V., Motorin D.V., Petrov A.V., Alekseeva Yu. A., Zaritskey A. Yu. Mobilization of hematopoietic stem cells with cyclophosphamide or cytarabine in combination with granulocyte colony-stimulating factor in patients with multiple myeloma, who are candidates for autologous stem cell transplantation. *Russian journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 61(4): 180-187. (in Russian). doi:10.18821/0234-5730/2017-62-4-180-187

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 08 Nov 2017

Accepted 20 Nov 2017

Множественная миелома (ММ) – прогрессирующее клональное заболевание, которое до настоящего времени остается инкурабельным [1]. За последние 10–15 лет достигнуты значительные успехи в лечении благодаря лучшему пониманию патогенеза опухоли и введению программ лечения с включением новых препаратов и высокодозной химиотерапии (ХТ) с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) на этапе консолидации достигнутого ответа [2]. Проведение успешной мобилизации ГСК является важным подготовительным этапом перед трансплантацией аутологичных ГСК (ауто-ТГСК), поскольку от сбора достаточного количества ГСК зависит возможность дальнейшего проведения высокодозной ХТ. Существует несколько подходов к проведению мобилизации ГСК: стимуляция гранулопоэза с помощью гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (ГКСФ) на фоне стабильного кроветворения, стимуляция посредством проведения противорецидивных курсов ХТ в комбинации с ГКСФ или дополнительным введением среднетоксичной ХТ в монорежиме в комбинации с ГКСФ [3–7]. Каждый из способов мобилизации может быть дополнен применением новых препаратов (ингибиторы CXCR4) [8–16]. В ряде случаев, но все реже, применяют миелоэкспузию.

Наиболее часто у больных ММ в качестве комбинированного режима мобилизации применяют циклофосфамид в сочетании с малыми дозами ГКСФ [17–19]. Несмотря на высокую эффективность, проведение ХТ сопряжено с высокой частотой развития гематологических и негематологических (геморрагические циститы, кардиотоксичность) осложнений, потребностью в заместительной гемокомпонентной терапии, что удлиняет госпитализацию и увеличивает стоимость лечения. Кроме того, у некоторых больных применение циклофосфамида может быть ограничено наличием сопутствующей патологии.

В попытке найти альтернативный режим для сбора ГСК, который позволил бы уменьшить токсичность у больных гематологическими заболеваниями, было проведено несколько исследований, подтвердивших эффектив-

ность цитарабина в качестве мобилизующего агента. Комбинированный режим мобилизации с цитарабином применяли на этапе как 1-й, так и 2-й линии мобилизации ГСК (ре-мобилизация) у больных лимфопролиферативными заболеваниями [20–24]. В исследованиях обращают на себя внимание данные о приемлемой токсичности препарата.

Цель нашего проспективного исследования – оценить эффективность и токсичность комбинированного мобилизационного режима с применением цитарабина в средних дозах (1,6 г/м²) с ГКСФ в сравнении с традиционными схемами мобилизации: комбинацией циклофосфамида в дозе 4 г/м² с ГКСФ и монотерапией ГКСФ у больных ММ – кандидатов для проведения ауто-ТГСК. В ходе исследования мы также оценили влияние ХТ, используемой на этапе мобилизации, на течение посттрансплантационного периода.

Материалы и методы

Проведен проспективный анализ данных о 103 больных ММ – кандидатов для проведения ауто-ТГСК (соотношение мужчин и женщин 1:1,2; средний возраст 54 года). Больные проходили лечение в период с 2014 по 2016 гг. В исследование включали только больных с секреторирующим вариантом заболевания, т.е. при наличии парапротеинемии и/или парапротеинурии Бенс-Джонса. На момент начала мобилизационного режима у 82 (80%) из 103 больных была достигнута ремиссия заболевания: у 27 (33%) – полная ремиссия (ПР), у 32 (39%) – очень хорошая частичная ремиссия (ОХЧР), у 23 (28%) больных – частичная ремиссия (ЧР). При этом 1 больной находился во 2-й ПР, и 5 больных во 2-й ЧР. У 21 (20%) из 103 отмечалось рефрактерное течение заболевания. По используемому режиму мобилизации больных разделили на три группы. В 1-ю, 2-ю или 3-ю группы больных включали путем рандомизации (метод конвертов в соответствии 1:1:1). В 1-й группе (35 больных) схема мобилизации включала применение циклофосфамида в дозе 4 г/м² с последующей стимуляцией ГКСФ (филграстим) в дозе 5 мкг/кг в сутки с 8-го дня от начала лечения. Во 2-й группе (33 больных) мобилизацию проводили с помощью цитарабина в дозе 1,6 г/м² в комбинации с ГКСФ в тех же дозах и сроках введения. В 3-ю группу включили 35 больных, которым мобилизацию ГСК проводили на фоне стабильного кроветворения с применением только ГКСФ в дозе 10 мкг/кг в сутки в течение 5 дней до окончания последнего сеанса лейкоцитафереза (ЛА).

По полу и другим клиническим характеристиками (стадия в соответствии прогностической системой ISS, клиническая стадия по классификации Durie–Salmon [25], количество предшествующих курсов индукционной ХТ, статус заболевания перед проведением мобилизации ГСК) не выявлено значимых различий в трёх группах. В группе монотерапии ГКСФ наблюдалась меньшая частота поражения костного мозга, но большая частота пожилых больных (старше 65 лет), чем в группах с применением ХТ. Тем не менее, по доле больных с прогностическими факторами плохой мобилизации не отмечалось значимых различий в трёх группах. Прогноз плохой мобилизации был основан на больших и малых критериях. Необходимым являлось наличие по крайней

Для корреспонденции:

Бабенецкая Диана Валерьевна, врач-гематолог ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, 197341, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: dia86@mail.ru

For correspondence:

Babenetskaya D.V., hematologist of Federal Almazov North-West Medical Research Centre, St. Petersburg, 197341, Russian Federation. E-mail: dia86@mail.ru

Information about authors:

Babenetskaya D. V., <http://orcid.org/0000-0003-2700-5605>;
Motorin D. V., <http://orcid.org/0000-0001-5189-6722>;
Petrov A. V., <http://orcid.org/0000-0003-3524-311X>;
Alekseeva Yu. A., <http://orcid.org/0000-0003-4821-4158>;
Zaritskey A. Yu., <http://orcid.org/0000-0001-7682-440X>.

Таблица 1

Общая характеристика больных

Параметр	ГКСФ (n = 35)	цитарабин + ГКСФ (n = 33)	циклофосфамид + ГКСФ (n = 35)	p
Соотношение женщин и мужчин, %	60:40	48:52	54:46	0,64
Возраст больных, среднее (диапазон), годы	54 ± 8,1(38–67)	54 ± 8,1(32–65)	54 ± 7,3(34–64)	
Возраст старше 65 лет, %	20	6	0	0
Прогностическая группа по ISS, %:				
1–2-я стадия	29	30	31	0,28
3-я стадия	26	9	12	
нет данных	45	61	57	
Стадия по Durie–Salmon, %:				
II стадия	29	27	20	0,674
III стадия	72	73	80	
Вариант индукционной терапии, %:				
бортезомибсодержащая ХТ	91	94	100	0,23
бортезомиб+алкилирующие препараты	9	6		
Предшествующая терапия, %:				
одна линия	86	76	94	0,283
две линии	11	18	3	
три линии и более	3	6	3	
Статус заболевания перед проведением мобилизации	У 28 (80%) больных есть ремиссия: у 6 – ПР, у 12 – ОХЧР, у 10 – ЧР	У 25 (76%) больных есть ремиссия: у 8 – ПР, у 9 – ОХЧР, у 8 – ЧР	У 9 (83%) больных есть ремиссия: у 13 – ПР, у 11 – ОХЧР, у 5 – ЧР	0,766
Медиана времени от постановки диагноза до начала мобилизации, среднее (диапазон), мес	12 ± 7,4 (5–37)	12 ± 8 (4–35)	10 ± 5,4 (4–34)	
Поражение костного мозга (плазмцитоз более 5%), % больных	3	24	14	0,036
Высокий риск неудачи мобилизации, % больных	29	36	17	0,199

мере одного большого или двух малых критериев. К большим критериям относилось наличие предшествующей лучевой терапии, наличие в анамнезе курсов ХТ с включением миелотоксичных препаратов (мелфалан, более четырех курсов ХТ с применением препарата леналидомид). К малым критериям относилось наличие в анамнезе двух и более предшествующих линий ХТ, поражение костного мозга (плазмцитоз 5% и более), низкая клеточность костного мозга (30% и менее), тромбоцитопения на момент начала мобилизации, пожилой возраст (старше 65 лет) [3, 6]. В группе циклофосфамид + ГКСФ и цитарабин + ГКСФ статистически значимых различий по всем анализируемым клиническим характеристикам не выявлено. Общая характеристика больных представлена в табл. 1.

Цитарабин вводили путем внутривенных инфузий в дозе 1,6 г/м² в течение 2 ч. Циклофосфамид вводили в дозе 2 г/м² в 1-й и 2-й дни (общая доза 4 г/м²) на фоне объемной гидратационной терапии (3 л) и профилактического введения уромитекса (месна) с целью профилактики геморрагического цистита. ГКСФ (филграстим) в дозе 5 мкг/кг в сутки вводили с 8-го дня от начала терапии до последнего дня ЛА. Профилактическая противорвотная терапия включала назначение ондансетрона 2 раза по 8 мг в сутки внутривенно. Профилактическая противовирусная терапия включала ацикловир 800 мг/сут. Профилактическую антибактериальную и антифунгальную терапию не проводили. Для введения ХТ не требовалось постановки центрального венозного катетера.

Заместительную гемокомпонентную терапию проводили при снижении гемоглобина ниже 75 г/л и/или наличии клинического анемического синдрома с концентрацией тромбоцитов менее 10 × 10⁹/л, а при наличии геморрагического диатеза – менее 20 × 10⁹/л. При возникновении инфекционных осложнений системную антибактериальную терапию назначали в соответствии с внутренними протоколами отделения.

В группах с применением комбинированных режимов ХТ и ГКСФ у больных, перенесших нейтропению 3–4-й степени, с момента стабильного повышения абсолютного числа нейтрофилов более 1,0 × 10⁹/л (на 2-й день) проводили оценку показателей CD34⁺-клеток в периферической крови. У остальных больных оценку циркулирующих CD34⁺-клеток проводили в 1-й день,

когда было отмечено увеличение концентрации нейтрофилов. В группе с применением только мобилизации ГКСФ оценку концентрации уровня CD34⁺-клеток проводили на 5-й день стимуляции гранулопоэза. Подсчет проводили методом проточной цитофлюориметрии с использованием моноклональных антител. При концентрации CD34⁺-клеток в периферической крови более 15 клеток в 1 мкл в тот же день проводили 1-й сеанс ЛА на аппаратах Coba Spectra или Opria Spectra, обрабатывали два объема циркулирующей крови. Если минимальная необходимая концентрация циркулирующих CD34⁺-клеток не достигалась, продолжали ежедневное введение ГКСФ и мониторинг количества CD34⁺-клеток в крови, пока количество циркулирующих CD34⁺-клеток не увеличивалось в сравнении с предыдущими днями наблюдения. Критерием эффективности считалось получение таргетного количества клеток, составлявшего не менее 2 × 10⁶ CD34⁺-клеток на 1 кг массы тела реципиента, оптимальным считалось получения трансплантата клеточностью не менее 5 × 10⁶ CD34⁺-клеток на 1 кг массы тела реципиента. Собранные клетки подвергались криоконсервации с применением криопротекторов (10% диметилсульфоксид) в жидком азоте.

Было проведено 172 сеанса ЛА у 98 (95%) из 103 больных после мобилизации ГКС.

В случае заготовки достаточного количества ГСК, отсутствия абсолютных противопоказаний, подписания пациентом информированного согласия проводили высокодозную ХТ мелфаланом с последующей ауто-ТГСК.

Для кондиционирования использовали стандартный режим высокодозной ХТ: мелфалан 200 мг/м². Из 94 больных, которым удалось заготовить достаточное количество CD34⁺-клеток (не менее 2 млн CD34⁺-клеток на 1 кг массы тела реципиента), ауто-ТГСК была выполнена 82 больным. После применения ре-мобилизации ГСК еще 2 больным была выполнена ауто-ТГСК. При наличии углубления ответа после 1-й ауто-ТГСК и достижения менее чем ОХЧР у 2 больных была выполнена тандемная ауто-ТГСК. У 1 больного, перенесшего поздний рецидив заболевания, после 1-й ауто-ТГСК была проведена повторная ауто-ТГСК. Приживление трансплантата оценивали при стабильном восстановлении показателей нейтрофилов и тромбоцитов после максимального их снижения.

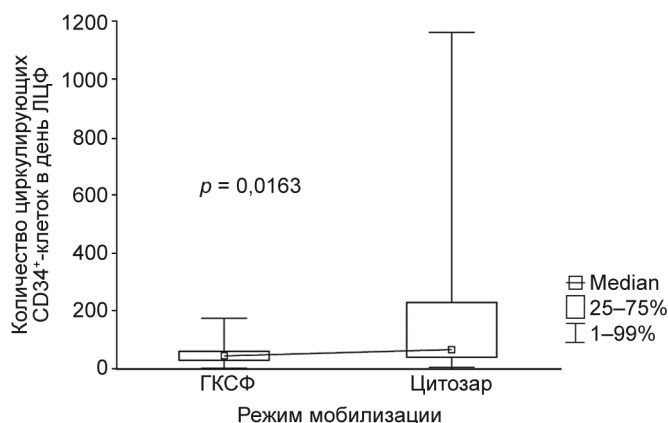


Рис. 1. Количество циркулирующих CD34⁺-клеток в сутки ЛА при комбинированном режиме мобилизации цитарабин + ГКСФ и режиме монотерапии ГКСФ.

Восстановление лейкоцитов определялось в 1-й из трех последовательных дней, когда их показатели достигали более $1 \times 10^9/\text{л}$. Восстановление тромбоцитов определяли в 1-й из последовательных дней, когда их концентрация достигала $50 \times 10^9/\text{л}$ и более без потребности в проведении заместительной гемокомпонентной терапии.

Для оценки эффективности мобилизационного режима оценивали: количество больных, у которых в результате проведения мобилизации и ЛА удалось получить трансплантат с таргетным и оптимальным количеством CD34⁺-клеток; количество проведенных сеансов ЛА, потребовавшееся для получения таргетного количества CD34⁺-клеток в трансплантате (медиана); количество CD34⁺-клеток, полученных за одну процедуру ЛА (медиана); общее количество CD34⁺-клеток в конечном продукте за всю мобилизацию (медиана).

Статистическую обработку данных проводили с помощью параметрических и непараметрических методик с использованием программных пакетов для статистической обработки Statistica 10.0. Описательная статистика для количественных признаков представлена в виде медианы, в квадратных скобках указаны квантили медианы.

Результаты

Анализ циркулирующих CD34⁺-клеток в периферической крови. При сравнении трех групп количество циркулирующих CD34⁺-клеток в периферической крови в день ЛА было выше в группе с применением ХТ в комбинации с ГКСФ: в группе монотерапии ГКСФ медиана 45 (28;63) кл/мкл против 67 (39;232) кл/мкл в группе цитарабин + ГКСФ и 53 (33;74) кл/мкл в группе циклофосфамид + ГКСФ. При сравнении комбинированного режима цитарабин + ГКСФ и монотерапии ГКСФ было выявлено значимо большее количество циркулирующих CD34⁺-клеток в группе цитарабин + ГКСФ ($p = 0,01$; **рис. 1**). При сравнении двух режимов с применением ХТ, при использовании цитарабина в комбинации с ГКСФ наблюдалось большее количество циркулирующих CD34⁺-клеток в периферической крови, однако различия не были статистически значимы ($p = 0,173$; **рис. 2**). Была выявлена значимая корреляция между количеством CD34⁺-клеток в периферической крови в день ЛА и количеством клеток, полученным в этот же день в результате процедуры ($r = 0,779$; $p = 0,035$; **рис. 3**).

При анализе данных было показано, что из 95 больных, имевших не менее 20 CD34^+ -клеток в 1 мкл, у 67 (71%) за 1-й сеанс ЛА удалось получить трансплантат достаточной клеточности (не менее $2 \times 10^6 \text{ CD34}^+$ -клеток на 1 кг массы тела реципиента), а у 35 (37%) получен трансплантат с клеточностью более $5 \times 10^6 \text{ CD34}^+$ -клеток на 1 кг массы тела. В тоже время у всех больных с концентрацией

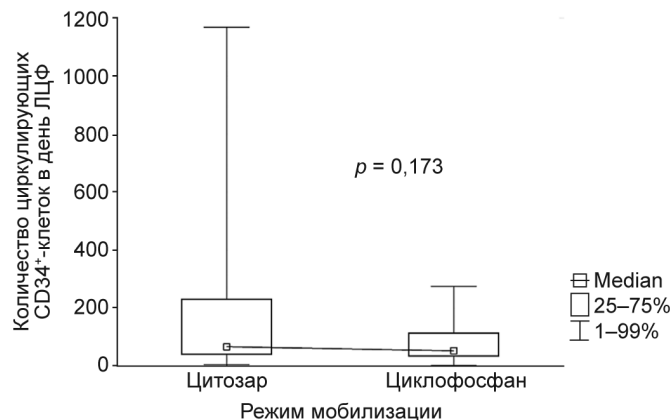


Рис. 2. Количество циркулирующих CD34⁺-клеток в сутки ЛА при комбинированных режимах мобилизации: цитарабин + ГКСФ и циклофосфамид + ГКСФ.

циркулирующих CD34⁺ не более 20 кл/мкл не удалось заготовить даже минимально необходимого количества CD34⁺-клеток за 1-й сеанс ЛА ($p < 0,05$).

Анализ сбора ГСК. Процедура ЛА проведена на 5-й день от начала введения ГКСФ у 34 из 35 больных в группе монотерапии ГКСФ. У пациентов, получавших ХТ, ЛА проводили на 15-й день (медиана). У 31 (94%) из 33 больных в группе цитарабин + ГКСФ и 33 (94%) из 35 больных в группе циклофосфамид + ГКСФ был проведен сеанс ЛА.

Количество собранных CD34⁺-клеток за всю мобилизацию было значимо выше в группах, где применяли комбинированный режим мобилизации ГСК (цитарабин + ГКСФ/циклофосфамид + ГКСФ), чем в группе монотерапии ГКСФ: медиана $4,5 \times 10^6/\text{кг}$ против $7,6 \times 10^6/\text{кг}$ в группе циклофосфамид + ГКСФ и $7,8 \times 10^6$ в группе цитарабин + ГКСФ ($p = 0,0001$). При сравнении групп цитарабин + ГКСФ и циклофосфамид + ГКСФ статистической разницы не получили ($p = 0,8$).

Для сбора таргетного количества CD34⁺-клеток в группе с применением ХТ требовался в среднем один сеанс ЛА, в то время как в группе монотерапии ГКСФ требовалось два сеанса ЛА; $p = 0,0053$ (**рис. 4**).

Медиана количества CD34⁺-клеток, собранных за 1-й сеанс ЛА также была значимо меньше в группе монотерапии ГКСФ ($2,1 \times 10^6/\text{кг}$ против $4,6 \times 10^6/\text{кг}$ в группе

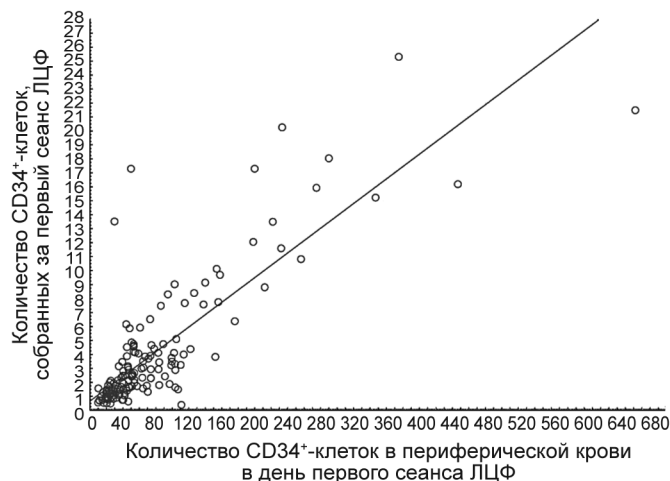


Рис. 3. Зависимость между количеством CD34⁺-клеток в периферической крови и клеточностью продукта за 1-й сеанс ЛА.

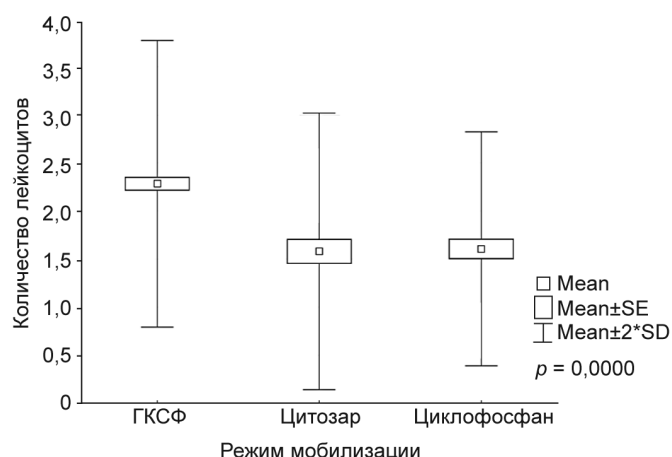


Рис. 4. Количество сеансов ЛА, потребовавшееся для сбора целевого количества CD34⁺-клеток.

циклофосфамид + ГКСФ и $3,9 \times 10^6/\text{кг}$ в группе цитарабин + ГКСФ); $p = 0,002$ (рис. 5).

Между группами с применением комбинированных режимов мобилизации цитарабин + ГКСФ и циклофосфамид + ГКСФ не выявлено статистической разницы по количеству CD34⁺-клеток, собранных за 1-й сеанс ЛА ($p = 0,941$) и по количеству необходимых ЛА для сбора целевой клеточности трансплантата ($p = 0,716$).

Эффективность мобилизации ГСК и результаты сбора ГСК. В группе ГКСФ у 32 (91%) из 35 больных удалось заготовить целевое количество (не менее 2×10^6 клеток на 1 кг массы тела реципиента) CD34⁺-клеток за всю мобилизацию; в группе с применением ХТ эти показатели были равны соответственно: 29 (88%) из 33 больных в группе цитарабин + ГКСФ и 33 (94%) из 35 больных в группе циклофосфамид + ГКСФ ($p > 0,05$).

Различия в трех группах были получены при анализе сбора целевого количества CD34⁺-клеток за 1-й сеанс ЛА ($p < 0,05$).

Значимые различия также были получены при анализе сбора оптимального количества CD34⁺ (не менее 5×10^6 клеток на 1 кг массы тела реципиента) клеток за всю мобилизацию и за 1-й сеанс ЛА ($p < 0,005$). Результаты анализа представлены в табл. 2.

Влияние предикторов плохой мобилизации на результаты сбора CD34⁺-клеток. Процедуры мобилизации и афереза ГСК вне ремиссии проводили у 21 (20%) из 103 больных, медиана плазмцитоза в этой группе

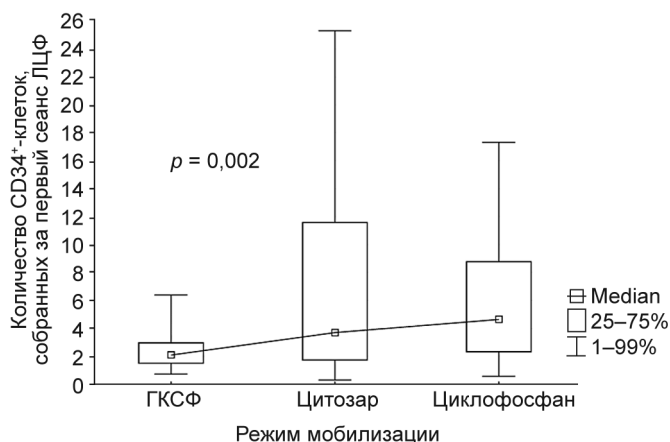


Рис. 5. Количество CD34⁺-клеток, собранных за 1-й сеанс ЛА при разных режимах мобилизации.

Таблица 2

Эффективность мобилизации ГСК при разных режимах ($p < 0,005$)

Параметр	Эффективность мобилизации ГСК при разных режимах					
	ГКСФ (n = 35)		цитарабин + ГКСФ (n = 33)		циклофосфамид + ГКСФ (n = 35)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Заготовлено CD34 ⁺ -клеток:						
не менее 2 млн за 1-й сеанс ЛА	18	51	23	70	26	74
не менее 5 млн за всю мобилизацию	11	31	17	52	23	66
не менее 5 млн за 1-й сеанс ЛА	5	14	13	39	17	49

составила 9,6% (диапазон 5,2–18,4%). Подтверждено, что резистентное течение заболевания является значимым предиктором неудачи мобилизации. В группе с резистентным течением только у 90% больных удалось заготовить трансплантат достаточной клеточности (не менее 2×10^6 клеток на 1 кг массы тела) и у 33% трансплантат клеточностью не менее 5×10^6 клеток на 1 кг массы тела реципиента. В группе больных с ремиссией заболевания эти показатели были выше; $p = 0,044$ (рис. 6).

Токсичность. У 28 (80%) из 35 больных после мобилизации циклофосфамидом в комбинации с ГКСФ наблюдалась нейтропения 4-й степени, медиана длительности составила 3 дня (диапазон 0–9 дней). В тоже время в группе после мобилизации комбинированным режимом цитарабин + ГКСФ не отмечено значимой нейтропении. Развитие гематологической токсичности в группе циклофосфамид + ГКСФ ассоциировалось с развитием у 15 (43%) из 35 больных инфекционных осложнений, потребовавших применения системной антибактериальной терапии; в том числе тяжёлых инфекций (сепсис, пневмония) у 2 (6%) больных. В группе цитарабин + ГКСФ только у 3 (9%) из 33 больных наблюдалась фебрильная нейтропения. Тяжёлых инфекционных осложнений не зафиксировано. Разница в двух группах по наличию инфекционных осложнений была статистически значимой ($p = 0,001$). Глубокая тромбоцитопения (менее $20 \times 10^9/\text{л}$) в группе циклофосфамид + ГКСФ наблюдалась у 8 (23%) из 35 больных, в группе цитарабин + ГКСФ у 2 (6%) из 33 больных, медиана минимальной тромбоцитопении – $48 \times 10^9/\text{л}$ в группе циклофосфамид + ГКСФ (диапазон $5\text{--}148 \times 10^9/\text{л}$) против $61 \times 10^9/\text{л}$ (диапазон

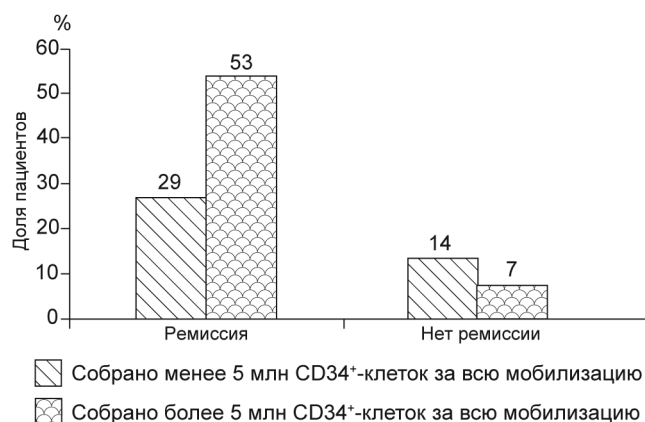


Рис. 6. Эффективность мобилизации ГСК в зависимости от статуса заболевания.

Таблица 3
Токсичность разных режимов мобилизации ГСК

Параметр	Циклофосфамид + ГКСФ (n = 35)	Цитарабин + ГКСФ (n = 33)	p
Гематологическая токсичность 4-й степени:			
нейтропения	28 (80%)	0	0,0000
длительность нейтропении, медиана (диапазон), сут	3 (0–9)	–	
тромбоцитопения	8 (23%)	2 (6%)	0,041
минимальная тромбоцитопения, медиана (диапазон)	48 (5–148)	67 (9–190)	
Потребность в трансфузиях компонентов крови	7 (20%)	2 (6%)	0,09
Инфекционные осложнения:			
фебрильная нейтропения, потребовавшая применения системной антибактериальной терапии	15 (43%)	3 (9%)	0,0000
тяжелые инфекции (септицемия, пневмония)	2 (6%)	0	0,0000

9–190 × 10⁹/л) в группе цитарабин + ГКСФ. Потребность в трансфузиях компонентов крови (тромбоконцентрат, эритроцитарная взвесь) в группе циклофосфамид + ГКСФ составила 21% против 7% в группе цитарабин + ГКСФ (табл. 3).

Анализ продолжительности госпитализации.

Средняя длительность госпитализации больных в группе ГКСФ была короче, чем в группе, где использовали мобилизацию ГСК на основе ХТ: средняя длительность госпитализации 13 ± 7,0 дней в группе монотерапии ГКСФ, 21 ± 4,5 дней в группе циклофосфамид + ГКСФ и 21 ± 3,8 дней в группе цитарабин + ГКСФ. Между группами цитарабин + ГКСФ и циклофосфамид + ГКСФ различий по продолжительности пребывания пациентов в стационаре не получено ($p = 0,76$).

Анализ посттрансплантационного периода. Ауто-ТГСК была выполнена 88 (85%) из 103 больных ММ; двойная ауто-ТГСК была выполнена 3 (3%) из 103 больных. У 5 больных из группы циклофосфамид + ГКСФ и 8 больных из группы цитарабин + ГКСФ ауто-ТГСК не была проведена, из них: у 2 больных наблюдалась прогрессия основного заболевания, у 5 больных отмечалась недостаточная клеточность ауто-трансплантата, у 1 больного планируется ауто-ТГСК, 5 больных отказались от интенсивного лечения.

Количество реинфузируемых ГСК в Д0 ауто-ТГСК было значимо больше при использовании ХТ в период мобилизации ГСК: в группе ГКСФ медиана $2,6 \times 10^6$ клеток на 1 кг массы тела реципиента [2, 3], в группе циклофосфамид + ГКСФ медиана $4,0 \times 10^6$ клеток на 1 кг массы тела [3, 6], в группе цитарабин + ГКСФ медиана $4,7 \times 10^6$ клеток на 1 кг массы тела [3, 9].

Различия между группой цитарабин + ГКСФ и циклофосфамид + ГКСФ оказались незначимыми ($p = 0,901$).

Сроки восстановления гемопоэза не различались при сравнении трех групп. Время восстановления тромбопоэза (тромбоциты более 50×10^9 /л) после ауто-ТГСК в группе монотерапии ГКСФ составило $15,3 \pm 5,1$ (диапазон 11–45) дней, в группе цитарабин + ГКСФ $14,3 \pm 3,1$ (диапазон 10–21), в группе циклофосфамид + ГКСФ $14,7 \pm 3,4$ (диапазон 9–26) дней.

Сроки восстановления гранулопоэза также не имели различий при сравнении трех групп: $13,4 \pm 4,4$ (диапазон 10–48) дней в группе ГКСФ, $13,7 \pm 2,6$ (диапазон 9–21)

дней в группе циклофосфамид + ГКСФ, $13,7 \pm 2,1$ (диапазон 10–17) дней в группе цитарабин + ГКСФ. Не получено значимой корреляции между количеством реинфузируемых ГСК и сроками восстановления гранулопоэза ($r < 0,05$).

Применение ХТ (циклофосфамид/цитарабин) в рамках мобилизации ГСК перед ауто-ТГСК не привело к углублению ремиссии ни у одного больного.

Обсуждение

Проведение успешной мобилизации ГСК является важным подготовительным этапом перед ауто-ТГСК, поскольку от сбора достаточного количества ГСК зависит возможность дальнейшего лечения, выход на высокодозный этап консолидационной терапии. В последние годы у 99% случаев больных ММ в качестве источника стволовых клеток используют ГСК, полученные из периферической крови путем аппаратного ЛА [26]. Существует несколько подходов к проведению мобилизации ГСК. Первый подход включает в себя мобилизацию ГСК на фоне стабильного кроветворения с применением только росто-вых факторов (наиболее часто ГКСФ). В других случаях используется мобилизация ГСК на основе противорецидивных схем лечения основного заболевания или применяются отдельные химиотерапевтические мобилизационные режимы. В нашем исследовании у 103 больных проводили три разных режима мобилизации: с применением только ГКСФ, комбинированные режимы мобилизации с ХТ – цитарабин + ГКСФ и циклофосфамид + ГКСФ. Монотерапия ГКСФ получила широкое распространение благодаря хорошо прогнозируемой кинетике мобилизации, позволяющей предсказуемо запланировать дату ЛА [27, 28]. Поэтому этот способ является наиболее быстрым и экономически выгодным. В нашем исследовании данный способ мобилизации показал высокую эффективность: частота неудач мобилизации составила 12,5%. При этом только в группе монотерапии ГКСФ были показаны наименьшие сроки пребывания в стационаре (средняя длительность пребывания 13 дней против 21 дней в группе с применением ХТ).

Тем не менее, применение ХТ в качестве мобилизации показывает свое преимущество по эффективности в сравнении с использованием только ГКСФ – по данным литературы, примерно у 95–60% больных удается произвести забор достаточного количества ГСК [29].

Вместе с тем, обладая высокой эффективностью, этот способ имеет свои недостатки.

Препараты, входящие в разработанные для лимфом схемы поли-ХТ, часто обладают повреждающим действием на ГСК, высокотоксичны и поэтому реже применяются у больных ММ. Применение отдельных монорежимов ХТ, наиболее часто циклофосфамида в дозе 4–7 г/м², также может быть ограничено у некоторых больных ввиду сопутствующей патологии, сопряжено с высокой частотой развития гематологических и негематологических (геморрагические циститы, кардиотоксичность, инфекции) осложнений, высокой потребностью в заместительной гемокомпонентной терапии, что удлиняет госпитализацию больных и увеличивает стоимость лечения [30–32].

В нашем исследовании мобилизационный режим с использованием циклофосфамида в дозе 4 г/м² в комбинации с ГКСФ также превосходил режим мобилизации с применением только ГКСФ по всем показателям эффективности (количество больных, у которых удалось получить трансплантат с таргетным и оптимальным количеством CD34⁺-клеток; количество циркулирующих CD34⁺-клеток в периферической крови в день афереза; количество собранных CD34⁺-клеток за всю мобилизацию и за 1-й

сеанс ЛА; количество сеансов ЛА, необходимых для сбора таргетного количества CD34⁺-клеток). Токсичность ХТ была сопоставима с данными литературы [30–32]. Наблюдалась высокая частота гематологической токсичности (у 80% больных развитие нейтропении 4-й степени, у 23% – тромбоцитопении 4-й степени), что ассоциировалось с развитием инфекционных осложнений у 43% больных и частой потребностью в гемокомпонентной поддержке (20% больных). Такие характерные для циклофосфида осложнения, как кардиотоксичность и острые геморрагические циститы, в нашем исследовании встречались редко (только у 3% больных) – вероятно, в связи с меньшей применяемой дозой циклофосфида.

В попытке найти альтернативный режим мобилизации для сбора ГСК, который был бы эффективен и наименее токсичен, в последнее время было проведено несколько исследований, подтвердивших эффективность цитарабина в качестве мобилизующего агента при применении как в 1-й, так и во 2-й линии (ре-мобилизация) у больных лимфопролиферативными заболеваниями. В исследовании Т. Kruzel и соавт. [20] показана успешная ре-мобилизация с применением средних доз цитарабина (суммарно 1,6 г/м² или 2,4 г/м²) у 8 (100%) больных ММ и 5 больных лимфомами. У всех больных ранее была выполнена неудачная мобилизация при использовании режимов циклофосфида в дозе 4 и 1,5 г/м² в комбинации с ГКФС, ДНАР (цисплатин, цитарабин, дексаметазон), ICE (ифосфамид, карбоплатина, этопозид), R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубин, винкристин, преднизолон). Наблюдаемая эффективность оставалась высокой при применении разных доз цитарабина. У 71,5% больных требовался только один сеанс ЛА для сбора достаточного количества CD34⁺-клеток, также отмечена приемлемая токсичность терапии.

В другом схожем исследовании [21] у 33 больных лимфомами, у которых была, по крайней мере, одна неудачная попытка мобилизации, также показана высокая эффективность ре-мобилизации с использованием средних доз цитарабина (суммарно 1,6 г/м²): успешная мобилизация у 96,8% больных, среднее число необходимых ЛА 1,8; медиана CD34⁺ 4,69 × 10⁶ клеток на 1 кг массы тела реципиента; все больные проходили лечение амбулаторно.

Ретроспективное сравнение [22] двух режимов мобилизации в 1-й линии терапии с применением средних доз цитарабина (суммарно 1,6 г/м²) или циклофосфида (суммарно 4 г/м²) у 115 больных лимфопролиферативными заболеваниями показало преимущество использования цитарабина: успешная мобилизация у 97% больных в группе цитарабина (против 62% в группе циклофосфида), медиана CD34⁺ 14,1 × 10⁶ клеток на 1 кг массы тела реципиента (против 5,1 × 10⁶ клеток на 1 кг массы тела в группе циклофосфида); у 91% больных в группе цитарабина потребовался только 1 сеанс ЛА (против 24% в группе циклофосфида); отмечалась меньшая токсичность режима мобилизации и меньшая длительность агранулоцитоза после ауто-ТГСК в группе цитарабина (11 против 12 дней).

Результаты другого мультицентрового исследования [23] также подтверждают преимущество использования средних доз цитарабина (1,6 г/м²) в сравнении со схемой ДНАР у 51 больных лимфогранулематозом и у 50 больных неходжкинской лимфомой. Успешная мобилизация наблюдалась у 96% больных (против 71% в группе ДНАР), медиана CD34⁺ 9,3 млн на 1 кг массы тела реципиента (против 5,6 млн на 1 кг массы тела), меньшее число необходимых сеансов ЛА, меньшая потребность в гемокомпонентной поддержке.

В еще одном исследовании [24] также подтверждена высокая эффективность мобилизации с использованием

цитарабина в монорежиме (доза 4,8 г/м²) и в составе поли-ХТ ДНАР у 52 больных ММ, имеющих прогностические факторы плохой мобилизации (предлеченность мелфаланом), неэффективную предшествующую попытку мобилизации ГСК и выраженную коморбидность.

Прямого сравнительного исследования мобилизационного режима с цитарабином в 1-й линии с традиционными наиболее широко используемыми режимами мобилизации в группе больных ММ не проводили.

Таким образом, нам представлялось актуальным сопоставить по эффективности и токсичности три мобилизационных режима: с цитарабином в средних дозах (1,6 г/м²), с циклофосфамидом в дозе 4 г/м² и монотерапию ГКФС. Эффективность режима мобилизации с применением цитарабина также превосходила монотерапию ГКФС ($p < 0,005$). При сравнении же с комбинированным режимом мобилизации циклофосфамид 4 г/м² + ГКФС режим с цитарабином в средних дозах не уступал ни по одному исследованному параметру эффективности. Более того, при оценке некоторых показателей эффективности, таких как количество циркулирующих CD34⁺-клеток, было показано преимущество мобилизационного режима с применением цитарабина, хотя разница не была статистически значимой ($p = 0,173$). Однако при оценке токсичности лечения было выявлено несомненное преимущество мобилизационного режима с применением цитарабина в сравнении с традиционным режимом мобилизации циклофосфамидом. В группе цитарабина гематологическая токсичность и частота ассоциируемых с ней инфекционных осложнений были значимо меньше: ни у одного из пациентов не развилось нейтропении 4-й степени, в 4 раза реже отмечались тромбоцитопении. Частота инфекционных осложнений составила 9%, ни у одного из больных не отмечалось тяжелых инфекций. Кардиотоксичности на фоне лечения цитарабином также не отмечено. Дискуссионным остается вопрос о способности режимов мобилизации с применением ХТ углубить антимиеломный ответ и оказывать влияние на посттрансплантационную выживаемость [33]. В нашем исследовании применение ХТ (циклофосфамид/цитарабин) в рамках мобилизации ГСК перед ауто-ТГСК не привело к углублению ремиссии ни у одного больного. По количеству ре-инфузируемых ГСК в Д0 ауто-ТГСК группы получавших циклофосфамид + ГКФС и цитарабин + ГКФС не различались, по срокам восстановления гемопоэза в посттрансплантационном периоде в этих двух группах различий также не отмечено.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Покровская О.С. Механизм действия и клиническая эффективность антагониста хемокинового рецептора CXCR4 плериксафора при мобилизации гемопоэтических стволовых клеток. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2012; 5(4): 371–9.
- Михайлова Н.Б., Алянский А.Л., Кондакова Е.В., Залялов Ю.Р., Бабенко Е.В., Сергеев В.С. и др. Мобилизация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) препаратом Плериксафор (Мозобайл) в сочетании с колониестимулирующим фактором у пациентов с предшествующими неудачами получения трансплантата для ауто-трансплантации ГСК. *Современная онкология*. 2014; 16(1): 48–52.
- Кучер М.А., Моталкина М.С., Климова О.У., Кондакова Е.В., Калашникова О.Б., Алексеев С.М. и др. Плериксафор у пациентов со сниженной мобилизационной способностью аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2016; 9(2): 155–61.
- Покровская О.В., Менделеева Л.П., Урнова Е.С., Гапонова Т.В., Гальцева И.В., Кузьмина Л.А. и др. Влияние бортезомиба на эффективность мобилизации гемопоэтических стволовых клеток крови у больных множественной миеломой. *Терапевтический архив*. 2012; 84(7): 35–41.

27. Степанов А.А., Коротаев Е.В., Бессмельцев С.С., Рабинович В.И., Астахова Л.П., Пономарев С.А. и др. Алгоритм получения гемопоэтических стволовых клеток из периферической крови для аутологичной трансплантации. *Российский биомедицинский журнал*. 2013; 14(2): 255–65.

Остальные источники литературы пп. 1–7, 10–15, 17, 18, 20–26, 28–33 см. в References.

REFERENCES

- Kumar S.K., Rajkumar S.V., Dispenzieri A., Lacy M.G., Hayman S.R., Buadi F.K., et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood*. 2008; 111(5): 2516–20.
- Ljungman P., Bregni M., Brune M., Cornelissen J., de Witte T., Dini G., et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 45(2): 219–34.
- Salvino M.A., Ruiz J. Hematopoietic progenitor cell mobilization for autologous transplantation – a literature review. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. 2016; 38(1): 28–36.
- Olivieri A., Marchetti M., Lemoli R., Tarella C., Iacone A., Lanza F., et al. Proposed definition of ‘poor mobilizer’ in lymphoma and multiple myeloma: an analytic hierarchy process by ad hoc working group Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 47(3): 342–51.
- Mohty M., Hubel K., Kroger N., Aljurf M., Apperley J., Basak G.W., et al. Autologous haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma and lymphoma patients: a position statement from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2014; 49(7): 865–872.
- Giralt S., Costa L., Schriber J., Dipersio J., Maziarz R., McCarty J., et al. Optimizing autologous stem cell mobilization strategies to improve patient outcomes: consensus guidelines and recommendations. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2014; 20(3): 295–308.
- Ford C.D., Greenwood J., Anderson J., Snow G., Petersen F.B. CD34⁺ cell adhesion molecule profiles differ between patients mobilized with granulocyte-colony-stimulating factor alone and chemotherapy followed by granulocyte-colony-stimulating factor. *Transfusion*. 2006; 46(2): 193–8.
- Pokrovskaya O.S. Mechanism of action and clinical activity of CXCR4 Plerixafor in stem cell mobilization. *Clinical oncohematology. Basic research and clinical practice. Russian journal (Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2012; 5(4): 371–9. (in Russian)
- Mikhailova N.B., Alianskiy A.L., Kondakova E.V., Zalyalov Yu.P., Babenko E.V., Sergeev V.S., et al. Mobilization of hematopoietic stem cells (HSCs) by using Plerixafor (Mozobail) in combination with colony-stimulating factor in patients with previous failure transplant procurement for autotransplantation of HSCs. *Russian Journal of Modern Oncology (Sovremennaya onkologiya)*. 2014; 16(1): 48–52. (in Russian)
- Bilgin Y.M., de Greef G.E. Plerixafor for stem cell mobilization: the current status. *Curr. Opin. Hematol*. 2016; 23(1): 67–71.
- DiPersio J.F., Micallef I.N., Stiff P. J., Bolwell B.J., Maziarz R.T., Jacobsen E., et al. Phase III prospective randomized double-blind placebo-controlled trial of plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor compared with placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for autologous stem-cell mobilization and transplantation for patients with non-Hodgkin lymphoma. *J. Clin. Oncol*. 2009; 27(28): 4767–73.
- Basak G.W., Jaksic O., Koristek Z., Mikala G., Basic-Kinda S., Mayer J., et al. Haematopoietic stem cell mobilization with plerixafor and G-CSF in patients with multiple myeloma transplanted with autologous stem cells. *Eur. J. Haematol*. 2011; 86(6): 488–95.
- Hubel K., Fresen M.M., Apperley J.F., Basak G.W., Douglas K. W., Gabriel I.H., et al. European data on stem cell mobilization with plerixafor in non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma patients—a subgroup analysis of the European Consortium of stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 47(8): 1046–50.
- Malard F., Kroger N., Gabriel I.H., Hubel K., Apperley J.F., Basak G.W., et al. Plerixafor for autologous peripheral blood stem cell mobilization in patients previously treated with fludarabine or lenalidomide. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2012; 18(2): 314–7.
- Basak G.W., Wiktor-Jedrzejczak W., Apperley J.F., Douglas K.W., Gabriel I.H., Gheraldes C., et al. Higher BMI is not a barrier to stem cell mobilization with standard doses of plerixafor and G-CSF. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 47(7): 1003–5.
- Kucher M.A., Motalkina M.S., Klimova O.U., Kondakova E.V., Kalashnikova O. B., Alekseev S.M., et al. Plerixafor in patients with decreased mobilizing ability of autologous hematopoietic stem cells. *Clinical oncohematology. Basic research and clinical practice. Russian journal (Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2016; 9(2): 155–61. (in Russian)
- Gertz M.A. Current status of stem cell mobilization. *Br. J. Haematol*. 2010; 150: 647–62.
- Sheppard D., Bredeson C., Allan D., Tay J. Systematic review of randomized controlled trials of hematopoietic stem cell mobilization strategies for autologous transplantation for hematologic malignancies. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2012; 18(8): 1191–203.
- Pokrovskaya O.S., Mendeleva L.P., Urnova E.S., Gaponova T.V., Galceva I. V., Kuzmina L.A., et al. The effect of bortezomib on the effectiveness of the mobilization of hematopoietic stem cells in the blood of patients with multiple myeloma. *Therapeutic archive. Russian journal. (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2012; 84(7): 35–41. (in Russian)
- Giebel S., Sadus-Wojciechowska M., Najda J., Czerw T., Clowala-Kosinska M., Holowiecki J., et al. Very high efficacy of intermediate-dose cytarabine in combination with G-CSF as a second-line mobilization of hematopoietic stem cells. *Int. J. Hematol*. 2012; 96(2): 287–9.
- Calderon-Cabrera C., Carmona Gonzalez M., Martin J., Rios Herranz E., Noquerol P., De la Cruz F., et al. Intermediate doses of cytarabine plus granulocyte-colony-stimulating factor as an effective and safe regimen for hematopoietic stem cell collection in lymphoma patients with prior mobilization failure. *Transfusion*. 2015; 55(4): 875–9.
- Giebel S., Kruzel T., Czerw T., Sadus-Wojciechowska M., Najda J., Chmielowska E., et al. Intermediate-dose Ara-C plus G-CSF for stem cell mobilization in patients with lymphoid malignancies, including predicted poor mobilizers. *Bone Marrow Transplant*. 2013; 48(7): 915–21.
- Giebel S., Sadus-Wojciechowska M., Halaburda K., Drozd-Sokolowska J., Wierzbowska A., Najda J., et al. Increased efficacy of intermediate-dose cytarabine + G-CSF compared to DHAP + G-CSF for stem cell mobilization in patients with lymphoma: an analysis by the polish lymphoma research group. *Ann. Hematol*. 2016; 95(2): 263–9.
- Wallis W., Qazilbash M. Peripheral blood stem cell mobilization in multiple myeloma: Growth factors or chemotherapy? *World J. Transplant*. 2017; 7(5): 250–9.
- Durie B.G., Salmon S.E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer*. 1975; 36(3): 842–54.
- Giralt S., Costa L., Schriber J., Dipersio J., Maziarz R., McCarty J., et al. Optimizing autologous stem cell mobilization strategies to improve patient outcomes: consensus guidelines and recommendations. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2014; 20(3): 295–308.
- Stepanov A.A., Korotaev E.B., Bessmeltsev S.S., Rabinovich V. I., Astahova L.P., Ponomarev S.A., et al. Algorithm obtaining of the hematopoietic stem cells peripheral blood for autologous transplantation. *Russian biomedical journal. Russian journal. (Russkij biomeditsinskij zhurnal)*. 2013; 14(2): 255–65. (in Russian)
- Sung A., Grima D. Outcomes and costs of autologous stem cell mobilization with chemotherapy plus G-CSF versus G-CSF alone. *Bone Marrow Transplant*. 2013; 48(11): 1444–9.
- Duong H.K., Savani B.N., Copelan E., Devine S., Costa L.J., Winqard J.R., et al. Peripheral Blood Progenitor Cell Mobilization for Autologous and Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2014; 20(9): 1262–73.
- Hamadani M., Kochuparambil S.T., Osman S., Cumpston A., Leadmon S., Bunner P., et al. Intermediate-dose versus low-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor for peripheral blood stem cell mobilization in patients with multiple myeloma treated with novel induction therapies. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2012; 18(7): 1128–35.
- Sizemore C.A., Laporte J., Holland H.K., Mccollum J., Westerman J., Morris L.E., et al. A comparison of toxicity and mobilization efficacy following two different doses of cyclophosphamide for mobilization of hematopoietic stem cells in non-Hodgkin's lymphoma patients. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2010; 16(2): 206.
- Tuchman S., Bacon W. Cyclophosphamide-Based Hematopoietic Stem Cell Mobilization Before Autologous Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Multiple Myeloma. *J. Clin. Apher*. 2015; 30(3): 176–82.
- Dingli D., Nowakowski G.S., Dispenzieri A., Lacy M.Q., Hayman S., Litow M.R., et al. Cyclophosphamide mobilization does not improve outcome in patients receiving stem cell transplantation for multiple myeloma. *Clin. Lymphoma Myeloma*. 2006; 6(5): 384–8.

Поступила 08.11.17

Принята в печати 20.11.17

Охмат В.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н., Двирник В.Н.,
Кузьмина Л.А., Кравченко С.К., Савченко В.Г.

ПРИМЕНЕНИЕ МИКАФУНГИНА – ПРЕПАРАТА ИЗ КЛАССА ЭХИНОКАНДИНОВ У БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ СИСТЕМЫ КРОВИ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России,
125167, г. Москва, Россия

Цель исследования – изучить показания к назначению и эффективность микафунгина, а также частоту нежелательных явлений со стороны показателей функции печени (трансаминаз, общего билирубина, щелочной фосфатазы) при применении у больных с опухолями системы крови.

Материал и методы. Исследование проводилось в 2014–2017 гг. Микафунгин использовали в дозе 100 мг внутривенно 1 раз в сутки.

Результаты. Первичную профилактику микафунгином назначали 16 (46%) из 35 больных, при этом все из них были реципиентами аллогенных стволовых гемопоэтических клеток (СГК), острую или хроническую реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ) имели 81% больных – они получали преднизолон в суточной дозе ≥ 1 мг/кг. Медиана длительности профилактики составила 27 (4–105) дней, у 14 (88%) больных от 7 дней и более, у 2 (12%) – менее 7 дней. У реципиентов СГК, получавших микафунгин от 7 дней и более, инвазивный аспергиллез легких («вероятный») развился у 1 (7%) из 14 больных. Лечение микафунгином назначали 19 (54%) из 35 больных с медианой продолжительности 13 (3–32) дней. Показания для лечения включали кандидемию ($n = 7$), гепатолиенальный кандидоз ($n = 4$), эмпирический ($n = 6$) и превентивный ($n = 2$) подходы. Летальные исходы были у 2 из 7 больных с кандидемией, в остальных случаях лечение микафунгином было эффективным. У 21 (60%) из 35 больных перед назначением микафунгина наблюдалось превышение референсных значений одного и более показателей функции печени. За период применения микафунгина медианы параметров функции печени снижались у больных, имевших повышение этих показателей до назначения микафунгина, и сохранялись без изменений у больных с исходными нормальными значениями.

Заключение. Подтверждена эффективность микафунгина в профилактике инвазивных микозов у реципиентов СГК с острой и хронической РТПХ и в лечении доказанного и предполагаемого инвазивного микоза. Доказана безопасность применения микафунгина у больных с опухолями системы крови.

Ключевые слова: микафунгин; эхинокандины; антимикотики; инвазивные микозы; инвазивный кандидоз; гемобласты; реципиенты аллогенных стволовых гемопоэтических клеток; гепатотоксичность.

Для цитирования: Охмат В.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н., Двирник В.Н., Кузьмина Л.А., Кравченко С.К., Савченко В.Г. Применение микафунгина – препарата из класса эхинокандинов у больных опухолями системы крови. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(4): 188–196. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-188-196>

Okhmat V.A., Klyasova G.A., Parovichnikova E.N., Dvirnik V.N., Kuzmina L.A., Kravchenko S.K., Savchenko V.G.

THE USE OF MICAFUNGIN IN PATIENTS WITH HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

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

The aim of this study was to evaluate indications, efficacy and rate of hepatic dysfunction in patients with hematological malignancies treated with micafungin.

Material and Methods. Micafungin was administered in dose of 100 mg intravenously once daily.

Results. Primary prophylaxis with micafungin was performed in 16 (46%) of 35 patients, all of them were recipients of allogeneic hematopoietic stem cells (allo-HSC), 81% – had graft-versus-host disease (GVHD) and received prednisolone in dose of ≥ 1 mg/kg daily. Median duration of prophylaxis was of 27 (4–105) days, in 14 (88%) patients – 7 days and more, in 2 (12%) – less than 7 days. Invasive aspergillosis (“probable”) occurred in 1 (7%) of 14 allo-HSCT recipients under micafungin treatment for ≥ 7 days. Micafungin treatment was initiated in 19 (54%) of 35 patients with median duration of 13 (3–32) days. Indications for micafungin treatment were candidemia ($n = 7$), hepatosplenic candidiasis ($n = 4$), empirical therapy ($n = 6$) and preemptive therapy. Fatal outcome was in 2 of 7 patients with candidemia, other patients had favorable outcome. Prior to the beginning of the treatment with micafungin 21 (60%) of 35 patients had elevation in one or more liver function tests. During micafungin treatment liver function parameters decreased in patients with initially elevated levels of these parameters and remained in reference ranges in patients with previously normal values.

Conclusion. The study demonstrated the efficacy of micafungin both for prophylaxis of invasive mycoses in allo-HSCT recipients with GVHD and the treatment of proven and suspected invasive candidiasis. We confirmed the safety of the micafungin use in patients with hematological malignancies.

Key words: micafungin; echinocandins; antifungals; invasive mycoses; candidemia; hematological malignancies; allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; hepatotoxicity.

For citation: Okhmat V.A., Klyasova G.A., Parovichnikova E.N., Dvirnik V.N., Kuzmina L.A., Kravchenko S.K., Savchenko V.G. The use of micafungin in patients with hematological malignancies. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i Transfuziologiya)*. 2017; 62(4): 188–196. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-188-196>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 24 Nov 2017
Accepted 29 Dec 2017

Больные гемобластозами в период реализации современных программ химиотерапии и реципиенты аллогенных стволовых гемопоэтических клеток (алло-СГК) при наличии острой или хронической реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) относятся к группе высокого риска возникновения инвазивных микозов. Частота инвазивных микозов у этих больных составляет от 10% и более [1, 2]. Доля инвазивных микозов в структуре инфекций увеличивается из года в год, меняется спектр возбудителей. В настоящее время преобладают плесневые грибы, ведущими среди которых являются *Aspergillus* spp., возрастает доля редких плесневых грибов, прежде всего, за счёт *Mucorales* spp. Вторую позицию в структуре возбудителей инвазивных микозов у гематологических больных занимают дрожжеподобные грибы рода *Candida*. Частота инвазивного кандидоза снизилась за последнее десятилетие в связи с широким использованием азолов в целях профилактики. Однако профилактическое использование азолов привело к появлению резистентности к этим препаратам и увеличению доли штаммов *Candida non-albicans* [3]. В связи с этим в гематологии возрастает потребность в альтернативных азолам противогрибковых препаратах, которые проявляли бы активность в отношении как плесневых, так и дрожжеподобных грибов, а также обладали бы низкой токсичностью. Такими препаратами являются эхинокандины и один из представителей этой группы – микафунгин.

Микафунгин – полусинтетический липопептид, получаемый путем химической модификации продуктов жизнедеятельности плесневого гриба *Coleophoma empetri* (патоген растений) [4]. Этот препарат был впервые зарегистрирован для медицинского применения в 2002 г. в Японии, а в марте 2015 г. включён в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского использования в России. В настоящее время микафунгин зарегистрирован для лечения инвазивного кандидоза и кандидозного эзофагита, а также является единственным эхинокандином, рекомендованным для профилактики инвазивных микозов, вызванных грибами рода *Candida* у реципиентов алло-СГК, и одобренным для использования у детей с первых дней жизни [5].

Помимо микафунгина к эхинокандинам относят каспофунгин и анидулафунгин. Все эхинокандины обладают отличным от других антимикотиков механизмом действия, который связан с ингибированием ферментов 1,3-β-D-глюкансинтазы. Эти ферменты ответственны за синтез β-D-глюкана – полимера глюкозы, входящего в состав клеточной стенки грибов и обеспечивающего ее структурную целостность. По причине отсутствия β-D-глюкана в клетках организма человека эхинокандины обладают низкой частотой побочных явлений. Дозу микафунгина не корректируют при почечной, а также легкой и средней степени тяжести печеночной недостаточности. Нет рекомендаций по применению микафунгина при печеночной недостаточности тяжелой степени [4].

Микафунгин обладает линейной фармакокинетикой и не требует введения нагрузочной дозы для достижения рав-

новесной концентрации в крови в отличие от других эхинокандинов. Микафунгин, как и все эхинокандины, вводят внутривенно. После внутривенного введения наблюдается биэкспоненциальное снижение концентрации препарата. Микафунгин быстро распределяется в тканях. В системном кровотоке микафунгин активно связывается с белками плазмы (более чем на 99%), главным образом с альбумином. В экспериментах на животных установлено, что препарат проникает в легкие, печень, селезенку и почки, при этом микафунгин не определяется в спинномозговой и внутриглазной жидкостях, стекловидном теле, моче. Микафунгин циркулирует в системном кровотоке преимущественно в неизмененном виде. Часть препарата метаболизируется в печени изоферментами цитохрома Р450 с образованием нескольких соединений; из них производные микафунгина М1 (катехоловая форма), М2 (метоксипроизводное М1) и М5 (образуется в результате гидроксирования боковой цепи) определяются в небольших количествах в системном кровотоке. Период полувыведения микафунгина составляет 10–17 ч. Экскреция препарата из организма происходит преимущественно с желчью [6].

Микафунгин обладает низким потенциалом взаимодействия с другими лекарственными средствами, включая препараты, которые метаболизируются с участием изоферментов цитохрома Р450. При сочетанном применении с микафунгином может увеличиваться площадь под фармакокинетической кривой сиролимуза (на 21%) и нифедипина (на 18%), однако необходимости в коррекции дозы этих препаратов не возникает [4].

Микафунгин, как и все эхинокандины, проявляет фунгицидную активность в отношении грибов рода *Candida*, в том числе штаммов, резистентных к азолам и амфотерицину В, и, что важно, входящих в состав биопленок. Помимо этого, эхинокандины, включая микафунгин, оказывают фунгистатическое действие на *Aspergillus* spp. и некоторые другие мицелиальные грибы, а также, в отличие от других антимикотиков, проявляют активность в отношении цист *Pneumocystis jiroveci*, но не активны против трофозоитов. Следует отметить, что все эхинокандины не активны в отношении *Fusarium* spp., *Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp. и ряда других редких дрожжеподобных грибов [4, 5].

Цель нашего исследования – изучить показания к назначению и эффективность применения микафунгина в клинической практике, а также оценить частоту возникновения нежелательных явлений со стороны показателей функции печени при использовании этого препарата у больных опухолями системы крови.

Материалы и методы

В исследование были включены больные опухолями системы крови, находившиеся на лечении в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (НМИЦ гематологии, Москва) в период с января 2014 г. по август 2017 г., которым назначали микафунгин. Больных наблюдали в течение всего времени применения микафунгина. Микафунгин назначали в дозе 100 мг внутривенно 1 раз в сутки.

Для корреспонденции:

Окхмат Владимир Александрович, кандидат мед. наук, научный сотрудник лаборатории клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: okhmatvladimir@mail.ru

For correspondence:

Okhmat Vladimir A., MD, PhD, researcher of the Laboratory of clinical bacteriology, mycology and antibiotic therapy of National Medical Research Center for Hematology, Moscow, 126167, Russian Federation. E-mail: okhmatvladimir@mail.ru

Information about authors:

Okhmat V.A., <http://orcid.org/0000-0002-6195-4508>, ResearcherID: M-7089-2014; Klyasova G.A., <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>, ResearcherID: M-6329-2014; Parovichnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>, ResearcherID: N-4840-2016; Dvirnik V.N., <https://orcid.org/0000-0002-9808-8519>; Kuzmina L.A., <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>, ResearcherID: E-4195-2015; Kravchenko S.K., <http://orcid.org/0000-0002-6778-997X>; Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>.

Таблица 1

**Показания к назначению и длительность применения
микафунгина у 35 больных с опухолями системы крови**

Показатель	Число больных		Длительность применения микафунгина, дни медиана (разброс)
	абс.	%	
Профилактика первичная	16	46	27 (4–105)
Лечение:	19	54	13 (3–32)
кандидемия	7	20	17 (7–32)
гепатолиенальный кандидоз	4	11	13 (7–24)
эмпирическая терапия	6	17	12 (9–23)
превентивная терапия	2	6	13 (3–32)

При возникновении инфекционных осложнений проводили диагностические исследования согласно протоколу, принятому в НМИЦ гематологии [7]. При температуре от 38 °С и более забирали кровь из вены и из центрального венозного катетера в 2 флакона ("Becton-Dickinson", США) перед назначением антибиотиков, исследование повторяли через 5–7 дней при сохранении температуры более 38 °С.

При фебрильной нейтропении длительностью от 3 дней и более на фоне применения антибиотиков проводили компьютерную томографию легких, исследование мазков со слизистой оболочки прямой кишки на предмет колонизации грамотрицательными полирезистентными бактериями и ванкомицин-устойчивым энтерококками. У больных с диареей проводили определение токсина А и В *Clostridium difficile* в кале.

При пневмонии выполняли двукратное исследование сыворотки крови для определения оптической плотности антигена *Aspergillus* (галактоманнана) и проводили бронхоскопию с исследованием жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), включавшим микроскопию световую с окраской по Граму и флюоресцентную с окраской калькофлюором белым, предназначенную для выявления мицелия грибов; культуральное исследование на бактерии и грибы, включая легионеллы, определение антигена *Aspergillus*, исследование ДНК пневмоцист и проведение реакции непрямой иммунофлюоресценции с целью определения цист *Pneumocystis jirovecii*. Идентификацию микроорганизмов проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF-MS) на анализаторе Microflex ("Bruker Daltonics", Германия).

Мониторинг антигена *Aspergillus* (галактоманнана) в сыворотке крови выполняли 2 раза в неделю: при гранулоцитопении с 3–4-го дня лихорадки больным острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и реципиентам алло-СГК; при назначении преднизолона в дозе от 1 мг/кг и более – реципиентам алло-СГК. Исследование антигена *Aspergillus* в образцах сыворотки крови и БАЛ проводили методом иммуноферментного анализа (Platelia™ *Aspergillus*, "BioRad Laboratories", США). Антиген *Aspergillus* считали положительным при значениях индекса оптической плотности в сыворотке от 0,5 и выше, в жидкости БАЛ – от 1,0 и выше.

При температуре 38 °С и более или выявлении очага инфекции назначали внутривенно антибиотики 1-го этапа (цефоперазон/сульбактам или пиперацillin/тазобактам). Модификацию противомикробной терапии проводили согласно результатам микробиологических исследований, а при персистирующей лихорадке неясной этиологии заменяли антибиотики 1-го этапа на карбапенем (имипенем/циластатин, меропенем или дорипенем).

Первичную противогрибковую профилактику микафунгином назначали реципиентам алло-СГК при лечении острой и хронической РТПХ преднизолоном в дозе от 1 мг/кг и выше, а также невозможности применения позаконазола больным с мукозитом 3–4-й степени, диареей или повышением показателей функции печени (билирубина, трансаминаз). Эмпирическую терапию микафунгином применяли больным с персистирующей фебрильной нейтропенией или повторном подъеме температуры в период гранулоцитопении на фоне терапии антибиотиками широкого спектра при отсутствии других клинических симптомов, а также радиологических и лабораторных показателей в пользу иной инфекции. Превентивное назначение микафунгина исполь-

зовали больным с факторами риска возникновения инвазивного микоза при наличии пневмонии, которая по радиологическим признакам не являлась строго характерной для инвазивного аспергиллеза, но сохранялась или прогрессировала на фоне применения антибиотиков широкого спектра действия.

Инвазивный кандидоз диагностировали на основании критериев EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group, 2008) [8]. Наличие гепатолиенального кандидоза у больных без кандидемии предполагали на основании выявления очагов в печени и/или селезенке по данным ультразвукового исследования (УЗИ), или компьютерной томографии (КТ) с внутривенным контрастированием, или магнитно-резонансной томографии (МРТ), а также отсутствия эффекта от назначения антибиотиков широкого спектра действия.

Показатели функции печени (аланинаминотрансфераза – АЛТ, аспартатаминотрансфераза – АСТ, общий билирубин, щелочная фосфатаза) оценивали до назначения микафунгина, далее в процессе применения препарата каждые 7–10 дней в соответствии со шкалой СТАЕ 4.03 (Common Terminology Criteria for Adverse Events) от 1-й до 4-й степени [9].

Эффективность профилактики микафунгином анализировали при длительности применения в течение 7 дней и более. Профилактику считали эффективной, если больному не назначали других системных противогрибковых препаратов и не отмечали у него развития инвазивного микоза. Эффективность лечения микафунгином оценивали во всех случаях его назначения при эмпирической и превентивной терапии, инвазивном кандидозе. Лечение кандидемии считали эффективным при регрессии клинических симптомов инфекции и микробиологической эрадикации *Candida* spp. из гемокультуры. Неэффективность микафунгина при кандидемии констатировали при сохранении симптомов инфекции, отсутствии эрадикации *Candida* spp. из гемокультуры, назначении других антимикотиков, развитии иного инвазивного микоза или летального исхода. Излечение при гепатолиенальном кандидозе регистрировали в случае стойко нормальной температуры тела и уменьшения размеров очагов поражения в печени и/или селезенке.

Эмпирический подход в назначении микафунгина считали эффективным при нормализации температуры тела, отсутствии назначения других антимикотиков, инвазивного микоза или летального исхода. Эффект от превентивного применения микафунгина регистрировали при наличии нормальной температуры тела и регрессии изменений в легких по данным КТ. Летальность оценивали в течение 30 дней от момента назначения микафунгина.

Для проведения анализа была создана база данных, включающая демографические, клинические и лабораторные показатели. Статистический анализ проводили с помощью программы SPSS. Для сравнения качественных признаков применяли точный критерий Фишера (p_f). Для сравнения количественных признаков применяли U -критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при степени вероятности безошибочного прогноза 95% ($p \leq 0,05$).

Результаты

Эффективность первичной профилактики микафунгином

Для профилактики микафунгин назначали 16 (48%) из 35 больных, – 7 мужчинам и 9 женщинам в возрасте от 20 до 62 лет (медиана возраста 37 лет) (табл. 1). Все больные, которым назначили микафунгин в качестве профилактики, были реципиентами алло-СГК и большинство из них (81%) имели РТПХ, чаще острую форму (75%), а также получали иммуносупрессивные препараты (75%) (табл. 2). Все больные с острой и хронической РТПХ ($n = 13$) получали преднизолон с медианой длительности 41 (9–105) день. Преднизолон назначали в дозе 2 мг/кг 11 (69%) больным, 1 мг/кг – 2 (13%). Из 16 реципиентов алло-СГК 3 (19%) больным микафунгин был назначен для первичной профилактики инвазивных микозов без признаков острой или хронической РТПХ. Одному из этих больных микафунгин был

назначен в связи с наличием множественных инфекционных осложнений на предыдущих этапах лечения ОМЛ, двум другим – вместо флуконазола при развитии острой печеночной недостаточности по причине веноокклюзионной болезни печени. Кроме того, профилактику микафунгином назначали тяжелой категории больных. Во время проведения профилактики микафунгином возникали тяжелые инфекционные осложнения у 50%, включая инфекцию кожи и мягких тканей у 19%, менингоэнцефалит у 13%, пневмонию у 13%, бактериемию у 6%. Антибиотики назначали 10 (63%) из 16 больных с медианой длительности применения в 15 (4–73) дней. У 2 (13%) больных использовали парентеральное питание. Гранулоцитопению регистрировали у 2 (13%) больных с медианой продолжительности 106 (25–187) дней. Длительность профилактики микафунгином у всей группы больных составила в среднем 27 (4–105) дней.

Микафунгин в течение 7 дней и более применяли у 14 (88%) из 16 больных, менее 7 дней – у 2 (12%) больных. В одном случае непродолжительного использования микафунгин был заменен на анидулафунгин в связи с развитием печеночной недостаточности по причине веноокклюзионной болезни печени, в другом наступил летальный исход от кровоизлияния в головной мозг.

Анализ эффективности применения микафунгина для профилактики проводили у 14 (88%) больных с длительностью применения препарата от 7 дней и более. В этой группе больных медиана применения микафунгина составила 37 (9–105) дней. Инвазивный аспергиллез легких, относящийся к категории «вероятный», развился у 1 (7%) из 14 больных на 22-й день профилактики микафунгином. У этого больного была констатирована резистентная форма острой РТПХ 3-й степени на фоне применения преднизолона в суточной дозе 1 мг/кг в течение 81 дня, а также использования метотрексата, антимоноцитарного иммуноглобулина и ритуксимаба. Лечение инвазивного аспергиллеза было неэффективным, и больной умер на 7-й день после диагностики инвазивного микоза.

В процессе профилактики микафунгином колонизация слизистых оболочек *Candida spp.* отмечена у 7 (50%) из 14 больных. В этой группе больных инвазивных микозов не зарегистрировано.

Эффективность лечения микафунгином

Для лечения микафунгин назначали 19 (54%) из 35 больных, из них 9 мужчинам и 10 женщинам в возрасте от 19 до 72 лет (медиана 33 года). Показания к назначению микафунгина включали эмпирический у 6 (17%) и превентивный подход у 2 (6%) больных, кандидемия – у 7 (20%) и гепатолиенальный кандидоз – у 4 (11%) больных. Длительность использования микафунгина для лечения составила 13 (3–32) дней. Применение микафунгина для лечения преобладало у больных острыми лейкозами (69%) и лимфомой (21%), с гранулоцитопенией (75%), на этапах химиотерапии (58%) – в основном в индукции (48%)

Таблица 2

Характеристика больных с опухолями системы крови при профилактике и лечении микафунгином

Показатель	Всего		Профилактика		Лечение		p
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Число больных	35		16		19		
Гемобластоз:							
ОМЛ	17	49	7	44	10	53	0,74
ОЛЛ	10	29	7	44	3	16	0,13
лимфома	4	11	–	–	4	21	0,11
МДС	2	6	1	6	1	5	1,0
ХМПЗ	2	6	1	6	1	5	1,0
Статус гемобластоза:							
ремиссия	16	46	11	69	5	26	0,01
рецидив/рефрактерность	13	37	5	31	8	42	0,72
впервые выявленный	4	11	–	–	4	21	0,1
Трансплантация алло-СГК	23	66	16	100	7	37	<0,0001
РТПХ:	16	46	13	81	3	16	0,0002
острая	15	43	12	75	3	16	0,0006
хроническая	1	3	1	6	–	–	0,46
Применение глюкокортикостероидов:	15	43	13	81	2	11%	0,0001
1 мг/кг	2	6	2	13	–	–	0,2
2 мг/кг	13	37	11	69	2	11	0,0005
Длительность применения глюкокортикостероидов, дни медиана (разброс)	41 (9–105)		41 (9–105)		48 (40–56)		0,93
Трансплантация аутологичных СГК	2	6	–	–	2	11	0,5
Химиотерапия:	11	31	–	–	11	58	0,0002
индукция	6	17	–	–	6	32	0,02
рецидива/рефрактерности	3	9	–	–	3	16	0,23
индукция <i>de novo</i>	2	6	–	–	2	11	0,49
консолидация	16	46	2	13%	14	75	0,0005
Гранулоцитопения	23 (4–59)		106 (25–187)		19 (5–67)		0,1
Длительность гранулоцитопении, дни медиана (разброс)	4	11	–	–	4	21	0,11
Полостные операции	19	54	8	50	11	58	0,7
Сопутствующие инфекции:	5	14	1	6	4	21	0,35
бактериемия	7	20	2	13	5	26	0,42
пневмония	5	14	3	19	2	11%	0,64
инфекция кожи и мягких тканей	2	6	2	13	–	–	0,2
менингоэнцефалит	26	74	10	63	16	84	0,25
Применение антибиотиков	14 (3–73)		15 (4–73)		14 (3–40)		1,0
Длительность применения антибиотиков, дни медиана (разброс)	16	46	12	75	4	21	0,002
Применение иммуносупрессивных препаратов	7	20	2	13	5	26	0,42
Парентеральное питание	4	11	–	–	4	21	0,1
Пребывание в ОРИТ	9 (2–14)		–		9 (2–14)		–
Длительность пребывания в ОРИТ, дни медиана (разброс)							

Примечание. МДС – миелодиспластический синдром; ХМПЗ – хронические миелопролиферативные заболевания.

Таблица 3

Показатели функции печени при применении микафунгина у больных с опухолями системы крови

Показатель функции печени	Применение микафунгина:							
	для профилактики, n = 16				для лечения, n = 19			
	до начала применения		в процессе применения		до начала применения		в процессе применения	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
АЛТ/АСТ:								
в пределах референсных значений (5–50 МЕ/л)	9	56	8	50	12	63	10	53
превышение референсных значений:								
1-я степень (51–150 МЕ/л)	3	19	4	25	5	26	5	26
2-я степень (151–250 МЕ/л)	1	6	1	6	1	5	1	5
3-я степень (251–1000 МЕ/л)	3	19	3	19	1	5	3	16
4-я степень (более 100 МЕ/л)	–	–	–	–	–	–	–	–
Билирубин:								
в пределах референсных значений (5–21 мкмоль/л)	6	38	8	50	11	58%	11	58
превышение референсных значений								
1-я степень (22–31 мкмоль/л)	4	25	1	6	4	21	1	5
2-я степень (32–63 мкмоль/л)	2	13	3	19	2	11	3	16
3-я степень (64–210 мкмоль/л)	3	19	2	12,5	2	11	3	16
4-я степень (более 210 мкмоль/л)	1	6	2	12,5	–	–	1	5
Щелочная фосфатаза:								
в пределах референсных значений (30–120 МЕ/л)	11	69	11	69	14	74	9	47
превышение референсных значений								
1-я степень (121–300 МЕ/л)	4	25	3	19	4	21	8	42
2-я степень (301–600 МЕ/л)	1	6	–	–	1	5	2	11
3-я степень (601–2400 МЕ/л)	–	–	2	13%	–	–	–	–
4-я степень (более 2400 МЕ/л)	–	–	–	–	–	–	–	–
АЛТ/АСТ, билирубин, щелочная фосфатаза:								
в пределах референсных значений	6	38	6	38	8	42	5	26
превышение референсных значений:								
1-я степень	3	19	3	19	6	32	6	32
2-я степень	1	6	3	19	3	16	4	21
3-я степень	5	31	2	13	2	11	3	16
4-я степень	1	6	2	13	–	–	1	5

и реже в консолидации (11%). У 7 (37%) из 16 больных была выполнена трансплантация алло-СГК, 4 (21%) получали иммуносупрессивные препараты, 3 (16%) имели острую РТПХ, из них 2 (11%) принимали преднизолон в суточной дозе 2 мг/кг. При лечении микафунгином применение антибиотиков было у 16 (84%) больных с медианой длительности 14 (3–40) дней. У 11 (58%) больных регистрировали сопутствующие инфекции, включая пневмонию (26%), бактериемию (21%), инфекцию кожи и мягких тканей (11%). Перевод в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) был у 4 (21%) из 19 больных, полостные операции – у 21%, парентеральное питание получали 26%. Кандидемию диагностировали у 7 больных, из них у 6 (87%) – кандидемия была обусловлена одним видом *Candida* spp., а у одного сочетанием *C. albicans* и *C. tropicalis*. Всего было выделено 8 изолятов *Candida* spp., включая 3 (37%) *C. albicans* и 5 (63%) *Candida non-albicans* – *C. parapsilosis* (n = 3), *C. tropicalis* (n = 2). Продолжительность применения микафунгина у больных с кандидемией составила 17 (7–32) дней. Летальные исходы были у 2 из 7 больных на 6-й и 16-й дни от диагностики кандидемии. Оба больных имели неблагоприятный прогноз по основному заболеванию. В первом случае смерть больного наступила

на 6-й день применения микафунгина в результате первично-резистентного течения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) и сочетанной инфекции, обусловленной бактериями и *C. tropicalis* (эрадикации *Candida* из гемокультуры не было достигнуто); во втором – на 16-й день применения микафунгина вследствие острой РТПХ 3-й степени, рефрактерной к лечению преднизолоном в суточной дозе 2 мг/кг в течение 56 дней у реципиента алло-СГК. У второго больного эрадикация *C. parapsilosis* из крови была достигнута на 2-й день после назначения микафунгина и подтверждена последовательными трехкратными отрицательными исследованиями гемокультуры.

У всех больных с гепатолиенальным кандидозом (n = 4) при назначении микафунгина были достигнуты стойкая нормализация температуры тела и уменьшение очагов поражения в печени и/или селезенке. Через 7–24 дней (медиана 13 дней) применения препарата больные были переведены на пероральный прием флуконазола. Летальных исходов у больных с гепатолиенальным кандидозом не было. Таким образом, применение микафунгина с лечебной целью при доказанном или предполагаемом инвазивном кандидозе было эффективным у 9 (81%) из 11 больных.

Таблица 4

Динамика изменения показателей функции печени в процессе применения микафунгина

Длительность применения микафунгина, дни	Показатель	Значение показателей функции печени перед назначением микафунгина								
		АСТ, МЕ/л			АЛТ, МЕ/л			билирубин, мкмоль/л		
		всего	в пределах референсных значений	превышение референсных значений	всего	в пределах референсных значений	превышение референсных значений	всего	в пределах референсных значений	превышение референсных значений
День назначения	Число больных	35	24 (69%)	11 (31%)	35	21 (60%)	14 (40%)	35	17 (49%)	18 (51%)
	Значение исследуемого показателя, медиана	25 (6–758)	18,5 (6–46)	143 (63–758)	29 (5–572)	20 (5–47)	115 (87–572)	23 (5–274)	12 (5–20)	35 (23–274)
7	Число больных	32	21 (66%)	11 (34%)	32	20 (63%)	12 (37%)	32	17 (53%)	15 (47%)
	Значение исследуемого показателя, медиана	29 (7–595)	19 (7–130)	58 (12–595)	34 (6–233)	26 (6–129)	73,5 (8–233)	15 (5–324)	13 (5–76)	60 (9–324)
14	Число больных	28	18 (64%)	10 (36%)	28	17 (61%)	11 (39%)	28	15 (54%)	13 (66%)
	Значение исследуемого показателя, медиана	41 (3–186)	39 (3–119)	43,5 (11–186)	35 (3–237)	31 (3–237)	73 (7–150)	22 (1–395)	15 (1–50)	28 (10–395)
21	Число больных	17	11 (65%)	6 (35%)	17	10 (59%)	7 (31%)	17	7 (41%)	10 (59%)
	Значение исследуемого показателя, медиана	26 (6–813)	21 (6–813)	66 (18–245)	29 (6–882)	21 (6–882)	38 (11–362)	13 (1–754)	7 (1–25)	29,5 (9–754)
28	Число больных	10	6 (60%)	4 (40%)	10	5 (50%)	5 (50%)	10	3 (30%)	7 (70%)
	Значение исследуемого показателя, медиана	74 (6–377)	36,5 (6–377)	92 (34–282)	37 (12–140)	21 (12–111)	52 (34–140)	19 (8–95)	19 (18–41)	17 (8–95)

Примечание. Референсные значения: АСТ и АЛТ от 5 до 50 МЕ/л, общего билирубина от 5 до 21 мкмоль/л.

Применение микафунгина при эмпирическом и превентивном подходах было эффективным во всех случаях ($n = 8$). При эмпирическом назначении микафунгина была достигнута нормализация температуры тела в период гранулоцитопении, при превентивном – нормализация температуры тела и регрессия изменений в легких. Медиана продолжительности применения микафунгина при эмпирическом подходе составила 12 (9–23) дней, при превентивном – 13 (3–32) дней. Ни у одного больного не было развития инвазивного микоза.

Динамика изменения показателей функции печени (АСТ, АЛТ, общий билирубин, щелочная фосфатаза)

Показатели АСТ, АЛТ, общего билирубина и щелочной фосфатазы оценивали по шкале СТСАЕ 4.03 [9] у всех больных ($n = 35$) до назначения микафунгина и каждые 7–10 дней в процессе его применения.

Превышение референсных значений одного и более из исследуемых показателей функции печени перед назначением микафунгина было у 21 (60%) из 35 больных, из них повышение 1-й степени – у 26%, 2–3-й степени – у 31%, 4-й степени – у 3%. В день назначения микафунгина в группах больных, получавших препарат как для профилактики, так и для лечения, преобладало превышение референсных значений билирубина (62 и 42% соответственно), реже наблюдали увеличение АЛТ/АСТ (44 и 37%) и щелочной фосфатазы (31 и 26%) (табл. 3).

Мы провели сравнение частоты повышения АСТ/АЛТ, билирубина и щелочной фосфатазы у больных до назначения микафунгина и во время его применения. Назначение микафунгина не привело к существенному увеличению доли больных с превышением референсных значений исследуемых показателей функции печени. Во время профилактики микафунгином доля больных с повышением АСТ/АЛТ от 2-й степени и более не изменилась (25%), а с аналогичным повышением билирубина и щелочной фосфатазы выросла на 6% (с 38 до 44%) и 7% (с 6 до 13%) соответственно. В процессе лечения микафунгином доля больных, имевших повышение показателей функции печени от 2-й степени и выше, увеличилась от исходного также

незначительно: АЛТ/АСТ на 11% (с 10 до 21%), билирубина на 15% (с 22 до 37%), щелочной фосфатазы на 6% (с 5 до 11%). В процессе применения микафунгина доля больных имевших повышение значений одного и более из исследуемых показателей функции печени от 2-й степени и выше, при профилактике осталась прежней (43%), при лечении увеличилась от исходного на 15% (с 27 до 42%).

Повышение билирубина 4-й степени отмечалось у 3 (9%) из 35 больных, из них у 1 больного присутствовало до назначения микафунгина и сохранялось в процессе его использования, у 2 – возникло на фоне применения препарата. У всех этих больных имелись поражения печени, обусловленные в одном случае острой РТПХ и вирусным гепатитом С, в другом – острой РТПХ и генерализованной цитомегаловирусной инфекцией, в третьем – веноокклюзионной болезнью и вирусным гепатитом В.

При анализе изменения показателей АСТ, АЛТ и билирубина в период применения микафунгина анализируемые показатели функции печени в день назначения (день 0) и в 7, 14, 21 и 28-й дни использования препарата не превышали или незначительно превышали референсные значения (табл. 4; рис. 1). В течение 28 дней применения микафунгина показатели АСТ варьировали от 25 до 41 МЕ/л, АЛТ от 29 до 37 МЕ/л, билирубина от 13 до 23 мкмоль/л.

В дальнейшем мы провели анализ изменения медиан показателей АСТ, АЛТ и билирубина за 28 дней применения микафунгина у больных со значениями этих показателей исходно нормальными и превышающими референсные (рис. 2). В день назначения микафунгина превышение референсных значений АСТ было у 11 (31%) из 35 больных, АЛТ – у 14 (40%), билирубина – у 18 (51%). В этой группе значения медиан показателей функции печени за 28 дней применения микафунгина снизились: АСТ – со 143 до 92 МЕ/л, АЛТ – со 115 до 52 МЕ/л, билирубина – с 35 до 17 мкмоль/л. В группе больных с исходно нормальными значениями АСТ, АЛТ и билирубина, медианы исследуемых параметров в процессе использования микафунгина также не возрастали и сохранялись в пределах референсных значений.

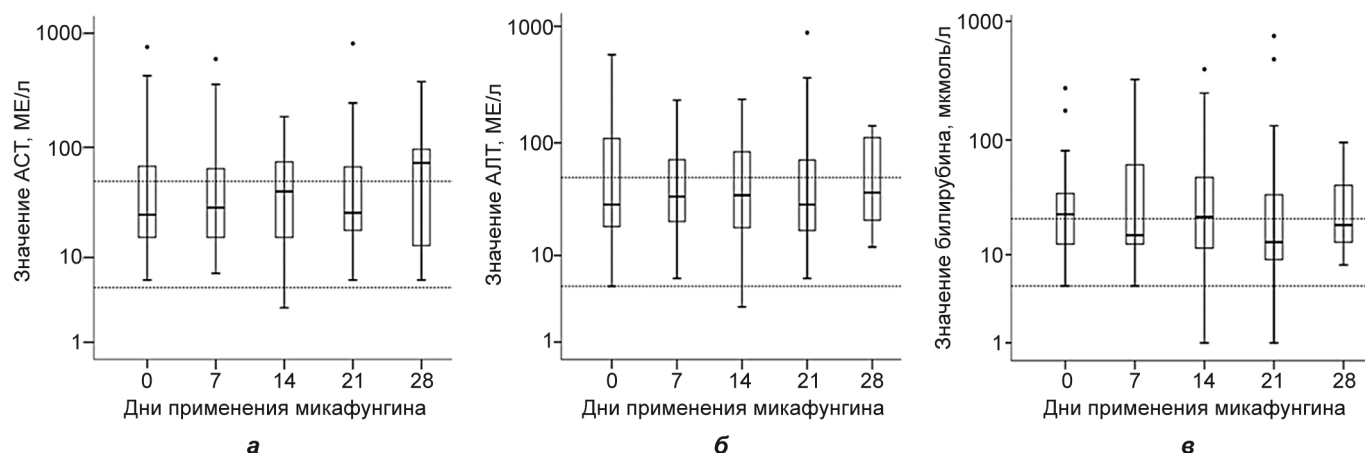


Рис. 1. Динамика АСТ (а), АЛТ (б) и общего билирубина (в) в процессе применения микафунгина ($n = 35$).
Здесь и на рис. 2: пунктирной линией обозначены границы референсных значений АСТ (5–50 МЕ/л), АЛТ (5–50 МЕ/л), общего билирубина (5–21 мкмоль/л).

Обсуждение

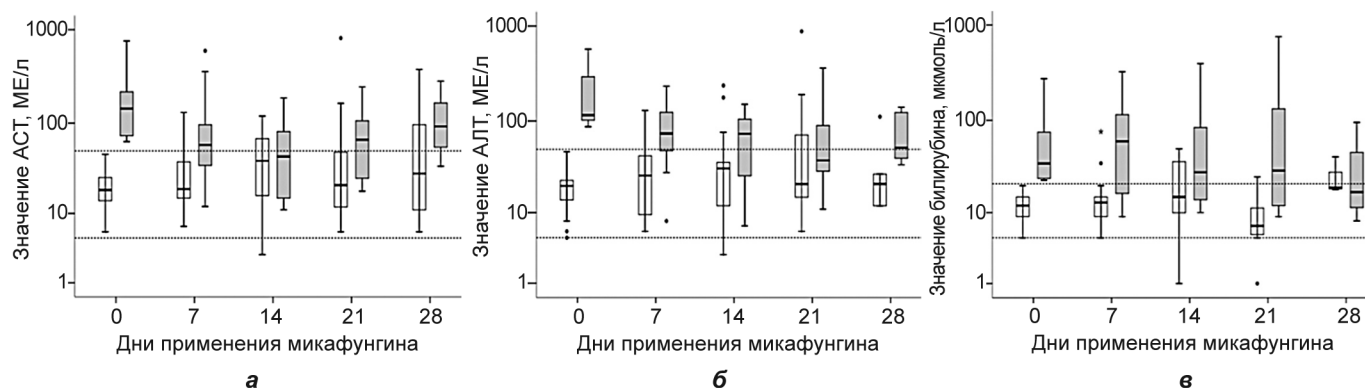
Согласно рекомендациям ECIL-3 (European Conference on Infections in Leukemia) [10], реципиентам алло-СГК показано проведение первичной противогрибковой профилактики ввиду высокой частоты инвазивных микозов в этой группе (от 10% и более). Для первичной профилактики с наивысшим уровнем доказательств АІ были одобрены только два препарата: флуконазол – в период нейтропении при низком риске инфекций, вызванных мицелиальными грибами, и позаконазол – в период развития острой или хронической РТПХ, когда вероятность инвазивных микозов, обусловленных плесневыми грибами, наиболее высокая. Назначение позаконазола ввиду отсутствия внутривенной формы может быть ограничено при мукозите 3–4-й степени, тошноте, рвоте и диарее, а также отклонениях в показателях функции печени. Все эти проблемы могут встречаться у реципиентов алло-СГК при развитии острой или хронической РТПХ, и в таких случаях явно возникает вопрос о возможности применения альтернативных позаконазолу препаратов для профилактики инвазивных микозов.

Микафунгин, как и другие эхинокандины, вводят только внутривенно; он проявляет активность в отношении *Candida* spp. и ряда плесневых грибов, включая

Aspergillus spp., а также одобрен для больных с печеночной недостаточностью легкой и средней степени тяжести [4]. В этой связи данный препарат представляет собой потенциальную альтернативу для профилактики инвазивных микозов у реципиентов алло-СГК, когда применение позаконазола невозможно.

В международных рекомендациях ECIL-5 [11] микафунгин указан как единственный эхинокандин, одобренный для первичной профилактики инвазивных микозов у реципиентов алло-СГК. Согласно этим рекомендациям, профилактика микафунгином может быть проведена реципиентам алло-СГК в период нейтропении или при развитии острой либо хронической РТПХ (уровень доказательств ВІ–СІІ).

Возможность применения микафунгина для профилактики базируется на результатах многоцентрового рандомизированного двойного слепого исследования, включившего 882 реципиента аллогенных и аутологичных СГК в период нейтропении, из которых микафунгин в дозе 50 мг/сут внутривенно назначали 425 больным, а флуконазол в дозе 400 мг/сут внутривенно – 457 больным [12]. Частота инвазивных микозов категории «доказанный» и «вероятный» составила 1,2% при профилактике микафунгином и 2% – флуконазолом; $p = 0,481$. Исследователи отметили несколько меньшую частоту инвазивного



Значение АСТ, АЛТ, билирубина перед назначением микафунгина:

- В пределах референсных значений
- Превышение референсных значений

Рис. 2. Динамика АСТ (а), АЛТ (б) и общего билирубина (в) в зависимости от значения этих показателей перед назначением микафунгина ($n = 35$).

аспергиллеза при использовании микафунгина в сравнении с флуконазолом (0,2% против 1,5%; $p = 0,07$).

В нашей работе микафунгин назначался для профилактики только реципиентам алло-СГК в период лечения острой или хронической РТПХ преднизолоном (81%) в дозе 1–2 мг/кг в сутки с медианой длительности 41 (9–105) день, когда применение позаконазола было невозможным по причине наличия мукозита 3–4-й степени, диареи, а также печеночной недостаточности. Отмечена эффективность применения микафунгина у этой категории больных. Инвазивный аспергиллез развился у 1 (7%) из 14 больных с кортикостероид-резистентной формой острой РТПХ 3-й степени.

Колонизация слизистых оболочек кишечника *Candida* spp. определялась у 50% больных, получавших микафунгин для профилактики. Целью первичной противогрибковой профилактики является, прежде всего, предотвращение развития инвазивных микозов, а не стерилизация слизистых оболочек кишечника. В этой связи только лишь выделение *Candida* spp. из нестерильных локусов организма во время проведения профилактики не может свидетельствовать о ее неэффективности. Этот факт подтверждается тем, в нашей работе не зарегистрировано случаев инвазивного кандидоза у больных с колонизацией кишечника грибами рода *Candida* при профилактике микафунгином.

Другими показаниями к назначению микафунгина в нашем исследовании были кандидемия и гепатолиенальный кандидоз, а также эмпирическое и превентивное использование препарата. В соответствии с рекомендациями ECIL-6 [13] все эхинокандины, включая микафунгин, рекомендованы для лечения кандидемии с наивысшим уровнем доказательства А1 – больным из общей популяции, и с несколько меньшим уровнем доказательства АП – гематологическим больным. Различия в уровнях доказательств объясняются сравнительно небольшим числом больных с опухолями системы крови, включенных в исследования по анализу эффективности эхинокандинов при инвазивном кандидозе.

Эффективность микафунгина при лечении инвазивного кандидоза была оценена в двух рандомизированных двойных слепых многоцентровых исследованиях. В одном многоцентровом исследовании, включавшем 392 больных инвазивным кандидозом, сравнили эффективность применения микафунгина и липосомального амфотерицина В [14]. Лечение микафунгином было успешным у 181 (89,6%) из 201 больных и было сопоставимым по эффективности с липосомальным амфотерицином В (89,5%). В этом исследовании была отмечена низкая доля развития побочных эффектов при лечении микафунгином. В группе больных, получавших микафунгин, по сравнению с группой липосомального амфотерицина В статистически значимо реже возникали повышение показателей креатинина (1,9% против 6,4%), гипокалиемии (6,8% против 11,9%), реакции на введение препарата (17% против 28,8%). В другом многоцентровом исследовании также были получены сопоставимые результаты в лечении инвазивного кандидоза микафунгином и каспофунгином, причем одной группе больных микафунгин назначали в дозе 100 мг/сут, а другой – в дозе 150 мг/сут [15]. Излечение было отмечено у 76,1% больных при лечении микафунгином в дозе 100 мг/сут, у 74,4% – в дозе 150 мг/сут, у 73,3% – при лечении каспофунгином. Эффективность препаратов при кандидемии, обусловленной *C. glabrata*, составила 85,7 и 88,2% при использовании микафунгина в дозе 100 мг/сут и 150 мг/сут соответственно, и была несколько ниже чем при терапии каспофунгином – 66,7%, но статистически значимых различий не было получено

($p = 0,07$). Нежелательные явления, связанные с терапией противогрибковыми препаратами, были сопоставимыми. Нежелательные явления с частотой более 2% включали повышение активности сывороточной концентрации щелочной фосфатазы, печеночных трансаминаз, тошноту, отсутствие стула, гипокалиемию и сыпь.

В нашем исследовании летальные исходы в течение 30 дней были у 2 из 7 больных с кандидемией на 6-й и 16-й дни лечения, в одном случае при первично-резистентном течении ОЛЛ, в другом – кортикостероид-резистентной форме острой РТПХ 3-й степени. При этом у второго больного была достигнута эрадикация *C. parapsilosis* из гемокультуры. Вполне определено, что одним из значимых факторов, достоверно влияющих на результат лечения кандидемии, является статус по гемобластозу [3]. Так, частота излечения при кандидемии была статистически значимо выше при наличии полной или частичной ремиссии гемобластоза (79%) в сравнении с рецидивом или резистентном течении гемобластоза (39%; $p = 0,01$).

Лечение гепатолиенального кандидоза было эффективным у всех 4 больных, и после стабилизации состояния через 7–24 дней была проведена замена микафунгина на флуконазол.

В основе эмпирического и превентивного применения антимикотиков лежит их раннее назначение при подозрении на инфекцию, вызванную грибами. Оба этих подхода так или иначе направлены на предотвращение развития инвазивного микоза и снижение летальности. Экспертами ECIL с наибольшим уровнем доказательств А1 рекомендован каспофунгин для эмпирической терапии у больных с гранулоцитопенией [10]. Многоцентровых рандомизированных сравнительных исследований по эффективности микафунгина в режиме эмпирического применения, в отличие от каспофунгина, не было проведено. В международных рекомендациях ECIL-3 микафунгин одобрен для эмпирического применения с уровнем доказательств ВП [10]. В 2009 г. были опубликованы данные проспективного исследования [16] по эффективности микафунгина у 197 больных с гранулоцитопенией, включая 134 больных гемобластозами и 63 реципиента СГК (аллогенных 56 и аутологичных 7) из 87 стационаров Японии. В этом исследовании микафунгин (в дозе 50–150 мг/сут) назначали либо при лихорадке, сохраняющейся 48 ч и более ($n=88$) на фоне лечения антибиотиками, либо в случаях диагностики инвазивных микозов из категорий «доказанный» ($n = 8$), «вероятный» ($n = 38$) и «возможный» ($n = 63$). Излечение при назначении микафунгина было достигнуто у 134 (68%) из 197 больных, из них при эмпирической терапии – у 71 (80,7%) из 88 больных. В другом исследовании по сравнительному анализу эмпирического применения каспофунгина ($n = 161$) и микафунгина ($n = 173$) в трех североамериканских клиниках летальность (7,5% против 7,4%) и частота инвазивных микозов (10,6% против 13,7%) были сопоставимы в обеих группах больных [17]. По причине отсутствия достаточного числа исследований по превентивному назначению антимикотиков, экспертами ECIL не даны какие-либо рекомендации касательно данного подхода применения противогрибковых препаратов. В нашем исследовании во всех случаях при эмпирическом назначении микафунгина была достигнута нормализация температуры тела в период гранулоцитопении, при превентивном – нормализация температуры тела и регрессия изменений в легких. Ни у одного больного не было развития инвазивного микоза.

Микафунгин обладает невысокой частотой побочных явлений, включая низкую гепатотоксичность. В многоцентровом исследовании из США, включавшем 2970 больных, которым назначали микафунгин, и 6726 больных

из группы сравнения, получавших другие антимикотики, частота развития печеночной недостаточности была сопоставимой в обеих группах (13 и 12%) [18]. В исследовании по анализу эффективности первичной противогрибковой профилактики, включавшем 283 реципиентов аллогенных ($n = 227$) и аутологичных ($n = 56$) СГК, отмечена статистически значимо меньшая частота снятия больных с протокола по причине развития нежелательных явлений при применении микафунгина (4,4%) в сравнении с итраконазолом (21,1%; $p < 0,001$) при сопоставимой частоте инвазивных микозов (7,4% против 5,4%; $p = 0,48$) [19].

В нашем исследовании превышение референсных значений одного и более из исследуемых показателей функции печени перед назначением микафунгина отмечено у 21 (60%) из 35 больных. Доля этих больных существенно не возросла во время использования микафунгина. В процессе применения микафунгина доля больных, имевших повышение значений одного и более из исследуемых показателей функции печени от 2-й степени и выше, при профилактике осталась прежней (43%), при лечении – увеличилась от исходного на 15% (с 27 до 42%). Существует ограниченное число исследований по применению микафунгина у больных с печеночной недостаточностью. В работе из Японии [20] у 66 больных в группе каспофунгина и у 135 в группе микафунгина частота повышения показателей функции печени от 3-й степени и выше по критериям СТСАЕ 4.0 была сопоставимой (6,1% против 7,4%; $p = 0,95$) и увеличивалась до 10,7 и 21,1% соответственно при исходном повышении исследуемых показателей от 2-й степени и более перед назначением эхинокандинов. В другой работе [21] на небольшом количестве больных ($n = 12$) доля больных, имевших признаки печеночной недостаточности перед назначением микафунгина, снизилась в процессе использования препарата с 66,7 до 41,7%.

Нами был выполнен анализ изменения показателей медиан АСТ, АЛТ и билирубина за 28 дней применения микафунгина у больных со значениями этих показателей исходно нормальными и превышающими референсные. В группе больных с исходно нормальными значениями показателей функции печени, медианы исследуемых параметров в процессе использования микафунгина сохранялись в пределах референсных значений, в другой группе – снижались. Приведенные данные свидетельствуют в пользу того, что микафунгин не оказывает существенного влияния на значения параметров функции печени, в том числе и у больных, имевших на момент назначения микафунгина повышение этих показателей. Можно предположить, что повышение значений показателей функции печени было обусловлено наличием у больных острой или хронической РТПХ, венноокклюзионной болезнью, вирусного гепатита или иными причинами, не связанными с назначением микафунгина.

Заключение

Следует отметить, что в нашем исследовании показанием к назначению микафунгина у 46% больных была первичная профилактика инвазивных микозов у реципиентов алло-СГК с острой и хронической РТПХ, получающих глюкокортикостероиды в суточной дозе от 1 мг/кг и выше, при невозможности применения позаконазола. У остальных 54% больных микафунгин назначали для лечения доказанных и предполагаемых инвазивных микозов у больных с опухолями системы крови. Отмечена эффективность микафунгина как в профилактике у реципиентов алло-СГК с острой и хронической РТПХ, так и в лечении. Особо стоит подчеркнуть, что назначение микафунгина 21 (60%) больному с повышением показателей функции печени 1–4-й степени не привело к существенному увели-

чению этих параметров, подтверждая тем самым низкую гепатотоксичность препарата, что крайне важно в гематологической практике.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клясова Г.А., Охмат В.А., Васильева В.А., Попова М.О., Капорская Т.С., Свешникова Ю.В. и др. Инвазивные микозы у больных острыми лейкозами и у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток. Результаты многоцентрового проспективного наблюдательного исследования в России (RIFI). *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(1, Suppl. 1): 19.
3. Клясова Г.А., Блохина Е.В., Грачева А.Н., Кравченко С.К., Паровичникова Е.Н., Охмат В.А. и др. Факторы, влияющие на излечение у больных гемобластозами и кандидемией. *Терапевтический архив*. 2015; 87(7): 77–87. doi: 10.17116/terarkh20158777-87.
5. Веселов А.В., Козлов Р.С. Инвазивный кандидоз: современные аспекты эпидемиологии, диагностики, терапии и профилактики у различных категорий пациентов (в вопросах и ответах). *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2016; 18(S2): 1–104.
7. Клясова Г.А. Антимикробная терапия. В кн.: Савченко В.Г., ред. Программное лечение заболеваний системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. М.: *Практика*; 2012: 827–84.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

1. Klyasova G.A., Okhmat V.A., Vasilyeva V.A., Popova M.O., Kaporskaya T.S., Sveshnikova U.V., et al. Invasive mycoses in patients with acute leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients. Results of prospective observational multicenter study in Russia (RIFI). *Russian Journal of Hematology and Transfusiology. (Gematologiya i transfusiologya)*. 2016; 61(1, Suppl. 1): 19. (in Russian)
2. Nucci M., Garnica M., Gloria A.B., Lehueur D.S., Dias V.C., Palma L.C., et al. Invasive fungal diseases in haematopoietic cell transplant recipients and in patients with acute myeloid leukaemia or myelodysplasia in Brazil. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2013, 19(8): 745–51. doi: 10.1111/1469-0691.12002.
3. Klyasova G.A., Blokhina E.V., Gracheva A.N., Kravchenko S.K., Parovichnikova E.N., Okhmat V.A., et al. Factors influencing recovery in patients with hemoblastoses and candidemia. *Therapeutic archive. Russian Journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2015; 87(7): 77–87. (in Russian). doi: 10.17116/terarkh20158777-87.
4. ASTELLAS PHARMA US INC.: Mycamine® (micafungin sodium) for injection prescribing information. Tokyo: Astellas Pharma, US, Inc.; 2007.
5. Veselov A.V., Kozlov R.S. Invasive candidiasis: current aspects of epidemiology, diagnosis, therapy and prevention in different categories of patients (in questions and answers). *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. Russian Journal (Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya)*. 2016; 18(S2): 1–104. (in Russian).
6. Wiederhold N., Lewis J. The echinocandin micafungin: A review of the pharmacology, spectrum of activity, clinical efficacy and safety. *Expert Opin. Pharmacother.* 2007; 8(8):1155–66. doi: 10.1517/14656566.8.8.1155.
7. Klyasova G.A. Antimicrobial therapy. In: Savchenko V.G., ed. Program treatment of blood system diseases. Moscow: *Praktika*; 2012: 829–53. (in Russian)
8. De Pauw B., Walsh T.J., Donnelly J.P., Stevens D.A., Edwards J.E., Calandra T., et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European organization for research and treatment of cancer/invasive fungal infections cooperative group and the national institute of allergy and infectious diseases mycoses study group (EORTC/MSG) consensus group. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46(12): 1813–21. doi: 10.1086/588660.
9. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), Version 4.03, June 14, 2010. US Department of Health and Human Services. National Institutes of Health National Cancer Institute. Available at: http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf (accessed 24 Nov 2017).
10. Maertens J., Marchetti O., Herbrecht R., Cornely O.A., Flückiger U., Frere P., et al. European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: summary of the ECIL 3-2009 update. *Bone Marrow Transplant.* 2011; 46(5): 709–18. doi: 10.1038/bmt.2010.175.
11. Maertens J. Primary antifungal prophylaxis. Available at: <https://www.ebmt.org/Contents/Resources/Library/ECIL/Documents/2014%20ECIL5/ECIL5antifungalprophylaxis%20%2020062014%20Final.pdf> (accessed 24 Nov 2017).
12. van Burik J.A.H., Ratanatharathorn V., Stepan D.E., Miller C.B., Lipton J.H., Vesole D.H., et al. Micafungin versus fluconazole for prophylaxis against invasive fungal infections during neutropenia in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39(10): 1407–16. doi: 10.1086/422312.
13. Tissot F., Agrawal S., Pagano L., Petrikos G., Groll A.H., Skiada A., et al. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica*. 2017; 102(3): 433–44. doi: 10.3324/haematol.2016.152900.
14. Kuse E.R., Chetchotaksak P., da Cunha C.A., Ruhnke M., Barrios C., Raghunadharao D., et al. Micafungin versus liposomal amphotericin B for candidaemia and invasive candidiasis: a phase III randomised double-blind trial. *Lancet*. 2007; 369(9572): 1519–27. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60605-9.

15. Pappas P.G., Rotstein C.M., Betts R.F., Nucci M., Talwar D., De Waele J.J., et al. Micafungin versus caspofungin for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 45(7): 883–93. doi: 10.1086/520980.
16. Tamura K., Urabe A., Yoshida M., Kanamaru A., Kadera Y., Okamoto S., et al. Efficacy and safety of micafungin, an echinocandin antifungal agent, on invasive fungal infections in patients with hematological disorders. *Leuk. Lymphoma*. 2009; 50(1): 92–100. doi: 10.1080/10428190802635500.
17. Kubiak D.W., Bryar J.M., McDonnell M.A., Delgado-Flores J.O. Mui E., Baden L.R. Caspofungin vs micafungin for empirical therapy in adult neutropenic patients with persistent fever: a retrospective analysis. Proc. 48th Interscience Conference on Antimicrob. Agents Chemother. Washington, 25–28 Oct. 2008. Available at: <http://www.abstractsonline.com/viewer/viewAbstract.asp?CKey={EF0CE200-93C4-4625-8CDE-62E78BC17090}&MKey={26DFAE32-3D6D-446F-9AE5-B759FE42C683}&AKey={B156596F-4F2B-4B7B-9988-53EF0A523ACC}&SKey={41A9FE49-0419-4B58-A874-6663711FCEBB}> (accessed 24 Nov 2017)
18. Schneeweiss S., Carver P.L., Datta K., Galar A., Johnson M.D., Johnson M.G., et al. Short-term risk of liver and renal injury in hospitalized patients using micafungin: a multicentre cohort study. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016; 71(10): 2938–44. doi:10.1093/jac/dkw225.
19. Huang X., Chen H., Han M., Zou P., Wu D., Lai Y., et al. Multicenter, randomized, open-label study comparing the efficacy and safety of micafungin versus itraconazole for prophylaxis of invasive fungal infections in patients undergoing hematopoietic stem cell transplant. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2012; 18(10): 1509–16. doi:10.1016/j.bbmt.2012.03.014.
20. Shibata Y., Hagihara M., Kato H., Kawasumi N., Hirai J., Nishiyama N., et al. Caspofungin versus micafungin in the incidence of hepatotoxicity in patients with normal to moderate liver failure. *J. Infect. Chemother.* 2017; 23(6): 349–53. doi: 10.1016/j.jiac.2017.02.008.
21. Luque S., Campillo N., Alvarez-Lerma F., Ferrandez O., Horcajada J.P., Grau S. Pharmacokinetics of micafungin in patients with pre-existing liver dysfunction: A safe option for treating invasive fungal infections. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2016; 34(10): 652–4. doi: 10.1016/j.eimc.2015.02.021.

Поступила 24.11.17

Принята к печати 29.12.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 615.38:612.111.7]-015.4

Азимова М. Х., Гапонова Т.В., Галстян Г.М., Гальцева И.В.,
Давыдова Ю.О., Капранов Н.М., Савченко В.Г.

ИЗМЕНЕНИЯ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ ДОНОРСКИХ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ХРАНЕНИИ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ИНАКТИВАЦИИ ПАТОГЕНОВ С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ АМОТОСАЛЕН И УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЕ ОБЛУЧЕНИЕ СПЕКТРА А

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России,
125167, г. Москва, Россия

Представлены результаты по изучению влияния технологии редукции патогенов амотосален и ультрафиолетовое облучение спектра А на маркеры активации донорских тромбоцитов – антиген CD62P, связывание с антителом PAC-1 под действием аденозиндифосфата (АДФ) – при суспендировании тромбоцитов в цельной плазме донора и в добавочном растворе SSP⁺, замещающем 70% донорской плазмы, при хранении до 7 сут. Во всех образцах концентратов тромбоцитов в процессе хранения наблюдалась тенденция к увеличению доли спонтанно активированных тромбоцитов и уменьшению доли тромбоцитов, способных к специфической активации под действием агониста АДФ. Проведение патогенредукции не повлияло на способность к специфической активации тромбоцитов, но привело к увеличению доли спонтанно активированных тромбоцитов. Замещение плазмы раствором SSP⁺ привело к увеличению доли спонтанно активированных тромбоцитов, но при длительном хранении (к 7-му дню) способствовало сохранению доли функционально активных тромбоцитов.

Ключевые слова: концентрат тромбоцитов; редукция патогенов; технология амотосален+УФА; добавочный раствор SSP⁺; P-селектин; антиген CD62P; антитела PAC-1.

Для цитирования: Азимова М. Х., Гапонова Т.В., Галстян Г.М., Гальцева И.В., Давыдова Ю.О., Капранов Н.М., Савченко В.Г. Изменения маркеров активации донорских тромбоцитов при хранении после проведения инактивации патогенов с помощью технологии амотосален и ультрафиолетовое облучение спектра А. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(4): 197–203. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-197-203>

Azimova M.Kh., Gaponova T.V., Galstyan G.M., Galtseva I.V., Davydova Yu.O., Kapranov N.M., Savchenko V.G.

CHANGES OF PLATELET ACTIVATION MARKERS IN DONOR PLATELETS CONCENTRATES DURING THE STORAGE AFTER THE INACTIVATION OF PATHOGENS BY AMOTOSALEN AND ULTRAVIOLET A RADIATION TECHNOLOGY

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

Pathogen inactivation treatment of platelet concentrates improves the transfusion safety. The influence of the pathogen inactivation on the platelet activation remained unclear. The aim of the study was to evaluate the changes of the platelet activation markers in donor platelets concentrates during the storage after the inactivation of pathogens by amotosalen and ultraviolet A. By flow cytometry CD62P (P-Selectin) and activated GPIIb/IIIa surface expression were estimated with a mouse-anti-human IgG1 CD62-PE antibodies and mouse-anti-human GPIIb/IIIa-FITC (PAC-1) antibodies. In platelet concentrates during the storage the fraction of the spontaneously activated platelets increased and fraction of the platelets capable of specific activation under the action of the ADP agonist decreased. The pathogen reduction did not affect the ability of platelets to specific activity, but led to an increase in the fraction of the spontaneously

activated platelets. Replacement of plasma with a solution SSP⁺ led to the increase in the proportion of spontaneously activated platelets, but during prolonged storage has contributed to the preservation of the fraction of functionally active platelets.

Key words: platelet concentrate; reduction of pathogens; technology amotosalen + UVA; platelet additive solution (pas); pH; P-selectin; CD62P antigen; PAC-1 antibodies.

For citations: Azimova M.Kh., Gaponova T.V., Galstyan G.M., Galtseva I.V., Davydova Yu.O., Kapranov N.M., Savchenko V.G. Changes of platelet activation markers in donor platelets concentrates during the storage after the inactivation of pathogens by amotosalen and ultraviolet A radiation technology. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i Transfusiologya)*. 2017; 62(4): 197-203. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-197-203>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 26 Sept 2017

Accepted 29 Dec 2017

Концентрат тромбоцитов (КТ) используется для коррекции тромбоцитопении [1]. КТ является потенциально наиболее опасной трансфузионной средой – с одной стороны, из-за короткого срока хранения, с другой стороны, из-за хранения при комнатной температуре, что делает невозможной карантинизацию этого компонента крови и не позволяет исключить рост микроорганизмов в случае его контаминации. Дополнительную опасность представляет собой содержание в КТ донорской плазмы, которая может быть не только источником гемотрансмиссивных инфекций, но и причиной аллергических реакций, активации системы комплемента, гемолиза и др. [2]. Для повышения безопасности трансфузий в последние годы применяется технология редукции патогенов в концентрате донорских тромбоцитов [3]. Однако вопрос сохранения функциональной активности тромбоцитов после проведения редукции патогенов остается открытым. В литературе мало работ [4–6], посвященных влиянию технологии инактивации патогенов на функциональную активность тромбоцитов при разных сроках хранения. Ранее нами и другими исследователями были описаны преимущества применения аддитивных растворов, которые лучше сохраняют целостность мембраны тромбоцитов и стабильно поддерживают уровень pH в течение всего срока хранения, уменьшают скорость потребления глюкозы и накопление молочной кислоты [7–11]. В настоящей работе оценена активация тромбоцитов в КТ в зависимости от среды суспендирования, инактивации патогенов и сроков хранения.

Цель работы – сравнить функциональную активность тромбоцитов, суспендированных в плазме и в добавочном растворе, подвергшихся и не подвергшихся инактивации патогенов, при хранении от 1 до 7 дней.

Материалы и методы

Сбор тромбоцитов проводили на сепараторе клеток Trima Accel (“Cardian”, США) в соответствии с инструкцией изготовителя. КТ, содержащие 8×10^{11} /клеток, получали в объеме

Для корреспонденции:

Азимова Мухайёхон Ходжиевна, врач-трансфузиолог отделения клинической трансфузиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр Гематологии» Минздрава России, 126167, г. Москва, Россия. E-mail: mayya-azim@mail.ru.

For correspondence:

Azimova Mukhaytkhon Kh., physician of the Department of clinical Transfusiology, National Medical Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian federation. E-mail: mayya-azim@mail.ru.

Information about authors:

Azimova M.H., <http://orcid.org/0000-0003-4453-7187>;
Gaponova T.V., <http://orcid.org/0000-0002-9684-5045>;
Galstyan G.M., <http://orcid.org/0000-00031-8818-8949>;
Galtseva I.V., <http://orcid.org/0000-0002-8490-6066>;
Davydova Yu.O., <http://orcid.org/0000-0001-5932-0285>;
Kapranov N.M., <http://orcid.org/0000-0002-6512-910x>;
Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>.

520 мл и суспендировали либо в 100% плазме донора (КТ_{плазма}, $n = 25$), либо в суспензии, состоящей из 70% добавочного раствора и 30% донорской плазмы (КТ_{ssp+}, $n = 24$). В качестве добавочного раствора применяли SSP⁺, который добавляли к гиперконцентрированному КТ в расчете 65 мл на $0,6 \times 10^{11}$ клеток. Для этого использовали устройство для стерильного запаивания трубок пластиковых гемоконтейнеров TSCD-II (“Terumo”, США). Суспензия была подготовлена из расчета 364 мл (70%) раствора SSP⁺ на 156 мл (30%) донорской плазмы. От исходных 2 типов КТ в день заготовки отделяли в полимерные контейнеры по 100 мл КТ и использовали их в качестве контроля (КТ_{плазма} и КТ_{ssp+}). На следующий день после получения отрицательных результатов тестов на гемотрансмиссивные инфекции проводили обработку оставшихся 420 мл КТ по технологии Интерсепт, в результате чего получали два вида патогенредуцированных КТ (ПРКТ) – ПРКТ_{плазма} и ПРКТ_{ssp+} (рис. 1). Из каждого вида ПРКТ отделяли в полимерные контейнеры по 100 мл для исследований. Оставшиеся 320 мл ПРКТ обоих видов выдавали реципиентам для трансфузий (см. рис. 1). Все КТ подвергали лейкоредукции с помощью встроенной камеры для лейкоредукции LRC (“Terumo”, США) и проводили стандартный контроль на AB0, CcEe, Келл, RhD, анти-ВИЧ 1 и 2, HBsAg, анти-HBs, анти-HCV, DNA HBV, RNA HCV и RNA антитела к ВИЧ. Помимо этого, проводили контроль всех заготовленных КТ на соответствие критериям качества, предусмотренным техническим регламентом [12]. Редукцию патогенов КТ по технологии Интерсепт проводили с использованием амотосалена и ультрафиолетового облучения лучами спектра А (УФА) (“Blood System”) [13]. Данный метод включает в себя три этапа. На первом этапе контейнер с КТ соединяли с одноразовым комплектом INTERCEPT для редукции патогенов, в который добавляли амотосален до концентрации 150 мкМ. Следующий этап – облучение УФА интенсивностью 3 Дж/см² с помощью аппарата INT100 (облучатель INTERCEPT, Cerus Corporation, “Concord”, США). После УФА-облучения проводили 3-й этап – адсорбцию остаточного амотосалена и продуктов фотораспада с помощью адсорбирующего элемента САД. Контейнер КТ с адсорбирующим элементом помещали в тромбомиксер в режиме постоянного встряхивания при температуре 20–24°C на время, указанное производителем, с учетом среды суспендирования [13]. Продолжительность инкубации с адсорбентом САД составила 16 ч в соответствии с инструкцией производителя. Спонтанную активацию тромбоцитов в КТ оценивали по уровню экспрессии Р-селектина (CD62P) на поверхности мембраны тромбоцитов. Помимо спонтанной активации определяли долю тромбоцитов, связавшихся с антителом PAC-1 под действием агониста – аденозиндифосфата (АДФ). Антитело PAC-1 взаимодействуют только со специфически активированными тромбоцитами. Агрегация тромбоцитов возможна при наличии рецепторов к фибриногену, который содержится в гликопротеине GPIIb-IIIa. Моноклональные антитела PAC-1 специфичны именно к конформационно-измененному комплексу GPIIb-IIIa и распознают эпитоп, расположенный поблизости от фибриноген-связывающего рецептора [14].

CD62P и PAC-1 исследовали методом проточной цитофлюориметрии. Для выполнения проточной цитофлюориметрии образцы КТ разводили буфером CellWash (“BD Biosciences”, США) до концентрации $2-3 \times 10^7$ клеток/мл. Для активации тромбоцитов к разведенному буфером КТ добавляли раствор

хлорида кальция до конечной концентрации 2,5 мМ. Эти пробы использовали для оценки спонтанной активации тромбоцитов. Для оценки специфической активации тромбоцитов к полученным образцам добавляли АДФ («РЕНАМ», Россия) в концентрации 20 мкМ и инкубировали в течение 2 мин, затем добавляли моноклональные антитела Anti-CD62P PE («BD Pharmingen», США) и PAC-1 FITC («BD Biosciences», США) и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 6 мин. Цитометрический анализ проводили с помощью проточного цитофлюориметра BD FACSCanto II («BD Biosciences», США). Детекцию тромбоцитов выполняли по показателям бокового и прямого светорассеяния. Далее оценивали долю CD62P- и PAC-1-положительных тромбоцитов в пробе без добавления специфического активатора (спонтанно активированные тромбоциты, экспрессирующие антиген CD62P) и в пробе после активации с помощью АДФ (функционально активные тромбоциты, с которыми антитела PAC-1 связывались после специфической активации агонистом АДФ). Пример стратегии гейтирования представлен на **рис. 2**.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного пакета GraphPad Prism 6.0.1. Графические данные представлены в виде «боксов с усами», на которых обозначены минимальное и максимальное значения, медиана, среднее значение, нижний и верхний квартили (25 процентиль и 75 процентиль соответственно). Данные в тексте представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка среднего. Статистическая значимость принята $p = 0,05$.

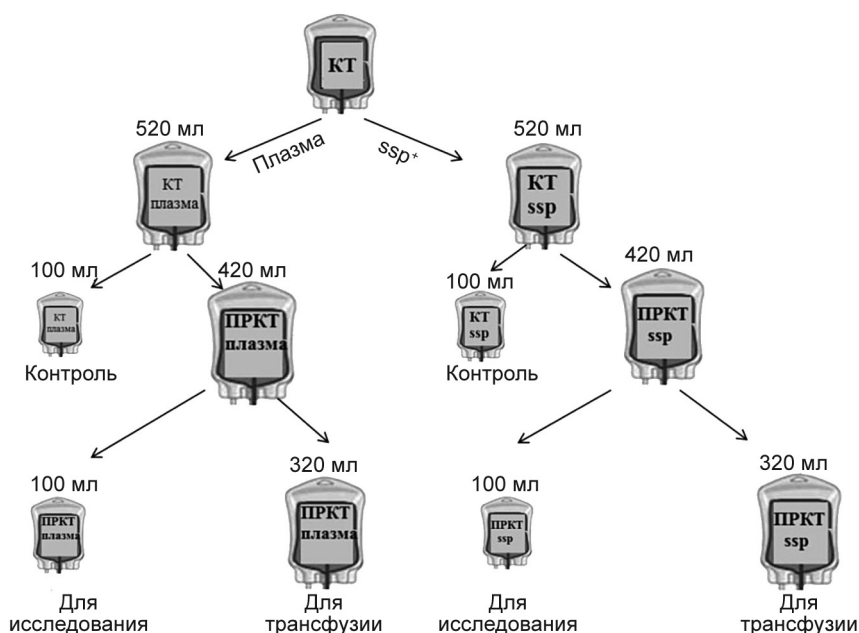


Рис. 1. Схема отделения образцов КТ для исследования.

Перед проверкой различий средних значений выборку проводили тест Шапиро–Уилка для определения нормального распределения (отличными от нормального считали распределения при уровне значимости $p < 0,05$). Для нормальных распределений различия в средних двух несвязанных выборок определяли с помощью непарного t -критерия Стьюдента, для выборок с ненормальным распределением различия в средних двух

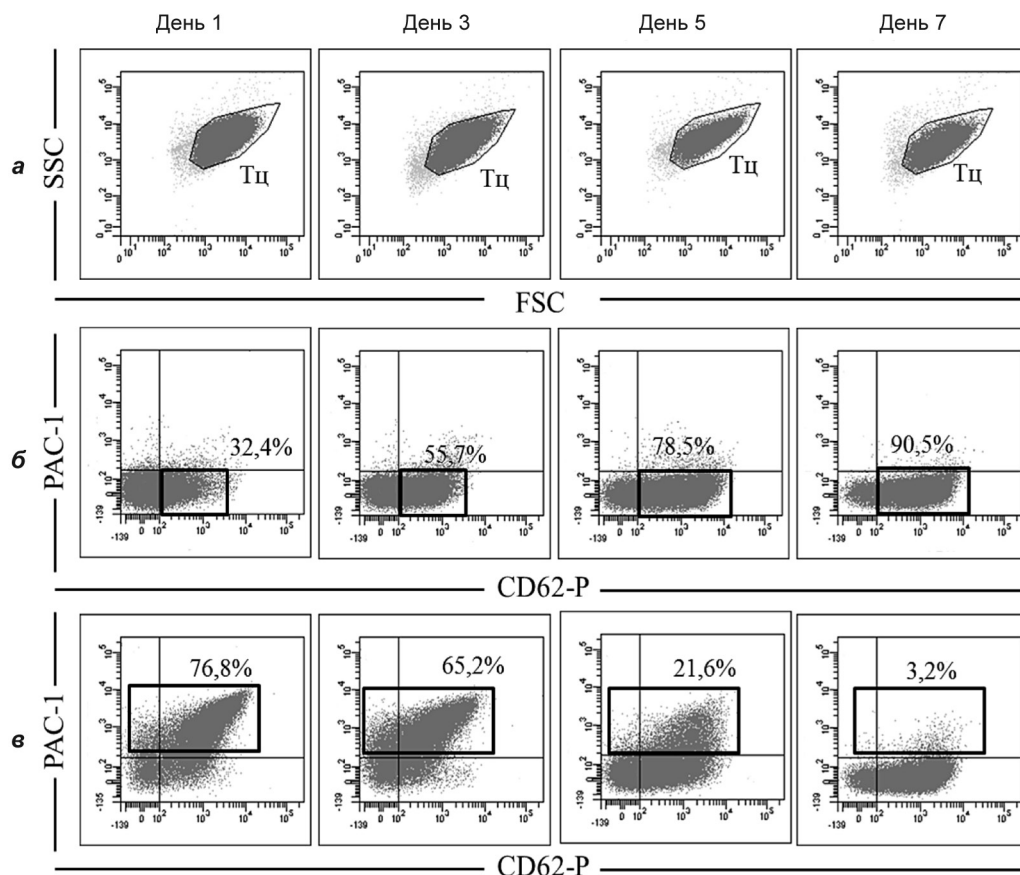


Рис. 2. Стратегия гейтирования тромбоцитов:

а – выделение тромбоцитов по показателям прямого и бокового светорассеяния; б – спонтанная активация тромбоцитов: определяется доля CD62P-положительных тромбоцитов в пробах без добавления АДФ; в – специфическая активация тромбоцитов после добавления агониста АДФ: определяется доля PAC-1⁺/CD62P⁺-тромбоцитов.

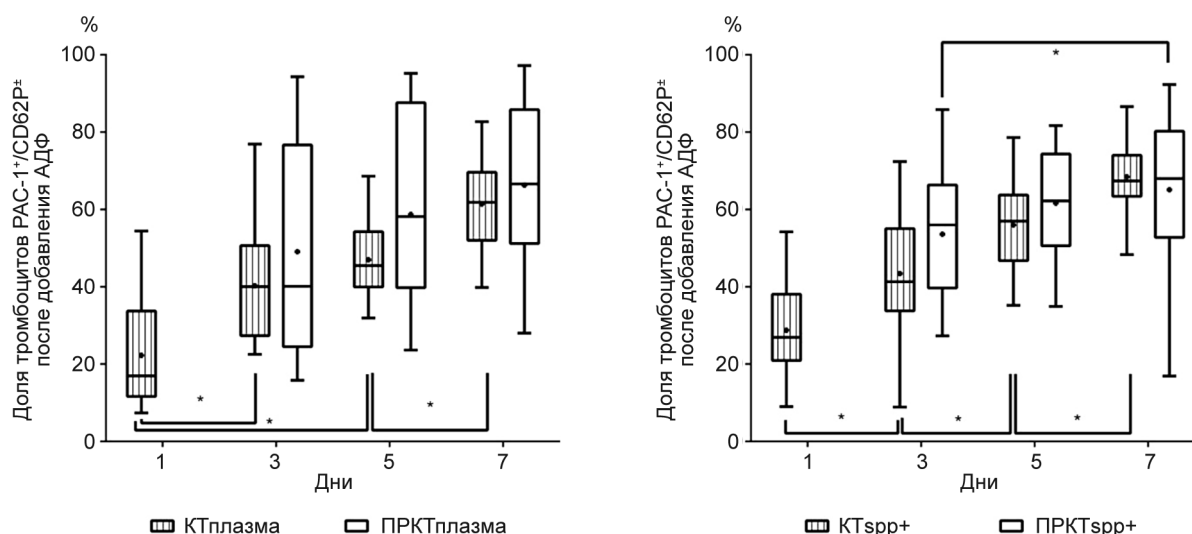


Рис. 3. Доля тромбоцитов, спонтанно экспрессирующих антиген CD62P, в зависимости от сроков хранения во всех исследуемых образцах КТ.

* – различия статистически значимы ($p < 0,05$).

несвязанных выборок определяли с помощью непараметрического *U*-теста Манна–Уитни. Множественные сравнения проводили с помощью теста ANOVA. Значимыми признавали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Влияние сроков хранения на функции заготовленных тромбоцитов

В день заготовки КТ_{плазма} доля спонтанно активированных тромбоцитов составила $22,3 \pm 3,5$ %. В процессе хранения КТ, суспендированных в плазме, значимо ($p < 0,05$) увеличивалась доля спонтанно активированных тромбоцитов, достигнув максимального значения к 7-м суткам хранения ($61,4 \pm 2,6$ %), т.е. через неделю хранения более половины тромбоцитов в заготовленном КТ были спонтанно активированы (рис. 3; таблица). В ПРКТ_{плазма} с первой точки исследования (3-и сутки) и на протяжении всего периода хранения (на 5-е, 7-е сутки) доля спонтанно активированных тромбоцитов статистически значимо не менялась (см. рис. 3), несмотря на то, что в КТ_{плазма} (исходном компоненте, из которого был изготовлен ПРКТ_{плазма}) данный параметр был уже повышен и к 3-м суткам хранения достигал $40,2 \pm 3,1$ %.

Функциональная активность тромбоцитов при разных сроках хранения

КТ	Дни хранения			
	1-й	3-й	5-й	7-й
<i>Доля спонтанно активированных тромбоцитов, %</i>				
КТ _{плазма}	$22,3 \pm 3,5$	$40,2 \pm 3,1$	$47,0 \pm 2,4$	$61,4 \pm 2,6$
КТ _{ssp+}	$28,7 \pm 2,3^*$	$43,4 \pm 3,1$	$56,0 \pm 2,2^*$	$68,5 \pm 1,9^*$
ПРКТ _{плазма}	–	$49,1 \pm 6,6$	$58,7 \pm 6,2$	$66,3 \pm 5,3$
ПРКТ _{ssp+}	–	$53,6 \pm 3,3$	$61,7 \pm 2,7$	$65,1 \pm 3,6$
<i>Доля АДФ-активированных тромбоцитов, %</i>				
КТ _{плазма}	$65,0 \pm 6,0$	$35,1 \pm 4,0$	$27,5 \pm 2,9$	$12,0 \pm 2,6$
КТ _{ssp+}	$49,0 \pm 5,9$	$28,7 \pm 4,1$	$21,0 \pm 2,2^*$	$17,7 \pm 1,9^*$
ПРКТ _{плазма}	–	$36,3 \pm 5,2$	$27,2 \pm 5,3$	$8,1 \pm 2,3$
ПРКТ _{ssp+}	–	$26,4 \pm 4,3$	$21,4 \pm 2,7$	$18,8 \pm 2,8^{**}$

Примечание. Статистически значимые различия $p < 0,05$:
* – между КТ_{плазма} и КТ_{ssp+}; ** – между ПРКТ_{плазма} и ПРКТ_{ssp+}.

В то же время функция тромбоцитов ухудшалась по мере хранения. В КТ_{плазма} значимо уменьшалась доля тромбоцитов, способных отвечать на стимуляцию АДФ, через 3, 5 и 7 сут ($p < 0,05$) (см. рис. 3, таблицу). В ПРКТ_{плазма} доля тромбоцитов, отвечающих на стимуляцию АДФ, с 3-х по 7-е сутки хранения также значимо снижалась. Аналогичные изменения наблюдали и в тромбоцитах, суспендированных в добавочном растворе. В день заготовки КТ_{ssp+} доля спонтанно активированных тромбоцитов составила $28,7 \pm 2,3$ % и при хранении статистически значимо увеличилась. В ПРКТ_{ssp+} значимое увеличение доли спонтанно активированных тромбоцитов выявлено между 3-ми и 7-ми сутками хранения. Доля тромбоцитов, отвечающих на стимуляцию АДФ, значимо уменьшалась на протяжении 7 дней хранения КТ_{ssp+}. При хранении доля стимулированных АДФ тромбоцитов в ПРКТ_{ssp+} значимо не менялась (см. рис. 3; таблицу).

Влияние среды заготовки на функции заготовленных тромбоцитов в процессе хранения

Еще одной задачей работы было сравнить функцию тромбоцитов в зависимости от среды, в которой они были суспендированы.

С первого дня заготовки и на всех сроках хранения до 7-х суток (за исключением 3-х суток) доля спонтанно активированных тромбоцитов в КТ_{плазма} была значимо ниже, чем в КТ_{ssp+} ($p < 0,05$). Доля АДФ-активированных тромбоцитов была одинаковой в первые 3 дня, однако на 5-е сутки их доля была больше в КТ_{плазма}, чем в КТ_{ssp+}, а на 7-е сутки доля АДФ-активированных тромбоцитов стала больше в КТ_{ssp+}, чем в КТ_{плазма}.

После проведения редукции патогенов доля спонтанно активированных тромбоцитов в процессе хранения в ПРКТ_{плазма} и ПРКТ_{ssp+} значимо не различалась. Доля тромбоцитов, отвечающих на стимуляцию АДФ, на 3-и и 5-е сутки также значимо не различалась в ПРКТ_{плазма} и ПРКТ_{ssp+}, однако на 7-е сутки их доля в ПРКТ_{плазма} была значимо меньше, чем в ПРКТ_{ssp+}.

Влияние технологии редукции патогенов на функции заготовленных тромбоцитов в процессе хранения

Не выявлено статистически значимых различий между долями спонтанно активированных тромбоцитов и тромбоцитов, активированных АДФ, между ПРКТ и КТ на протяжении всего срока хранения за исключением

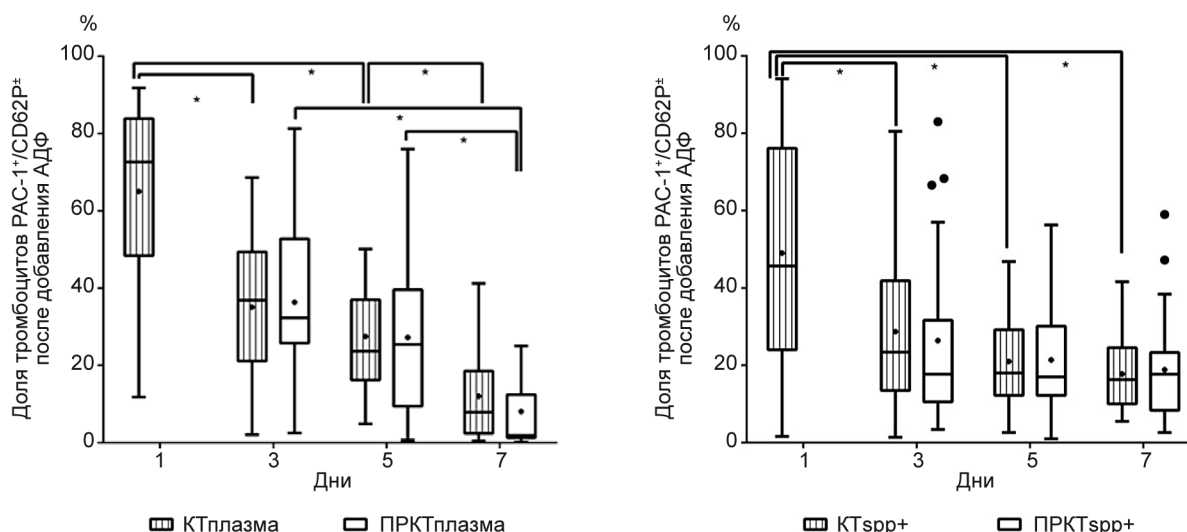


Рис. 4. Доля PAC-1⁺/CD62P⁺-тромбоцитов после добавления АДФ в зависимости от сроков хранения во всех исследуемых образцах. * – различия статистически значимы ($p < 0,05$).

доли спонтанно активированных тромбоцитов в добавочном растворе на 3-и сутки, т.е. в сутки, когда они были заготовлены. В день редукции патогенов доля спонтанно активированных тромбоцитов в ПРКТ_{спп+} была значимо больше, чем в КТ_{спп+} ($p < 0,05$). Однако при дальнейшем хранении эти различия не наблюдались (см. таблицу).

Обсуждение

Тромбоциты в КТ в процессе сбора, заготовки и хранения претерпевают целый ряд изменений, обозначаемых как «повреждение тромбоцитов при хранении» (platelet storage lesions) [15, 16]. При этом в тромбоцитах происходит ослабление экспрессии гликопротеина (ГП) 1b-IX-V, конформационные изменения комплекса IIb-IIIa, ответственного за связь с фибриногеном. Активация внутриклеточной сигнальной системы приводит к высвобождению биологически активных веществ, в частности, к дегрануляции α -гранул с высвобождением Р-селектина (CD62P), который транслоцируется к поверхности активированной клетки. Антиген CD62P относят к семейству селектинов. Он опосредует адгезию активированных тромбоцитов и в состоянии покоя находится на внутренней поверхности мембраны гранул, а при активации обнаруживается на поверхности активированных тромбоцитов [16]. Обнаружение данного антигена на поверхности неактивированных тромбоцитов является свидетельством их спонтанной активации. В результате спонтанной активации дегранулированные тромбоциты могут явиться причиной неэффективности трансфузии КТ [17]. Показано, что чем больше экспрессия Р-селектина в КТ, оцененная по уровню альфа-гранулярного мембранного протеина 140, тем меньше прирост тромбоцитов после трансфузии у реципиента [18]. Поэтому в процессе изготовления и хранения КТ следует стараться минимизировать спонтанную активацию тромбоцитов [2] путем уменьшения срока хранения КТ, подбора среды суспендирования для тромбоцитов и др.

В данной работе с увеличением срока хранения увеличивалась экспрессия Р-селектина прежде всего в КТ, не подвергавшихся редукции патогенов (как в КТ_{плазма}, так и в КТ_{спп+}). В КТ, суспендированных в аналогичных средах, но подвергшихся редукции патогенов (ПРКТ_{плазма} и ПРКТ_{спп+}), не отмечалось значимого увеличения экспрессии CD62P (только в ПРКТ_{спп+} с 3-х на 7-е сутки). При сравнении между собой патогенредуцированных и непатогенредуци-

рованных КТ, суспендированных в аналогичных средах, мы не выявили значимых различий доли спонтанно активированных и АДФ-активированных тромбоцитов. Таким образом, редукция патогенов в нашем исследовании препятствовала спонтанной активации тромбоцитов в процессе хранения. Эти данные соответствуют результатам Р. Sandgren и В. Diedrich [6], которые не выявили значимого увеличения экспрессии CD61 (маркера активации) и CD42 (маркера адгезии) при редукции патогенов по технологии амотосален + УФА ни в процессе хранения в течение 7 суток, ни при сравнении с КТ, не подвергавшимися редукции патогенов. Эти данные противоречат результатам О.В. Карповой [24], согласно которой при сравнительной оценке КТ, обработанных по технологии рибофлавин + УФВ, спонтанная активация тромбоцитов, заготовленных в плазме, увеличилась. Полученные разногласия можно объяснить различиями в технологии редукции патогенов.

М. Abonnenc и соавт. [19] изучали влияние метода редукции патогенов на функцию тромбоцитов. Они показали, что при инактивации патогенов амотосаленом + УФА, рибофлавином + УФВ или только УФВ наибольшую экспрессию Р-селектина (CD62P) вызывала обработка рибофлавином + УФВ. При обработке амотосаленом выявлялся тот же профиль спонтанной активации тромбоцитов, что и в КТ, не подвергавшихся редукции патогенов, в то время как обработанные рибофлавином тромбоциты показали значительно большее усиление экспрессии Р-селектина, чем необработанные тромбоциты. Авторы [19] объяснили полученные результаты различным влиянием технологий патогенредукции на функцию тромбоцитов: технология амотосален + УФА действует на белки, ответственные за активацию и агрегацию тромбоцитов, в то время как обработка рибофлавином + УФВ приводит к изменению формы тромбоцитов, влияя на актин-полимеризацию, организацию цитоскелета [19].

Полученные данные позволяют шире использовать технологию редукции патогенов в КТ, она позволяет увеличить срок хранения тромбоцитов до 7 сут, исключает необходимость их γ -облучения и обеспечивает как иммунологическую, так и инфекционную безопасность трансфузий КТ [20, 21].

Среда суспендирования, в которой хранятся КТ, также оказывает влияние на функцию тромбоцитов. При сравнении гиперконцентрированных КТ, стандартных КТ,

а также КТ, суспендированных в T-Sol ("Baxter") или PAS-27a ("Pall Medical"), наименьшая экспрессия CD62P отмечалась в КТ, суспендированном в PAS-27a [2]. В данной работе изучены КТ, заготовленные методом афереза, суспендированные в 100% донорской плазме и в добавочном растворе SSP⁺, который замещал 70% плазмы (www.mascopharma.com). Добавочный раствор для хранения тромбоцитов рассматривают [22] как дополнительный способ иммунологической и вирусной защиты. Применение аддитивных растворов позволяет сохранить целостность мембраны тромбоцитов и стабильно поддерживать уровень pH среды в течение всего срока хранения, а также уменьшает скорость потребления глюкозы и накопление молочной кислоты [6–9]. В данном исследовании использование добавочного раствора приводило к более выраженной спонтанной активации: в КТ_{ssp+} экспрессия Р-селектина была значимо больше, чем в КТ_{плазма}, причем после редукции патогенов эти различия исчезали, возможно, за счет некоторой активации, вызванной редукцией патогенов. J. de Wildt-Eggen и соавт. [23] сообщили, что использование добавочного раствора PAC-III, состав которого схож с составом SSP⁺, приводило к значимому снижению спонтанной экспрессии CD62P, чего не наблюдалось в наших результатах. Можно предположить, что причиной этого является более низкая концентрация ионов K⁺ и Mg²⁺, так как в нашей работе соотношение добавочного раствора и донорской плазмы было относительно ниже, чем примененное в этом исследовании соотношение (70/30 против 80/20 соответственно) [23].

Доля тромбоцитов, специфически активированных АДФ, в процессе хранения снижалась во всех видах КТ, что свидетельствует об уменьшении их резидуального активационного потенциала [2]. На специфическую активацию тромбоцитов процесс инактивации патогенов по технологии амотосален + УФА статистически значимого влияния не оказал, поэтому доли PAC-1⁺/CD62P⁺ тромбоцитов на всех этапах хранения оказались схожи между КТ_{плазма} и ПРКТ_{плазма}; КТ_{ssp+} и ПРКТ_{ssp+}. Уменьшение в процессе хранения доли тромбоцитов, реагирующих повышением экспрессии Р-селектина на АДФ, можно объяснить либо уменьшением их способности к выбросу Р-селектина из-за истощения его запасов вследствие предшествующей дегрануляции, либо апоптозом части тромбоцитов.

На долю связывания тромбоцитов с антителом PAC-1 влияла среда хранения тромбоцитов: в добавочном растворе на 7-й день хранения она была выше, чем в КТ, суспендированных в плазме (см. таблицу). Наши результаты сопоставимы с результатами работы О.В. Карповой [24], согласно которой при сравнительной оценке КТ, обработанных рибофлавином + УФВ, доля индуцировано активированных тромбоцитов снизилась в процессе хранения.

Возникает вопрос, насколько критично выявляемое *in vitro* увеличение спонтанной экспрессии Р-селектина на поверхности переливаемых тромбоцитов и можно ли переливать тромбоциты с высоким уровнем спонтанной экспрессии Р-селектина. Было показано, что ресуспендирование тромбоцитов в аутоплазме может приводить к улучшению агрегации [25]. После инкубации в цельной крови пациента донорских тромбоцитов в течение

1 ч в них повышалась АДФ-стимулированная экспрессия Р-селектина [26]. Предполагается, что после трансфузии происходит функциональное восстановление переливаемых тромбоцитов [26]. Экспрессию Р-селектина измеряли на тромбоцитах, полученных у больного через 1 ч после трансфузии КТ, и сравнивали с экспрессией Р-селектина *ex vivo* инкубированных донорских тромбоцитов

до трансфузии. После трансфузии *in vivo* отмечена редукция Р-селектин-положительных тромбоцитов на 89%. Предполагается, что Р-селектин-положительные тромбоциты либо быстро удаляются из циркуляции, либо освобождаются от своего Р-селектина, что делает их пригодными для выполнения функции гемостаза [26].

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что технология редукции патогенов не влияет на функциональную активность тромбоцитов, заготовленных как в 100% донорской плазме, так и в добавочном растворе SSP⁺, что открывает новые возможности использования данной технологии в рутинной практике для гематологических пациентов, нуждающихся во множественных трансфузиях КТ. Следует отметить, что сочетание применения технологии редукции патогенов со способом заготовки КТ в добавочном растворе с замещением 70% донорской плазмы обеспечивает инфекционную и иммунологическую безопасность. Данное заключение описывает характеристики донорских тромбоцитов в проведенных *in vitro* исследованиях. Для определения клинической значимости полученных результатов целесообразно проведение сравнительного исследования эффективности трансфузий различных типов КТ.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Савченко В.Г., Гармаева Т.Ц., Куликов С.М., Филатов Ф.П., Судариков А.Б., Михайлова Е.А. Эффективность и безопасность трансфузионной терапии гематологических больных. *Терапевтический архив*. 2006; 7: 12–8.
11. Азимова М.Х., Галстян Г.М., Гапонова Т.В., Карякин А.В., Крюкова Г.Н., Нехаевская С.С. и др. Биохимические параметры концентратов донорских тромбоцитов при хранении после проведения инактивации патогенов с помощью технологии амотосален + ультрафиолетовое облучение спектра А *in vitro*. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 37–40.
12. Постановление Правительства РФ от 26.01.10 №29 «Об утверждении технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии» (с изменениями и дополнениями от 12.10.2010, 4.09.2012). Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_96793/.
24. Карпова О.В., Ройтман Е.В., Игнатова А.А., Мадзаев С.Р., Румянцев С.А., Плясунова С.А., Трахтман П.Е. Оценка качества тромбоцитарного концентрата, заготовленного аферезным методом, с использованием добавочного раствора SSP⁺. *Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2014; 13(2): 20–4.

Остальные источники литературы пп. 2–10, 13–23, 25, 26 см. в References.

REFERENCES

1. Savchenko V.G., Garmayeva T.Ts., Kulikov S.M., Filatov F.P., Sudarikov A.B., Mikhaylova E.A. The efficacy and safety of transfusion therapy of hematological diseases. *Therapeutic archive. Russian journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2006; 7: 12–18. (in Russian)
2. Vetlesen A., Mirlashari M.R., Torsheim I.A., Kjeldsen-Kragh J. Platelet activation and residual activation potential during storage of hyperconcentrated platelet products in two different platelet additive solutions. *Transfusion*. 2005; 45(8): 1349–55.
3. Irsch J., Lin L. Pathogen Inactivation of Platelet and Plasma Blood Components for Transfusion Using the INTERCEPT. *Transfus. Med. Hemotherapy*. 2011; 38 (1): 19–31. doi: 10.1159/000323937.
4. Hechler B., Ohlmann Ph., Chafey Ph., Ravanat C., Eckly A., Maurer E., et al. Preserved functional and biochemical characteristics of platelet components prepared with amotosalen and ultraviolet A for pathogen inactivation. *Transfusion*. 2013; 53(6): 1187–200. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03923.x.
5. Bashir S., Cookson Ph., Wiltshire M., Hawkins L., Sonoda L., Thomas S., et al. Pathogen inactivation of platelets using ultraviolet C light: effect on *in vitro* function and recovery and survival of platelets. *Transfusion*. 2013; 53(5): 990–1000.
6. Sandgren P., Diedrich B. Pathogen inactivation of double-dose buffy-coat platelet concentrates photochemically treated with amotosalen and UVA light: preservation of *in vitro* function. *Vox Sang*. 2015; 108(4): 340–9. doi: 10.1111/vox.12322.
7. Dumont L.J., Larry J., Jose A., Friedman K.D., Vassallo R.R., Whitley P.H., et al. *In vitro* and *in vivo* quality of leukoreduced apheresis platelets stored in a new platelet additive solution. *Transfusion*. 2013; 53(5): 972–80.
8. Council of Europe. Guide to the preparation, use and Quality – Assurance of Blood Components. Strasbourg: Council of Europe Press; 2013. Available at: www.edqm.eu.
9. Gulliksson H., AuBuchon P., Cardigan R., Van Der Meer F., Murphy S., Prowse C. Storage of platelets in additive solutions: a multicentre study of the *in vitro* effects of potassium and magnesium. *Vox Sang*. 2003; 85(3): 199–205. doi: 10.1046/j.1423-0410.2003.00356.x.
10. Gupta A., Chandra T., Kumar A. *In vitro* function of random donor platelets stored for 7 days in compo-sol platelet additive solution. *Asian J. Transfus. Sci*. 2011; 5(1): 11–4. doi: 10.4103/0973-6247.7569.

11. Azimova M.Kh., Galstyan G.M., Gaponova T.V., Karyakin A.V., Kryukova G.N., Nekhaevskaya S.S., et al. Biochemical parameters of donor platelet concentrates during the storage after pathogen inactivation with the aid of technology "Amotosalen + ultra-violet A irradiation" in vitro. *Hematology and Transfusiology, Russian Journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(1): 37–40. (in Russian)
12. Decree of the Government of the Russian Federation No 29 of 26 Jan 2010. On approving the technical regulation about safety requirements of blood, its products, blood-substituting solutions and technical means used in transfusion-infusion therapy. (amendments and supplements of 12.10.2010, 4.09.2012). Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_96793/. (accessed 11 Sept 2017) (in Russian)
13. INTERCEPT bloodsystem.com/resource-center/technicalda-sheets/INTERCEPT-blood-system-for-platelets/INTERCEPTviruses.html; <http://www.cerus.com; http://www.amotocalen+УФА.bloodsystem.com> (accessed 11 Sept 2017)
14. Shattil S.J., Hoxie J.A., Cunningham M., Brass L.F. Changes in the platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa complex during platelet activation. *Biol. Chem.* 1985; 260(20): 11107–14.
15. Seghatchian J. Platelet storage lesion: an update on the impact of various leukoreduction processes on the biological response modifiers. *Transfus. Apher. Sci.* 2006; 34(1):125–30. doi: 10.1016/j.transci.2005.09.002
16. Klinger M.H. The storage lesion of platelets: ultrastructural and functional aspects. *Ann. Hematol.* 1996; 73(3): 103–12.
17. Rinder H.M., Murphy M., Mitchell J.G., Stocks J., Ault K.A., Hillman R.S. Progressive platelet activation with storage: evidence for shortened survival of activated platelets after transfusion. *Transfusion.* 1991; 31(5): 409–14.
18. Johnston G.I., Bliss B.A., Newman P.J., McEver P.J. Structure of the human gene encoding granule membrane protein-140, a member of the selectin family of the adhesion receptors for leukocytes. *J. Biol. Chem.* 1990; 265(34): 21381–85.
19. Abonnenc M., Sonego G., Cretaz D., Aliotta A., Prudent M., Tissot J.D., Lion N. In vitro study of platelet function confirms the contribution of the ultraviolet B (UVB) radiation in the lesions observed in riboflavin/UVB-treated platelet concentrates. *Transfusion.* 2015; 55(9): 2219–30. doi: 10.1111/trf.13123.
20. Rasongles P., Angelini-Tibert M.F., Simon P., Currie C., Isola H., Kientz D., et al. Transfusion of platelet components prepared with photochemical pathogen inactivation treatment during a chikungunya virus epidemic in Ile de La Reunion. *Transfusion.* 2009; 49(6): 1083–91.
21. Prowse C.V. Component pathogen inactivation: a critical review. *Vox Sang.* 2013; 104 (3): 183–99. doi: 10.1111/j.1423-0410.2012.01662.x
22. Ringwald J., Zimmermann R., Eckstein R. The new generation of platelet additive solution for storage at 22°C: Development and Current Experience. *Transfus. Med. Rev.* 2006; 20(2): 158–64. doi: 10.1016/j.tmr.2005.11.003.
23. de Wildt-Eggen J., Schrijver J., Bins M., Gulliksson H. Storage of platelets in additive solutions: effects of magnesium and/or potassium. *Transfusion.* 2002; 42(1): 76–80.
24. Karpova O.V., Roitman E.V., Ignatova A.A., Madzaev S.R., Romyancev S.A., Plyasunova S.A., Trahtman P.E. Evaluation of the quality of platelet concentrates prepared by apheresis method and stored in additive solution SSP+. *Russian Journal Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology (Voprosy gematologii, onkologii i immunopatologii v pediatrii)*. 2014; 13(2): 20–4. (in Russian)
25. Miyaji R., Sakai M., Urano H., Nakata K., Sakamoto H., Shirahata A. Decreased platelet aggregation of platelet concentrate during storage recovers in the body after transfusion. *Transfusion.* 2004; 44(6): 891–9.
26. Bikker A., Bouman E., Sebastian S., Korporaal S.J., Urbanus R.T., Fijnheer R., et al. Functional recovery of stored platelets after transfusion. *Transfusion.* 2016; 56(5): 1030–7. doi: 10.1111/trf.13544.

Поступила 26.09.17

Принята к печати 29.12.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.151.514-08:616.14-089.819.1

Спирин М.В.¹, Галстян Г.М.¹, Полеводова О.А.¹, Кудлай Д.А.², Полянская Т.Ю.¹,
Зозуля Н.И.¹, Лихачева Е.А.¹, Троицкая В.В.¹

ПЕРИФЕРИЧЕСКИ ИМПЛАНТИРУЕМЫЕ ЦЕНТРАЛЬНЫЕ ВЕНОЗНЫЕ КАТЕТЕРЫ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ДЛИТЕЛЬНОГО СОСУДИСТОГО ДОСТУПА У БОЛЬНЫХ С ГЕМОМРАГИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России,
125167, г. Москва, Россия;

²ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации» ФМБА России, 125371, г. Москва, Россия

Выраженный геморрагический синдром является относительным противопоказанием к катетеризации центральных вен. В то же время в клинической практике нередко возникает необходимость катетеризации центральных вен у больных с нарушениями гемостаза.

Цель работы – анализ использования периферически имплантируемых центральных венозных катетеров (ПИ-ЦВК) у больных с выраженными нарушениями гемостаза.

Результаты. Всего установили 16 ПИ-ЦВК 12 больным с геморрагическим синдромом (6 больных гемофилией, из них у 4 – с наличием ингибитора к FVIII; 1 больная раком молочной железы и болезнью Виллебранда, 3 больных острыми промиелоцитарными лейкозами, 1 – множественной миеломой, 1 – миелодиспластическим синдромом). Гемостаз, при необходимости, обеспечивали введением рекомбинантного активированного фактора свертывания VII (rFVIIa). Срок использования ПИ-ЦВК составил от 5 сут до 1 г и 3 мес. Не было тромботических и инфекционных осложнений при использовании ПИ-ЦВК. ПИ-ЦВК могут рассматриваться как метод выбора для обеспечения длительного сосудистого доступа у больных с геморрагическим синдромом различного генеза. Их установка в условиях ультразвуковой навигации безопасна и эффективна. В зависимости от планируемого лечения, характера геморрагического синдрома подход к выбору ПИ-ЦВК (наличие клапана Грошонг, силиконовые или высокопоточные полиуретановые катетеры, измерение центрального венозного давления и т.д.) должен быть дифференцированным. У этой категории больных ПИ-ЦВК могут рассматриваться как альтернатива нетуннелируемым катетерам и полностью имплантируемым сосудистым устройствам.

Ключевые слова: геморрагический синдром; гемофилия; ингибитор к фактору VIII; рекомбинантный активированный фактор VIIa; острый промиелоцитарный лейкоз; периферически имплантируемый центральный венозный катетер.

Для цитирования: Спирин М.В., Галстян Г.М., Полеводова О.А., Кудлай Д.А., Полянская Т.Ю., Зозуля Н.И., Лихачева Е.А., Троицкая В.В. Периферически имплантируемые центральные венозные катетеры для обеспечения длительного сосудистого доступа у больных с геморрагическим синдромом. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(4): 203–210. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-203-210>

Spirin M.V.¹, Galstyan G.M.¹, Polevodova O.A.¹, Kudlay D.A.², Polyanskaya T.Yu.¹, Zozulya N.I.¹, Likhacheva E.A.¹, Troitskaya V.V.¹

PERIPHERALLY INSERTED CENTRAL CATHETER FOR LONG-TERM VASCULAR ACCESS IN PATIENTS WITH HEMORRHAGIC SYNDROME

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

² Institute of Advanced Training of FMBA, Moscow, 125371, Russian Federation

The hemorrhagic syndrome is the relative contraindication for the central venous access. However, in the clinical practice, many patients with hemorrhagic syndrome need a long-term vascular access.

Purpose of the study was to investigate the use of Peripherally Inserted Central Catheters (PICC) in patients with severe hemostatic disorders.

Results. In total, 16 PICCs were implanted in 12 patients with hemorrhagic syndrome (6 hemophilia patients, 4 of them with inhibitor to FVIII, 1 patient with breast cancer and Willebrand disease, 3 patients with acute promyelocytic leukemia, 1 patient with multiple myeloma and 1 patient with myelodysplastic syndrome). Hemostasis was provided by recombinant activated factor VII (rFVIIa), platelet and cryoprecipitate transfusions. The period of use of PICCs varied from 5 days to 1 year and 3 months. There were no thrombotic and infectious complications. PICC can be considered as a method of choice for long-term vascular access in patients with hemorrhagic syndrome.

Key words: hemophilia; acute promyelocytic leukemia; peripherally inserted central catheters; thromboelastogram.

For citation: Spirin M.V., Galstyan G.M., Polevodova O.A., Kudlay D.A., Polyanskaya T.Yu., Zozulya N.I., Likhacheva E.A., Troitskaya V.V. Peripherally inserted central catheter for long-term vascular access in patients with hemorrhagic syndrome. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfusiology)*. 2017; 62(4): 203-210. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-203-210>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. Financial support is not available.

Received 04 Dec 2017

Accepted 29 Dec 017

Выраженный геморрагический синдром является относительным противопоказанием к катетеризации центральных вен. В большинстве случаев у больных с выраженными нарушениями гемостаза перед установкой центрального венозного катетера (ЦВК) стараются скорректировать выявленные изменения, однако единой точки зрения на показатели, необходимые для безопасной катетеризации центральных вен, в литературе нет. E. van de Weerdт и соавт. [1], проанализировав 306 работ, упоминаемых в MedLine с 01.01.1980 по 01.11.2015 и посвященных катетеризации центральных вен у больных с различными нарушениями гемостаза, не смогли установить безопасные показатели для установки ЦВК.

Тромбоцитопения – одна из самых частых причин геморрагического синдрома. В 20 исследованиях сообщается о катетеризации центральных вен у больных с тромбоцитопенией менее $50 \times 10^9/\text{л}$, частота геморрагических осложнений колебалась от 0 до 32% [1]. В 7 работах тромбоцитопению не корректировали до катетеризации, несмотря на это, среди больных с тромбоцитопенией менее $50 \times 10^9/\text{л}$ не было серьезных геморрагических осложнений [1]. В 11 работах решение о проведении трансфузии перед установкой ЦВК принимали врачи, осуществлявшие катетеризацию. В этих исследова-

ниях также не отмечено серьезных геморрагических осложнений у больных с количеством тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$ [1]. В то же время в пяти исследованиях [2–6] тромбоцитопения была фактором риска возникновения локальных гематом и кровоточивости при катетеризации центральных вен. Эти гематомы, как правило, самоограничивались, а кровоточивость останавливали мануальной компрессией и прошиванием кожи вокруг катетера [4]. K. Zeidler и соавт. [5] оценили с помощью мультивариантного анализа частоту осложнений при установке туннелируемых и нетуннелируемых ЦВК в зависимости от показателей тромбоцитов. Риск кровотечения был повышен только при количестве тромбоцитов менее $20 \times 10^9/\text{л}$ (отношение шансов – ОШ 2,88; 95%-ный доверительный интервал – ДИ 1,23–6,75; $p = 0,015$). Уменьшить риск геморрагических осложнений позволяла ультразвуковая навигация, при использовании которой даже при установке ЦВК на фоне тромбоцитопении менее $20 \times 10^9/\text{л}$ не было серьезных геморрагических осложнений [5, 7]. Т. Томоюсе и соавт. [8] сравнили частоту геморрагических осложнений у больных с тромбоцитопенией при катетеризации центральных вен под контролем ультразвуковой навигации и по анатомическим ориентирам и показали, что в последнем случае они наблюдались значимо чаще (0% против 7,8% соответственно; $p = 0,068$). Кроме того, при тромбоцитопении ниже $10\text{--}19 \times 10^9/\text{л}$ у больных, которым ЦВК устанавливали под контролем ультразвука, трансфузии концентратов тромбоцитов потребовались в 28% случаев, а при установке по анатомическим ориентирам – в 100% случаев. Согласно рекомендациям Американской ассоциации банков крови и Британского комитета по стандартам в гематологии [8, 9], порогом для трансфузии тромбоцитов перед установкой как нетуннелируемых, так и туннелируемых ЦВК является количество тромбоцитов крови менее $20 \times 10^9/\text{л}$ (категория рекомендаций 1B).

Международное нормализованное отношение. В рандомизированном контролируемом исследовании [10] оценили эффект профилактической трансфузии свеже-

Для корреспонденции:

Галстян Геннадий Мартинович, доктор медицинских наук, заведующий научно-клиническим отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ НМИЦ Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: gengalst@gmail.com

For correspondence:

Galstyan Gennadiy M., MD, PhD, DSc., head of ICU department National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: gengalst@gmail.com

Information about authors:

Spirin M.V., <http://orcid.org/0000-0001-7048-060X>;
Galstyan G.M., <http://orcid.org/0000-0001-8818-8949>;
Polevodova O.A., <http://orcid.org/0000-0002-7783-5861>;
Kudlay D.A., <http://orcid.org/0000-0002-9631-4543>;
Polyanskaya T.Yu., <http://orcid.org/0000-0002-4143-3094>;
Zozulya N.I., <http://orcid.org/0000-0001-7074-0926>;
Troitskaya V.V., <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>.

замороженной плазмы (СЗП) в отношении геморрагических осложнений у больных с международным нормализованным отношением (МНО), превышающим 1,5. До установки ЦВК 29 больных получили трансфузии СЗП, а у 29 больных установку проводили без переливания СЗП. Отказ от переливания СЗП перед процедурой не ассоциировался с увеличением кровоточивости. Не нашли связи между частотой геморрагических осложнений и увеличением МНО авторы и в других исследованиях [2, 4]. В ретроспективном исследовании К. Weigand и соавт. [11], в которое было включено 100 больных, решение о переливании СЗП перед установкой ЦВК при увеличенном МНО принимали врачи. Не было кровотечений у больных без профилактического переливания СЗП, а единственный случай кровотечения наблюдался только у больного с МНО 3,9, получившего профилактические трансфузии СЗП. Авторы сделали вывод, что профилактическое переливание СЗП перед установкой ЦВК не уменьшает риск геморрагических осложнений [11]. В тоже время в ряде обсервационных исследований отмечена значимая связь между увеличением МНО и возникновением гематом при катетеризации центральных вен [3, 12].

Удлинение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) также не было фактором, определяющим частоту геморрагических осложнений при катетеризации центральных вен. В четырех исследованиях ЦВК устанавливали больным с АЧТВ, превышающим 45 с, не проводя его коррекции, при этом не выявлено ассоциации между пролонгацией АЧТВ и частотой геморрагических осложнений [1].

Плазменная концентрация фибриногена ассоциируется с геморрагическими осложнениями при установке ЦВК: она значимо ниже у больных с геморрагическими осложнениями, чем без осложнений [5].

Место пункции центральной вены также может явиться фактором, влияющим на развитие геморрагических осложнений при установке ЦВК, однако мнения о преимуществах того или иного сосудистого доступа противоречивы. В работе, проведенной Е. van de Weerdт и соавт. [1], было показано, что ряд исследователей предпочитает пунктировать внутреннюю яремную вену, другие – подключичную вену, а некоторые не видят различий в частоте геморрагических осложнений в зависимости от места пункции. Количество попыток пункции вены является значимым предиктором геморрагических осложнений, как и невозможность найти вену, невозможность провести проводник и документированная пункция артерии [1]. Число геморрагических осложнений больше у больных в интенсивной терапии, чем у хирургических больных и больных с травмой [13], наличие асцита также было независимым фактором риска геморрагических осложнений при катетеризации [14].

В то же время в клинической практике в ряде случаев возникает необходимость катетеризации центральных вен у больных с выраженными нарушениями гемостаза, которые по разным причинам невозможно скорректировать. В этих ситуациях установку периферически имплантируемых ЦВК (ПИ-ЦВК) можно рассматривать как метод выбора для обеспечения сосудистого доступа.

Цель настоящей работы – анализ использования ПИ-ЦВК у больных с выраженными нарушениями гемостаза.

Материалы и методы

Проанализированы результаты имплантации ПИ-ЦВК, выполненных с января 2015 по сентябрь 2017 г., у 12 больных (9 мужчин, 3 женщины) в возрасте от 20 до 81 года (медиана 45,5 года) с различными нарушениями гемостаза. Установку

ПИ-ЦВК выполняли под ультразвуковой навигацией (аппарат Toshiba Viamo SSA-640A, “Toshiba Medical Systems Corp.”, Япония) согласно принятым рекомендациям [15]. Для визуализации сосуда использовали датчик с частотой 10 МГц. Изображение сосудов выводили по короткой оси. Дополнительно использовали цветное доплеровское картирование для подтверждения наличия и направления потока крови. Перед катетеризацией определяли проходимость вены, наличие в ней кровотока, отсутствие пристеночного тромба, стеноза, сжимаемость вены. При выявлении расширенной вены, отсутствия в ней кровотока, отсутствия сжимаемости вены от катетеризации воздерживались, выполняли ангиографию либо компьютерную томографию (КТ) с внутривенным введением контрастного вещества (КТ-ангиография). Катетеризацию сосудов осуществляли по методу Селдингера. Для катетеризации использовали ПИ-ЦВК диаметром 4F из силастика с клапаном Грошонг® на дистальном конце и полиуретановые высокопоточные ПИ-ЦВК с клапаном на проксимальном конце катетера (Bard Access System). Установку ПИ-ЦВК выполняли в условиях рентгенологического контроля в ангиохирургической операционной. ПИ-ЦВК устанавливали через одну из вен плеча. Выбор вены и стороны катетеризации определяли путем оценки соотношения диаметров устанавливаемого катетера и внутреннего просвета вены, так чтобы диаметр катетера не превышал $\frac{1}{3}$ диаметра просвета сосуда [16]. При выборе катетера учитывали его диаметр, а также планируемые объемы инфузий – при малых объемах устанавливали силиконовые ПИ-ЦВК, при больших объемах – полиуретановые высокопоточные ПИ-ЦВК. Гемостаз, при необходимости, обеспечивали введением рекомбинантного активированного фактора свертывания VII (rFVIIa), FVIII, переливаниями криопреципитата, концентрата тромбоцитов (см. таблицу). Регистрировали ранние и отсроченные осложнения, исходные параметры гемостаза и эффективность гемостатической терапии, в ходе использования осуществляли контроль с помощью клоттинговых тестов, тромбоэластографии (TEG®5000 Hemostasis Analyzer, “Haemonetics”, США). Все катетеры прослеживали от установки до удаления.

Результаты

Всего установили 16 ПИ-ЦВК 12 больным с геморрагическим синдромом. У 6 больных причиной геморрагического синдрома явилась гемофилия, причем у 4 из них – с наличием ингибитора к FVIII. У 2 больных с ингибитором к FVIII показанием явилась индукция иммунной толерантности, у 2 – повторные введения rFVIIa. Поскольку этим больным не требовалось введения больших объемов инфузий, им устанавливали однопросветные катетеры диаметром 4F с клапаном Грошонга на дистальном конце. Перед катетеризацией всем больным с ингибиторной формой гемофилии однократно вводили шунтирующие препараты.

У 2 больных гемофилией, протекающей без ингибитора, для проведения в домашних условиях гемостатической терапии FVIII предпочли установку ПИ-ЦВК. Этим больным для профилактики перед катетеризацией вводили концентрат FVIII в дозе 3000–4000 МЕ. Каждый ПИ-ЦВК использовали от 70 сут до 1 года и 3 мес (см. таблицу). Больной М. с ингибиторной формой гемофилии, которому проводится индукция иммунной толерантности, непрерывно использует ПИ-ЦВК уже более 3 лет.

Приводим пример установки ПИ-ЦВК больному Т., 73 года. При поступлении у него был выраженный спонтанный геморрагический синдром (рис. 1).

В лабораторных данных: удлинение АЧТВ до 103 с, протромбин по Квику 72%, снижение концентрации FVIII до 0,4%, а также был выявлен ингибитор к FVIII в максимальном титре 230 БЕ. По данным тромбоэластограммы, сгусток крови не образовался (R более 190 мин) (рис. 2, а).

Краткая характеристика больных и установленных катетеров

№	ФИО	Возраст, годы	Пол	Диагноз, показания к катетеризации	Подготовка	ПИ-ЦВК	Осложнения	Причина удаления	Срок, сут
1	Х-й	51	М	Гемофилия А, терапия FVIII	FVIII 4000 ME	Groshong Single Lumen, 4Fr	Нет	Окклюзия	91
				Гемофилия А, терапия FVIII	FVIII 3000 ME	Groshong Single Lumen, 4Fr	Нет		365–н/в
2	Т-в	39	М	Гемофилия А, терапия FVIII	FVIII 4000 ME	Groshong Single Lumen, 4Fr	Нет	Окклюзия	75
3	М-в	61	М	Гемофилия А, ингибиторная форма, индукция толерантности	FVIII 20000 ME FVIII 8000 ME FVIII 5000 ME FVIII 5000 ME	Groshong Single Lumen, 4F Groshong Single Lumen, 4F Groshong Single Lumen, 4F Groshong Single Lumen, 4F	Нет Нет Нет Нет	Окклюзия Окклюзия Поломка Не удален	140 90 463 270–н/в
4	Х-в	45	М	Гемофилия А, ингибиторная форма, терапия FVII	FEIBA 5000 ME	Groshong Single Lumen, 4F	Нет	Не удален	88–н/в
5	Т-й	35	М	Гемофилия А, ингибиторная форма, индукция толерантности	FEIBA 4000 ME	Groshong Single Lumen, 4F	Нет	Не удален	360–н/в
6	Т-н	73	М	Гемофилия А, ингибиторная форма, терапия FVII	rFVIIa 9,6 мг	Groshong Single Lumen, 4F	Гематома в месте пункции	Умер	5
7	С-ва	46	Ж	БВ, рак молочной железы, химиотерапия	FVIII 2500 ME	Groshong Single Lumen, 4F	Гематома в месте пункции	–	245–н/в
8	Ч-к	26	М	ОПЛ, химиотерапия	Крио 20 доз, КТ 8 ед. после установки	Power PICC Solo, 4F	Нет	Умер	43
9	Н-а	27	Ж	ОПЛ, химиотерапия	Крио 20 доз	Power PICC Solo, 5F	Нет	–	126 –н/в
10	А-ва	25	Ж	ОПЛ, химиотерапия	–	Power PICC Solo, 4F	Нет	Не нужен	30
11	М-в	50	М	ММ, тромбоцитопения	–	Groshong Single Lumen, 4F	Нет	Умер	70
12	Р-в	82	М	МДС, тромбоцитопения	КТ 8 ед	Groshong Single Lumen, 4F	Гематома	Умер	67

Примечание. ОПЛ – острый промиелоцитарный лейкоз, ММ – множественная миелома, МДС – миелодиспластический синдром, БВ – болезнь Виллебранда, КТ – концентрат тромбоцитов, крио – криопреципитат, н/в – по настоящее время.

После введения rFVIIa на тромбоэластограмме, выполненной через 15 мин, период R составил 39 мин, максимальная амплитуда (МА) 83,4 мм (рис. 2, б), после чего больному был установлен ПИ-ЦВК из силикона с клапаном Грошонт® на дистальном конце (Bard Access System). Несмотря на введение rFVIIa до манипуляции, в месте пункции образовывалась небольшая гематома, не требовавшая в дальнейшем гемостатической терапии (рис. 3).

У больной С., страдающей болезнью Виллебранда и раком молочной железы, необходимость в обеспечении

долговременного сосудистого доступа возникла в связи с планируемой химиотерапией онкологического заболевания. При обследовании в плазме крови у нее наблюдалось низкое содержание фактора Виллебранда (менее 5%), агрегация тромбоцитов с ристомидином составляла 4%, FVIII – 50%. Была возможность установить у этой больной порт-систему. Однако с учетом того, что при проведении химиотерапии в онкологическом диспансере больная не будет получать заместительную терапию факторами свертывания и введение химиопрепаратов могло осложниться гематомой в области резервуара порта, в ка-



Рис. 1. Геморрагический синдром у больного ингибиторной формой гемофилии. Видны гематомы на поясничной области, верхней трети бедра (а), на передней поверхности груди и живота и левой верхней конечности (б).

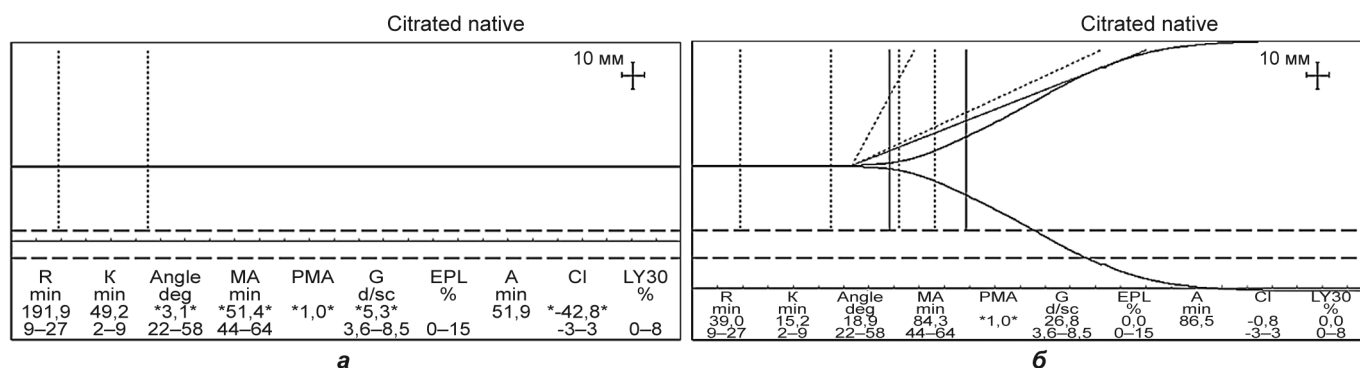


Рис. 2. Тромбоэластограмма больного ингибиторной формой гемофилии до (а) и после (б) введения гFVIIIa.

честве альтернативного сосудистого доступа был выбран ПИ-ЦВК. Больная уже в течение более 8 мес получает через него химиотерапию без осложнений.

Основными причинами удаления и смены ПИ-ЦВК у больных гемофилией были обструкция катетера либо его поломка (см. таблицу). В последнее время с приобретением ремонтных наборов даже в случае поломки катетера удавалось продлить срок его службы, заменив поврежденные части. Лишь у 1 больного ингибиторной формой гемофилии ПИ-ЦВК простоял 5 суток, больной умер от желудочно-кишечного кровотечения (см. таблицу).

Отдельную категорию составили больные с выраженным геморрагическим синдромом, развившимся вследствие острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ) – у 3 больных, а также рефрактерной тромбоцитопении при миелодиспластическом синдроме – у 1, множественной миеломе – у 1 больного. У этих больных ни трансфузия компонентов крови, ни медикаментозная терапия не могли корригировать нарушения гемостаза, поэтому в качестве сосудистого доступа были выбраны ПИ-ЦВК (см. рис. 2). В отличие от больных гемофилией, эти больные нуждались в массивных трансфузиях, в связи с чем им устанавливали высокопоточные ПИ-ЦВК. Длительность использования этих катетеров (от 30 до 126 сут) была значительно меньше, чем у больных гемофилией, что было обусловлено в большинстве случаев неблагоприятным исходом основного заболевания, однако ни в одном случае ни при катетеризации, ни при использовании ПИ-ЦВК не было осложнений.

Приводим пример установки и использования ПИ-ЦВК больному Ч., 26 лет, страдающему ОПЛ. Заболе-

вание манифестировало развернутым геморрагическим синдромом: кровоизлияние в вещество головного мозга, гематомы на туловище и конечностях, макрогематурия (рис. 4). Больному был установлен ПИ-ЦВК для проведения курса химиотерапии, инфузионно-трансфузионной терапии.

В данных лабораторных исследований обращали на себя внимание гиперлейкоцитоз $174 \times 10^9/\text{л}$ (95% бластных клеток), тромбоцитопения $20 \times 10^9/\text{л}$, снижение протромбина по Квику до 54%, гипофибриногенемия 0,7 г/л. На тромбоэластографии выявлялась гипокоагуляция (R 12,2 мин; MA 26,7 мм) (рис. 5, а). В тесте на функциональный фибриноген уменьшение MA до 7,6 мм (рис. 5, б).

Больному был установлен в правую базилярную вену высокопоточный полиуретановый ПИ-ЦВК с клапаном на проксимальном конце. Катетеризация выполнена без осложнений (рис. 6), после чего через установленный катетер начата терапия криопреципитатом, концентратом тромбоцитов.

Обсуждение

Выраженные нарушения гемостаза рассматриваются как относительное показание к установке ПИ-ЦВК [17]. Однако среди рассматриваемой нами когорты больных с разнообразными нарушениями гемостаза именно установка ПИ-ЦВК стало методом выбора для обеспечения длительного сосудистого доступа.

Согласно консенсусным рекомендациям [18], у больных гемофилией по возможности следует использовать периферический доступ. В отсутствие ингибитора для длительного доступа рекомендуется использовать

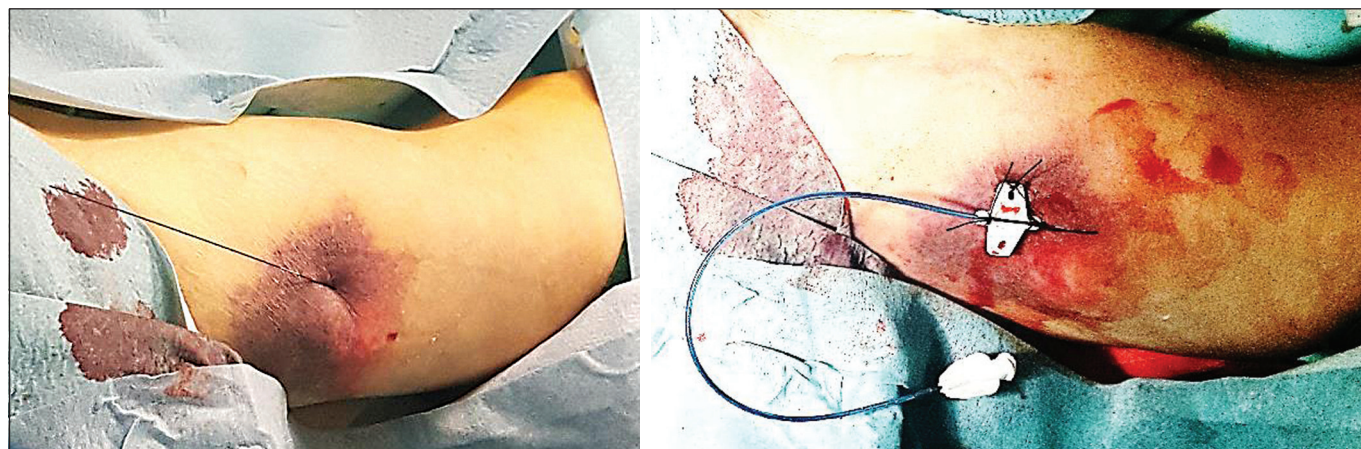


Рис. 3. Установка струны и катетера у больного ингибиторной формой гемофилии.

Видна небольшая гематома в месте пункции.



Рис. 4. Больной Г. Острый промиелоцитарный лейкоз; геморрагический синдром.

а – на компьютерной томограмме головного мозга в левой гемисфере видна внутримозговая гематома овальной формы, размером $26 \times 11 \times 11,4$ мм с признаками прорыва в левый боковой желудочек; *б* – макрогематурия; *в* – спонтанные гематомы на плече.

порт-системы как наименее подверженные инфекционным осложнениям. Гемостатический режим при установке ЦВК у больных гемофилией включает в себя введение дефицитного фактора свертывания до повышения его активности в плазме до 100%, затем болюсное или постоянное введение так, чтобы поддерживать плазменную активность на уровне 50–100% в течение первых 2–3 дней, затем в течение 1–5 дней – 30–75%. У больных ингибиторной формой гемофилии гемостаз при катетеризации осуществляется введением активированного протромбинового комплекса (FEIBA) или rFVIIa [19, 20]. Однако даже при такой подготовке среди больных гемофилией с наличием ингибитора чаще встречаются геморрагические осложнения, чем среди больных гемофилией без ингибитора [18]. У больных ингибиторной формой гемофилии гематома вокруг ЦВК наблюдалась в 57% случаев, в то время как без ингибитора – лишь в 21% [21]. По данным исследования, проведенного в 17 центрах США, при установке ЦВК у 75 больных ингибиторной гемофилией для проведения индукции иммунной толерантности гематомы вокруг ЦВК отмечались в разных группах больных в 28–42% случаев [22], по данным испанских исследователей – у 40% больных [19]. При этом наиболее часто геморрагические осложнения отмечались при установке имплантируемых порт-систем, реже – при установке туннелируемых катетеров, еще реже – при установке нетуннелируемых катетеров [19]. В новозеландском исследовании при установке порт-систем кровотечение зафиксировано у 3 из 4 больных ингибиторной формой гемофилии [23].

В литературе имеются единичные сообщения о применении ПИ-ЦВК у больных ингибиторной формой

гемофилии [24]. В одном из них автор описывает установку ПИ-ЦВК 2 больным ингибиторной формой гемофилии после предварительного введения активированного протромбинового комплекса FEIBA в дозе 75 МЕ/кг. У одного из больных после катетеризации развилось кровотечение, потребовавшее дополнительного введения rFVIIa. Дальнейшее использование катетеров проходило без осложнений [24]. В наших наблюдениях лишь в одном случае потребовалось дополнительное введение шунтирующих препаратов после установки ПИ-ЦВК, а опыт применения его у одного из больных составляет уже более 3 лет.

При использовании «гепариновых замков» для закрытия катетеров у больных гемофилией рекомендуется аспирировать раствор с гепарином перед началом использования катетера [18]. В этом отношении применение катетеров с клапаном Грошонга имеет свои преимущества, поскольку позволяет закрывать катетеры без гепарина, заполнив его только раствором натрия хлорида [17].

Одной из проблем длительного использования сосудистого доступа являются инфекционные осложнения. Частота катетер-ассоциированной инфекции у больных гемофилией составляла 0,1–0,66 на 1000 катетеродней [19, 20], причем инфекция чаще встречалась при использовании ЦВК с внешним доступом, чем полностью имплантируемых порт-систем [18, 20], хотя установка порт-систем у этой категории больных приводила к значительным геморрагическим осложнениям [18]. В то же время сама по себе ингибиторная форма гемофилии является фактором риска развития инфекционных осложнений при использовании ЦВК [20]. В наших наблюдениях у боль-

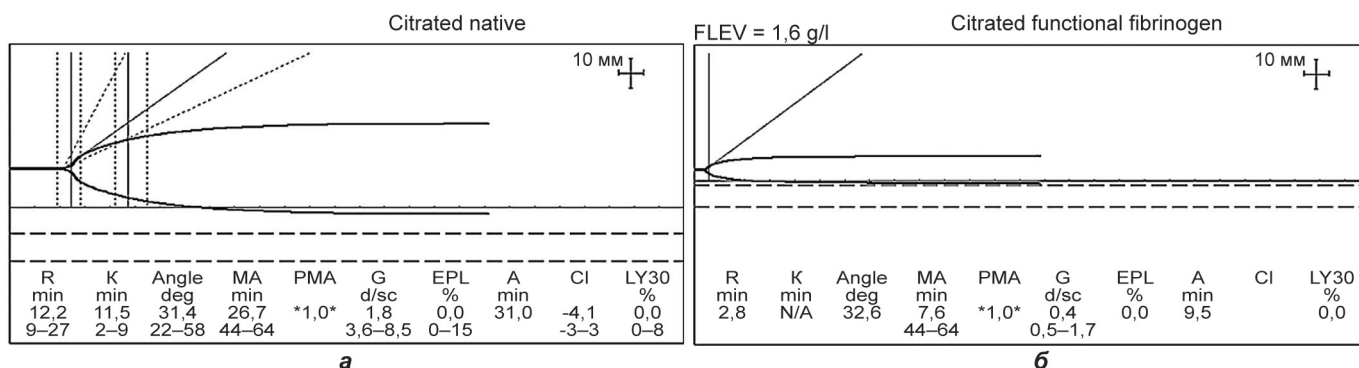


Рис. 5. Тромбоэластограмма больного Г., страдающего острым промиелоцитарным лейкозом, с цельной цитратной кровью (*а*) и в тесте на функциональный фибриноген (*б*).

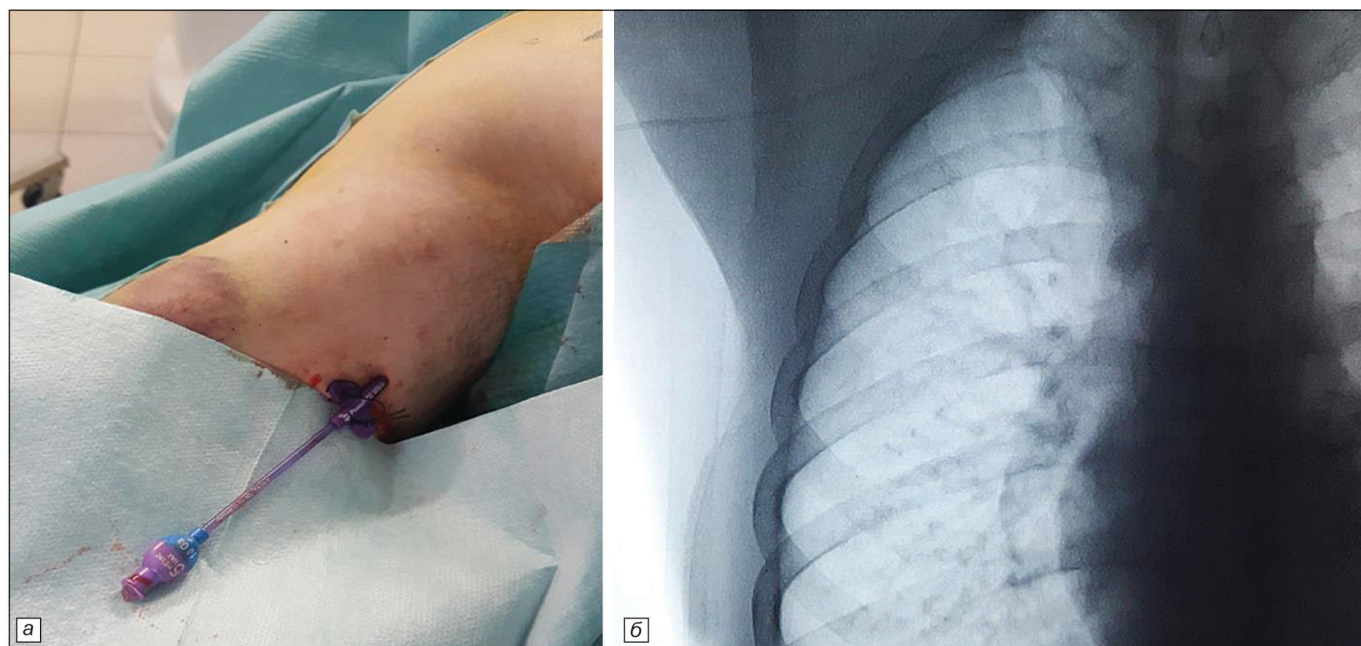


Рис. 6. Больной Г. Установленный ПИ-ЦВК в правую базиллярную вену:

а – катетер установлен в правую базиллярную вену; *б* – рентгенологический контроль положения катетера: дистальный конец катетера позиционирован у кава-атриального соединения.

ных гемофилией, несмотря на длительное использование ПИ-ЦВК (до 3 лет), мы не наблюдали катетер-ассоциированной инфекции.

Особый случай представляет собой выбор долговременных внутрисосудистых устройств у больных с врожденными коагулопатиями, которым планируется проведение через них терапии без гемостатических препаратов, в частности химиотерапии. В этих условиях чрескожные инъекции в порт-систему могут привести к развитию гематом. ПИ-ЦВК позволяют избежать подобных осложнений, о чем свидетельствует наш опыт длительного использования ПИ-ЦВК для лечения рака молочной железы у пациентки с болезнью Виллебранда.

Отдельную группу представляют собой онкогематологические больные с нарушениями гемостаза, в частности с ОПЛ. При ОПЛ геморрагический синдром регистрируется в 60–100% случаев [25, 26]. Причинами его возникновения являются усиленный фибринолиз вследствие повышенной экспрессии аннексина II, рецептора для плазминогена и тканевого активатора плазминогена, выделение бластными клетками активатора плазминогена [25]. В результате при ОПЛ в дебюте заболевания гипофибриногенемия ниже 1,7 г/л выявляется у 28% больных [27], гипофибриногенемия менее 1 г/л – у трети больных [28]. В исследовании РЕТНЕМА у 42 (5%) из 792 больных ОПЛ не была начата индукция ремиссии вследствие тяжелого состояния, вызванного, прежде всего, геморрагическим синдромом; из включенных в исследование у 37 (5%) больных причиной смерти явился геморрагический синдром [27]. Некоторые авторы [29] советуют воздержаться от катетеризации центральных вен при проведении индукции ремиссии у больных ОПЛ. Однако эта рекомендация не всегда выполнима, поскольку потребность в многочисленных трансфузиях, необходимость мониторинга центрального венозного давления, введение препаратов, оказывающих местное раздражающее действие, отсутствие периферического венозного доступа приводят к необходимости, иногда даже с риском для жизни больного, катетеризировать

центральные вены. Описан случай развития массивной гематомы на шее через 17 ч после неудачной попытки катетеризации центральной вены в результате начала циторедуктивной химиотерапии, массивного лизиса опухоли и выброса фибринолитически активных веществ [30].

В наших наблюдениях установка и использование высокопоточных ПИ-ЦВК больным в дебюте ОПЛ оказалась безопасной и эффективной. У всех больных удалось провести через них индукцию ремиссии, инфузионную и трансфузионную терапию, мониторировать центральное венозное давление. Аналогичный выбор в пользу ПИ-ЦВК был сделан у двух других онкогематологических больных с рефрактерной тромбоцитопенией и выраженным геморрагическим синдромом. У них также установка этих катетеров оказалась безопасной и эффективной.

Наряду с геморрагическими осложнениями при использовании ПИ-ЦВК у онкогематологических больных значимой проблемой являются тромботические и инфекционные осложнения: частота катетер-ассоциированных тромбозов у них достигает 14,5%, а катетер-ассоциированной инфекции – 13,7% [31]. В наших наблюдениях у онкогематологических больных мы не зарегистрировали ни одного случая тромботических и инфекционных осложнений, ассоциированных с ПИ-ЦВК.

Таким образом, ПИ-ЦВК могут рассматриваться как метод выбора для обеспечения длительного сосудистого доступа у больных с геморрагическим синдромом различного генеза. Их установка в условиях ультразвуковой навигации безопасна и эффективна даже в случаях, когда невозможно обеспечить гемостаз. В зависимости от планируемого лечения, характера геморрагического синдрома подход к выбору ПИ-ЦВК (с клапаном Грошонга или без него, силиконовые или высокопоточные полиуретановые катетеры, возможность измерения центрального венозного давления, избегание «гепариновых замков» и т.д.) должен быть дифференцированным. У этой категории больных ПИ-ЦВК могут рассматриваться как альтернатива не только нетуннелируемым катетерам, но и полностью имплантируемым сосудистым устройствам.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

16. Рыков М.Ю., Петраш А.А., Поляков В.Г. Центральные катетеры, вводимые через периферическую вену при лечении детей с онкологическими заболеваниями: первый опыт использования. *Онкопедиа-трия*. 2016; 3(2): 106–12.
17. Цепенников Л.В., Лядов В.К. Периферически имплантируемый центральный венозный катетер: обзор литературы. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2014; 7(2): 220–8.
30. Галстян Г.М., Будянский В.М., Шулуто Е.М., Павлова О.А., Данишян К.И., Васильев С.А. и др. Случай тяжелого геморрагического осложнения при катетеризации центральной вены у больного острым промиелоцитарным лейкозом. *Проблемы гематологии и переливания крови*. 1997; 4: 32–4.

Остальные источники литературы нп. 1–15, 18–29, 31 см. в References.

REFERENCES

1. van de Weerd E.K., Biemond B.J., Baake B., Vermin B., Binnekade J.M., van Lienden K.P., et al. Central venous catheter placement in coagulopathic patients: risk factors and incidence of bleeding complications. *Transfusion*. 2017; 57(10): 2512–25.
2. Doerfler M.E., Kaufman B., Goldenberg A.S. Central venous catheter placement in patients with disorders of hemostasis. *Chest*. 1996; 110(1): 185–8.
3. Fisher N.C., Mutimer D.J. Central venous cannulation in patients with liver disease and coagulopathy – a prospective audit. *Intensive Care Med*. 1999; 25(5): 481–5.
4. Mumtaz H., Williams V., Hauer-Jensen M., Rowe M., Henry-Tillman R.S., Heaton K., et al. Central venous catheter placement in patients with disorders of hemostasis. *Am. J. Surg*. 2000; 180(6): 503–5.
5. Zeidler K., Arn K., Senn O., Schanz U., Stussi G. Optimal preprocedural platelet transfusion threshold for central venous catheter insertions in patients with thrombocytopenia. *Transfusion*. 2011; 51(11): 2269–76.
6. Haas B., Chittams J.L., Trerotola S.O. Large-bore tunneled central venous catheter insertion in patients with coagulopathy. *J. Vasc. Interv. Radiol*. 2010; 21(2): 212–7.
7. Kander T., Frigyesi A., Kjeldsen-Kragh J., Karlsson H., Rolander F., Schött U. Bleeding complications after central line insertions: relevance of pre-procedure coagulation tests and institutional transfusion policy. *Acta Anaesthesiol. Scand*. 2013; 57(5): 573–9.
8. Tomoyose T., Ohama M., Yamanoha A., Masuzaki H., Okudaira T., Tokumine J. Real-time ultrasound-guided central venous catheterization reduces the need for prophylactic platelet transfusion in thrombocytopenic patients with hematological malignancy. *Transfus. Apher. Sci*. 2013; 49(2): 367–9.
9. Estcourt L.J., Birchall J., Allard S., Bassey S.J., Hersey P., Kerr J.P., et al. Guidelines for the use of platelet transfusions. *Br. J. Haematol*. 2017; 176(3): 365–94.
10. Müller M.C., Arbous M.S., Spoelstra-de Man A.M., Vink R., Karakus A., Straat M., et al. Transfusion of fresh-frozen plasma in critically ill patients with a coagulopathy before invasive procedures: a randomized clinical trial (CME). *Transfusion*. 2015; 55(1): 26–35.
11. Weigand K., Encke J., Meyer F.J., Hinkel U.P., Munder M., Stremmel W., Zahn A. Low levels of prothrombin time (INR) and platelets do not increase the risk of significant bleeding when placing central venous catheters. *Med. Klin. (Munich)*. 2009; 104(5): 331–5.
12. Tercan F., Ozkan U., Oguzkurt L. US-guided placement of central vein catheters in patients with disorders of hemostasis. *Eur. J. Radiol*. 2008; 65(2): 253–6.

13. DeLoughery T.G., Liebler J.M., Simonds V., Goodnight S.H. Invasive line placement in critically ill patients: do hemostatic defects matter? *Transfusion*. 1996; 36(9): 827–31.
14. Singh S.A., Sharma S., Singh A., Singh A.K., Sharma U., Bhadoria A.S. The safety of ultrasound guided central venous cannulation in patients with liver disease. *Saudi J. Anaesth*. 2015; 9(2): 155–60.
15. Troianos C.A., Hartman G.S., Glas K.E., Skubas N.J., Eberhardt R.T., Walker J.D., et al. Councils on Intraoperative Echocardiography and Vascular Ultrasound of the American Society of Echocardiography. Guidelines for performing ultrasound guided vascular cannulation: recommendations of the American Society of Echocardiography and the Society of Cardiovascular Anesthesiologists. *J. Am. Soc. Echocardiogr*. 2011; 24(12): 1291–318.
16. Rykov M.Yu., Petrash A.A., Polyakov V.G. PICC in the treatment of children with cancer: the first experience. *Onkopediatrias. Russian journal (Onkopediatriya)*. 2016; 3(2): 106–12. (in Russian)
17. Tsepenshchikov L.V., Lyadov V.K. Peripherally inserted central catheter: literature review. *Clinical Oncohematology. Basic Research and Clinical Practice. Russian journal (Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamentalnyye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2014; 7(2): 220–8. (in Russian)
18. Ewenstein B.M., Valentino L.A., Journeycake J.M., Tarantino M.D., Shapiro A.D., Blanchette V.S., et al. Consensus recommendations for use of central venous access devices in haemophilia. *Haemophilia*. 2004; 10(5): 429–48.
19. Morado M., Jimenez-Yuste V., Villar A., Quintana M., Del Castillo F., Garzon G., et al. Complications of central venous catheters in patients with haemophilia and inhibitors. *Haemophilia*. 2001; 7(6): 551–6.
20. Valentino L.A., Ewenstein B., Navickis R.J., Wilkes M.M. Central venous access devices in haemophilia. *Haemophilia*. 2004; 10(2): 134–46.
21. Miller K., Buchanan G.R., Zappa S., Cochran C., Laufenberg J., Medeiros D., et al. Implantable venous access devices in children with hemophilia: a report of low infection rates. *J. Pediatr*. 1998; 132(6): 934–8.
22. Damiano M.L., Hutter J.J. Immune tolerance for haemophilia patients with inhibitors: analysis of the western United States experience. The Tri-Regional Nursing Group. *Haemophilia*. 2000; 6(5): 526–32.
23. Bollard C.M., Teague L.R., Berry E.W., Ockelford P.A. The use of central venous catheters (portacaths) in children with haemophilia. *Haemophilia*. 2000; 6(2): 66–70.
24. Park Y. Availability of peripheral inserted central catheters in severe hemophilia patients with inhibitors. *Korean J. Pediatr*. 2008; 41(12): 1360–2.
25. Choudhry A., Deloughery T.G. Bleeding and thrombosis in acute promyelocytic leukemia. *Am. J. Hematol*. 2012; 87(6): 596–603.
26. Greer J.P., Arber D.A., Glader B., List A.F., Means R.T.J., eds. Wintrobe's clinical hematology. Lippincott Williams and Wilkins; Wolters Kluwer; 2013: 2419–898.
27. Serna J.D., Montesinos P., Vellenga E., Rayo C., Parody R., Leo A., et al. Causes and prognostic factors of remission induction failure in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and idarubicin. *Blood*. 2008; 111(7): 3395–402.
28. Tallman M.S., Kwaan H.C. Reassessing the hemostatic disorder associated with acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 1992; 79(3): 543–53.
29. Tallman M.S., Altman J.K. How I treat How I treat acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 2009; 114(25): 5126–35.
30. Galstyan G.M., Budyansky V.M., Shulutko E.M., Pavlova O.A., Danishyan K.I., Vasiliev C.A., et al. The case of a severe hemorrhagic complication during central venous catheterization in a patient with acute promyelocytic leukemia. *Problems of hematology and blood transfusion, Russian journal (Problemy gematologii i perelivaniya krovi)*. 1997; 4: 32–4. (in Russian)
31. McAuliffe E., O'Shea S., Khan M.I. Retrospective audit of the Peripherally Inserted Central Catheter (PICC) associated thrombosis in patients with haematological malignancies at Cork University Hospital. *Thromb. Res*. 2016; 140 (Suppl. 1): S176.

Поступила 04.12.17

Принята к печати 29.12.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.15-085:615.361.4-013.3]-06:616.9-022:578.825.11]-085.281.8

Лобанова Т.И., Паровичникова Е.Н., Тихомиров Д.С., Гаранжа Т.А., Троицкая В.В.,
Михайлова Е.А., Фидарова З.Т., Савченко В.Г.

ГЕРПЕС-ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ 6-ГО ТИПА У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СИСТЕМЫ КРОВИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ХИМИОТЕРАПИИ И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России,
125167, г. Москва, Россия

Цель работы – оценить частоту встречаемости вируса герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6) у иммунокомпрометированных больных (в частности, пациентов с заболеваниями системы крови), провести анализ эффективности проводимого лечения противовирусным препаратом, определить длительность терапии. В ретроспективном исследовании проанализированы результаты вирусологического обследования 273 больных из отделения химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения Гематологического научного центра (ныне ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва) с января 2013 по июль 2017 г. – 72 больных острым лимфобластным лейкозом, 141 больной острым миелобластным лейкозом, 15 – злокачественными В-клеточными лимфомами (14 больных – В-крупноклеточными лимфомами, 1 – лимфома из клеток мантийной зоны), 45 – апластической анемией. Трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) крови была выполнена у 25 больных. ДНК ВГЧ-6 обнаружена у 32,9% больных, из них 11 больных после ауто-ТГСК крови. Однако выявление ДНК вируса и связанная с этим клиническая симптоматика были зафиксированы лишь у 26 (9,5%) из 273 больных. Наиболее часто встречалась фебрильная нейтропения, энтеропатия, пневмония, геморрагический цистит, а также зафиксированы 1 случай энцефалита и 1 случай кожной сыпи при агранулоцитозе, ассоциированной с ВГЧ-6. В ходе обследования была показана важность длительного внутривенного использования противовирусного препарата (не менее 1 мес), с продолжением терапии пероральной формой препарата до полного исчезновения ДНК вируса из биологических жидкостей и регрессии клинической картины. Таким образом, ДНК ВГЧ-6 выявляется в большом количестве случаев у онкогематологических больных в период глубокого угнетения иммунитета, однако клинические проявления этой инфекции довольно редки. Своевременное начало адекватной противовирусной терапии позволяет снизить риск тяжёлых осложнений, избежать смертельных исходов у таких больных.

Ключевые слова: вирус герпеса человека 6-го типа; инфекции; гематология; трансплантация.

Для цитирования: Лобанова Т.И., Паровичникова Е.Н., Тихомиров Д.С., Гаранжа Т.А., Троицкая В.В., Михайлова Е.А., Фидарова З.Т., Савченко В.Г. Герпес-вирусные инфекции 6-го типа у больных с заболеваниями системы крови при проведении химиотерапии и после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(4): 211-217. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-211-217>

Lobanova T.I., Parovichnikova E.N., Tikhomirov D.S., Garanzha T.A., Troitskaya V.V.,
Mikhailova E.A., Fidarova Z.T., Savchenko V.G.

HUMAN HERPES VIRUS 6 IN PATIENTS WITH BLOOD SYSTEM DISEASES DURING CHEMOTHERAPY COURSES AND AFTER AUTOLOGOUS BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION

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

The aim of the study was to evaluate the frequency of Human Herpes Virus 6 (HHV6) infection in immunocompromised patients and to analyze the efficiency of the antiviral treatment. In retrospective study 273 patients with hematological disorders were analyzed from Jan 2013 to Jul 2017 (72 patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL), 141 case – with acute myeloid leukemia, 15 cases with high-grade B-cell lymphoma (BCL), 45 aplastic anemia patients. 25 patients underwent autologous stem cell transplantation (19 with ALL, 6 with BCL). DNA of HHV6 was detected in 32.9% of patients, including 11 patients after transplantation. However, the detection of HHV6 with clinical symptoms was identified only in 26 (9.5%) of 273 patients. Febrile neutropenia, hemorrhagic cystitis, enteropathy, pneumonia, 1 case of encephalitis and 1 case of severe cutaneous HHV6 lesion were detected as clinical manifestations of the infection. The importance of prolonged intravenous antiviral treatment was demonstrated. Thus, HHV6 DNA is detected in large percent of cases in hematological patients but its clinical manifestation is not seen very often. The early prolonged and adequate treatment reduces the risks of complications.

Key words: human herpes virus 6; infection; hematology; transplantation.

For citation: Lobanova T.I., Parovichnikova E.N., Tikhomirov D.S., Garanzha T.A., Troitskaya V.V., Mikhailova E.A., Fidarova Z.T., Savchenko V.G. Human herpes virus 6 in patients with blood system diseases during chemotherapy courses and after autologous blood stem cell transplantation. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(4): 211-217. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-4-211-217>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 13 Nov 2017

Accepted 29 Dec 2017

Повсеместное распространение вирусов герпеса в природе, разнообразие путей и способов их передачи, способность к пожизненной персистенции в организме хозяина и «пантропность» приводят к практически тотальной инфицированности взрослого населения этими вирусами [1]. У больных с иммунодефицитом, к которым относят инфицированных вирусом иммунодефицита человека, больных после трансплантации солидных органов и костного мозга, а также больных с заболеваниями системы крови, герпетические инфекции характеризуются более тяжелым течением, чем в общей популяции, а при отсутствии своевременной диагностики и терапии могут угрожать жизни больного. На первых этапах химиотерапии гематологического заболевания, при трансплантации аллогенного костного мозга (алло-ТКМ), а также трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток крови (алло-ТГСК), когда индуцируется глубокая иммуносупрессия и увеличивается вероятность развития герпетической инфекции, особенно важна своевременная лабораторная диагностика этих инфекций. В настоящее время активно изучают роль вируса герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6) у больных с заболеваниями системы крови, особенно после ТКМ. У больных, у которых данный тип вируса выявлен из различных биологических сред методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), наблюдаются тяжелые осложнения, в частности – вирусные менингиты/энцефалиты, гепатиты, пневмониты, геморрагические циститы, а также глубокая и длительная фебрильная нейтропения [2–5]. Иммуносупрессия – основной фактор, провоцирующий реактивацию ВГЧ-6, поэтому этот вирус – оппортунистический патоген [6]. Реактивация вируса особенно часто определяется после ТКМ, по данным различных исследований – у 40–60% больных [7–11], при этом большое количество копий в периферической крови (более 25 000 копий/мл) обнаруживают у 13% больных [11]. У 24% больных ВГЧ-6 вызывает лихорадку неясного генеза, энцефалит [11]. Часто ВГЧ-6 выявляют в ассоциации с цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекцией (у 26% больных после ТКМ и ТГСК крови). В 2012 г. группа американских ученых провела клиническое исследование [12], в котором методом ПЦР еженедельно оценивали реактивацию ВГЧ-6 у 235 больных после алло-ТГСК крови. У 112 (48%) больных в ранние сроки (от 27 до 100 дней) после трансплантации обнаруживали определенное количество копий ВГЧ-6 в крови, из них у 5% клиническая симптоматика отсутствовала, у остальных 60 больных наблюдались фебрильная лихорадка, диарея – у 51, неврологические расстройства – у 19 больных [12]. При реактивации ВГЧ-6 лечение проводили ганцикловиром или фоскарнетом. Лечение начинали лишь в том случае, если присутствовала клиническая картина вирусной

инфекции. Больных, у которых выявлялась ДНК ВГЧ-6, в течение мониторинговали методом ПЦР еженедельно до тех пор, пока не получали дважды подтвержденного отрицательного ответа (исчезновение копий вируса). ВГЧ-6 рассматривали как симптоматическую реактивацию в тех случаях, когда были исключены другие причины фебрильной нейтропии (бактериальные, грибковые). Ответ на противовирусную терапию оценивали по исчезновению ДНК вируса в периферической крови, определяемой методом ПЦР до получения трехкратного отрицательного теста. Миелоаблативный режим кондиционирования расценивали как фактор риска реактивации ВГЧ 6-го типа. У некоторых больных были диагностированы серьезные осложнения – вирусный энцефалит с выявленными ДНК ВГЧ-6 в спинномозговой жидкости (у 2 больных), эпилептические припадки (у 4 больных), интерстициальная пневмония (у 7 больных) с обнаружением ВГЧ-6 в плевральной жидкости и жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). У 50% больных с выделенной ДНК вируса обнаружена ЦМВ-инфекция. Исследователи отмечали, что реактивация ВГЧ-6 после трансплантации ассоциирована с медленным восстановлением тромбоцитов, увеличением частоты ранней посттрансплантационной смертности и развитием реакции «трансплантат против хозяина» [11].

Энцефалит, вызванный ВГЧ-6, – одно из самых тяжелых проявлений инфекции, сопровождается нарушением памяти, головными болями, дезориентацией [8, 13–15]. Диагноз устанавливают при выявлении ДНК ВГЧ-6 в спинномозговой жидкости в концентрации более 500 копий/мл, а также при обнаружении на магнитно-резонансной томографии (МРТ) высокоинтенсивных сигналов в лобных долях головного мозга [15]. Больным, у которых по каким-либо причинам выполнить люмбальную пункцию было невозможно, диагноз устанавливали при наличии трех признаков: типичная клиническая картина, обнаружение ДНК вируса в периферической крови и изменения по данным МРТ. ВГЧ-6 способен интегрироваться в теломерный регион хромосом человека. Такие клетки с интегрированным ВГЧ-6 передаются клеткам и органам реципиента при трансплантации и активизируются в условиях экстремальной иммуносупрессии. Пациенты с интегрированным вирусом плохо поддаются лечению, количество таких больных достигает 0,1–1% среди всей популяции в развитых странах [16], а количество копий ДНК вируса в крови обычно доходит до рекордного количества (1 млн клеток в 1 мл) [17].

В данных литературы информация о клинически значимых инфекциях ВГЧ-6 у больных АА немногочисленна. В 2010 г. описан случай ассоциированного с ВГЧ-6 гепатита у трехлетнего ребенка, подтвержденный результатами ПЦР-диагностики ДНК вируса в биоптате печени и крови больного. Через 2 мес после установленного диагноза у пациента развилась клиническая картина спонтанной кровоточивости, а результаты гистологического исследования трепанобиоптата подтвердили развитие АА [18].

ВГЧ-6 лимфотропен, однако способен поражать и гемопоэтические клетки, а следовательно, может являться причиной длительного неприживания трансплантата [19]. В другом клиническом исследовании [12] не была подтверждена взаимосвязь вирусной нагрузки, определяемой по количеству копий вирусной ДНК в биологических средах, и исхода терапии. Показано, что ВГЧ-6 может спровоцировать реакцию «трансплантат против хозяина» [19], а иммуносупрессия провоцирует реактивацию этого вируса. Больные после трансплантации, получающие ганцикловир или фоскарнет в качестве профилактики ЦМВ-инфекции, менее подвержены

Для корреспонденции:

Лобанова Татьяна Игоревна, врач-гематолог научно-клинического отделения химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, 126167, г. Москва, Россия. E-mail: lobanova_tanya@yahoo.com.

For correspondence:

Lobanova Tatiana I., hematologist in National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: lobanova_tanya@yahoo.com.

Information about authors:

Lobanova T.I., <http://orcid.org/0000-0001-6407-0428>;
Parovichnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>;
Tihomirov D.S., <http://orcid.org/0000-0002-2553-6579>;
Troitskaya V.V., <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>, Researcher ID: M-8639-2014;
Mikhailova E.A., <http://orcid.org/0000-0002-2449-2682>;
Fidarova Z.T., <http://orcid.org/0000-0003-0934-6094>;
Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>.

осложнениям, однако у некоторых больных даже на фоне профилактики развивались вирусные энцефалиты [20]. У пациентов с активной инфекцией ВГЧ-6 отмечено медленное восстановление количества CD8⁺ Т-клеток, которое может длиться до 6 мес после ТКМ, а общая выживаемость этих больных после трансплантации хуже [21].

Исследования по изучению противовирусного действия показали, что ВГЧ-6 малочувствителен к аналогам нуклеозидов [22, 23]. С определенным успехом в лечении были использованы ганцикловир и фоскарнет [24, 25]. К основным этиотропным лекарственным средствам относят три группы препаратов: ациклические аналоги гуанозина, интерфероны и иммуноглобулины [7, 22, 23]. Фоскарнет натрия (фоскарнет) является ингибитором вирусной ДНК-полимеразы и, в меньшей степени, РНК-полимеразы. Из-за высокой токсичности он считается средством 2-го ряда. Новыми противогерпетическими химиопрепаратами являются цидофовир и бривудин. Эти лекарственные средства обладают более высокой эффективностью, чем ацикловир и ганцикловир, но хуже переносятся, что ограничивает их клиническое применение. Их следует использовать при угрожающих жизни формах герпесвирусных инфекций при условии известной или ожидаемой резистентности к ацикловиру и ганцикловиру [2]. Мало известно об эффективности превентивной противовирусной терапии ВГЧ-6. До сих пор лечение ВГЧ-6-инфекции у иммунокомпрометированных больных начинают лишь в случае совокупности проявлений: выделения ДНК в биологической жидкости и наличия клинической картины. Как бы ни была высока вирусная нагрузка в биологических жидкостях, только клиническая симптоматика определяет необходимость назначения терапии. Основными противовирусными препаратами для таких больных являются ганцикловир, фоскарнет и цидофовир. Часто лечение вирусного энцефалита сопровождается комбинацией препаратов (ганцикловир и фоскарнет) в стандартной дозе. У больных, получающих химиотерапию, важны уменьшение объема иммуносупрессивной терапии или ее полная отмена в случае выявления ВГЧ-6. Необходимо отметить, что до сих пор не было исследований, где определялась бы длительность противовирусной терапии и дозы. Общая схема терапии используется для лечения ВГЧ-6 и ЦМВ-инфекции, поэтому в большинстве случаев приблизительная продолжительность составляет 3–4 нед, иногда несколько месяцев [26, 27]. В последних исследованиях рекомендуемая терапия вирусного поражения центральной нервной системы (ЦНС) включает высокие дозы ганцикловира (18 мг/кг в сутки) либо фоскарнета 90 мг/кг каждые 12 ч (180 мг/кг в сутки) [28]. Эффективность терапии определяется значимым уменьшением клинических проявлений заболевания, а также уменьшением или исчезновением копий вируса (как и при ЦМВ-инфекцией) [29]. Резистентность к проводимой терапии инфекции ВГЧ-6 – редкое явление, однако в контексте сочетания этого вируса с ЦМВ-инфекцией возможна невосприимчивость к стандартному лечению. Для установления алгоритма лечения необходимы рандомизированные исследования [30]. Профилактическое лечение ганцикловиром может предупредить реактивацию ВГЧ-6 [31], у больных после алло-ТКМ не во всех случаях превентивная терапия оказалась успешной [32]. В настоящее время нет консенсуса, определяющего адекватные превентивные методы терапии герпесвирусной инфекции 6-го типа [14].

Цель работы – оценить частоту встречаемости ВГЧ-6 у иммунокомпрометированных больных и определить оптимальную тактику терапии.

Материалы и методы

В ретроспективном исследовании оценили частоту встречаемости ВГЧ-6 у больных различными заболеваниями системы крови, в том числе и после ауто-ТГСК крови. За период с января 2013 по июль 2017 г. в отделении химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения в исследование были включены 273 больных, из них 72 больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), 141 больной острым миелобластным лейкозом (ОМЛ), 15 больных злокачественными В-клеточными лимфомами (В-КЛ), из них 14 – В-крупноклеточными, 1 – лимфомой из клеток мантийной зоны, 45 – апластической анемией (АА). Критерии включения: все поступившие в отделение больные с впервые установленным диагнозом. Ауто-ТГСК крови проведена 25 первичным больным после завершения химиотерапии в условиях отделения (19 больным ОЛЛ, 6 больным В-клеточными лимфомами). В вирусологической лаборатории ГИЦ (ныне НМИЦ гематологии, Москва) выделяли ДНК ВГЧ-6 в биологическом материале методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Единица измерения: количество копий вируса в 1 мл жидкости. У пациентов до установления диагноза инфекции ВГЧ-6 и начала специфической противовирусной терапии в случае возникновения осложнений после курса химиотерапии, а также после выполненной трансплантации, прежде всего исключали все основные возможные причины инфекций (бактериальные, грибковые поражения), проводили бактериологические, лабораторные исследования: посевы крови из вены и катетера на среду «Бактек», микробиологическое исследование биологических жидкостей. Выявление вирусной нагрузки в крови (от 500 копий/10⁵ клеток и выше), наличие клинической картины (длительная глубокая фебрильная нейтропения, геморрагический цистит, пневмония, головные боли, появление сыпи на кожных покровах при отсутствии подтвержденной бактериальной инфекции) определяли формирование диагноза вирусной инфекции и начало специфической противовирусной терапии. При исследовании другого биологического материала (БАЛ, ликвор, моча, кал, кожа, слюна и т.д.) для начала терапии важно было также наличие клинической картины.

У всех больных исследовали биологические жидкости в зависимости от клинических проявлений (кровь, костный мозг, БАЛ, моча, кал, спинномозговая жидкость, слюна), а также у 2 больных исследовали дополнительно биоптат кожи на выявление ДНК ВГЧ-6 при наличии инфекционных осложнений без подтвержденной бактериальной/грибковой инфекции, высокой лихорадки, длительной нейтропении в периоде глубокой иммуносупрессии (после курсов химиотерапии и после ауто-ТГСК крови в период нейтропении).

Статистическую обработку данных, проверку независимости качественных признаков осуществляли с помощью критерия Пирсона. Независимыми считали признаки при $p < 0,05$.

Результаты

ДНК ВГЧ-6 выявлена у 90 (32,9%) из 273 больных, из них у 24 – ОЛЛ, у 54 – ОМЛ, у 5 – В-КЛ и у 7 – АА. На ранних стадиях после ауто-ТГСК крови было 25 больных (19 больных ОЛЛ, 6 больных В-КЛ), из них у 11 (44%) больных выявлена ДНК вируса. У 26 (9,5%) из 273 больных, включая 6 больных после ауто-ТГСК крови в ранние (до 40 дней) сроки после трансплантации и в период глубокого цитопения после курсов химиотерапии выявлена взаимосвязь между выделением ДНК ВГЧ-6 и клинической симптоматикой (у 5 больных ОЛЛ, у 1 больного В-КЛ, у 14 больных ОМЛ).

Клиническая картина была разнообразной: наиболее часто выявляли некротическую энтеропатию (диарея) – у 8 больных, длительную (более 40 дней) цитопению и фебрильную лихорадку – у 7 больных. Также отмечались геморрагический цистит – у 3 больных, у 1 – энцефалит, протекавший с головными болями и герпетическими высыпаниями, у 2 – обширное поражение кожи (с подтвержденной в биоптате ДНК ВГЧ-6), у 1 – тяжелый вирусный мукозит, у 4 больных – вирусная пневмония с острой дыхательной недостаточностью 2-й степени. Кроме

Больные с выделенной ДНК ВГЧ-6 и клиническими симптомами

Диагноз	Число больных, абс.	Выявление ДНК ВГЧ-6		Клинические проявления инфекции		Биологический материал
		число больных, абс.	%	число больных, абс.	%	
Без ауто-ТГСК:						
ОЛЛ	53	16	30	5, из них: с энтеропатией – 3 с пневмонией – 1 с мочевого инфекции – 1	9,4; из них: 60 20 20	Кал БАЛ Моча, кровь
ОМЛ	141	54	38	14, из них: с пневмонией – 3 с мочевого инфекции – 1 с мукозитом – 1 с энтеропатией – 3 с цитопенией – 4 с кожной сыпью 2	10; из них: 21 7 7 21 29 15	БАЛ Моча Слюна Кал Кровь, костный мозг Биоптат кожи
В-ККЛ	9	2	22	1 с цитопенией, фебрильной нейтропенией	11	Кровь, костный мозг
Апластическая анемия	45	7	15,5	–	–	Кровь (5 больных) моча (1 больной) БАЛ (1 больной)
С ауто-ТГСК:	25	11	44	6	24	
ОЛЛ	19	8	42	4, из них: с энцефалитом – 1 с цитопенией – 1 с энтеропатией – 2	21; из них: 25 25 50	Ликвор Кровь, костный мозг Кал
В-клеточная лимфома	6	3	50	2, из них: с мочевого инфекции – 1 с цитопенией – 1	33,3; из них: 50 50	Моча Кровь

того, у 4 больных одновременно выявлялись ДНК ВГЧ-6 и ЦМВ. В **таблице** представлена информация о больных с клинической картиной инфекции ВГЧ-6 и материалом исследования для ПЦР-диагностики ВГЧ-6.

Всем больным назначали внутривенную терапию ганцикловиром в дозе (10 мг/кг) в течение 4 нед, некоторых больных в дальнейшем переводили на пероральную форму – валганцикловир (900 мг/сут) в течение последующих 2 нед до полного исчезновения клинической картины вирусной инфекции и прекращения выделения вирусной ДНК из биологических жидкостей. У 2 больных после отмены ганцикловира в «ранние сроки» (на 2-й или 3-й неделе лечения) наблюдалось увеличение числа копий вирусной ДНК (свыше 500 копий) и возобновление клинических симптомов, в связи с чем лечение ганцикловиром продлевали до 6 нед (у больного с фебрильной нейтропенией и выделенной ДНК вируса в костном мозге и крови), а у 1 больного (с ВГЧ-6-ассоциированным энцефалитом) – до 12 нед. Клинические симптомы (боли при мочеиспускании, выраженные головные боли, фебрильная лихорадка, кожные высыпания, острая дыхательная недостаточность) у большинства – у 24 из 26 больных уменьшались на 3–5-й дни лечения, а увеличение числа копий вирусной ДНК в при проведении терапии требовало увеличения продолжительности лечения до 6–12 нед.

В литературе геморрагический цистит ассоциированный с ВГЧ-6, описан недостаточно, в большей степени у пациентов после трансплантации (до 9% больных после алло-ТКМ) [33–35]. В нашем исследовании у 3 из 26 больных наблюдалась картина тяжелого геморрагического цистита с выраженным болевым синдромом. Диагноз устанавливали при наличии клинической картины (гематурия, болевой синдром), отрицательных результатов бактериологических посевов и обнаружении ДНК ВГЧ-6 в моче. Больным проводили длительное лечение ганцикловиром (от 3 нед) в дозе 10 мг/кг в сутки, а у 1 больного выраженность клинических проявлений цистита потребовала увеличение дозы до 15 мг/кг через 4 дня от начала получения стандартной дозы и продолжительности терапии

до 4 нед, в результате чего достигнут положительный эффект в виде уменьшения болевого синдрома и регрессии клинической картины цистита.

Вирусный энцефалит был диагностирован у 1 больного Т-ОЛЛ в ремиссии заболевания на фоне восстановленных показателей периферической крови, на +39-й день после выполненной ауто-ТГСК. Клиническая картина включала появление головной боли, лихорадки с высокой температурой (39,3 °С), везикулярной сыпи в области ушной раковины, отсутствие менингеальной и общемозговой симптоматики. После выполненной диагностической люмбальной пункции (цитоз 99/3, представлен лимфоцитами) в первые 3 дня до диагностики этиологии проводили терапию ацикловиром, однако без эффекта: сохранялись выраженные головные боли, герпетические высыпания и лихорадка. После выявления методом ПЦР в спинномозговой жидкости ДНК ВГЧ-6 (в количестве 200 копий/мл) был назначен ганцикловир в дозе 10 мг/кг в сутки.

Клинические проявления вирусной инфекции регрессировали на 3-й день лечения (полностью исчезла сыпь, прекратилась головная боль и нормализовалась температура тела), а ДНК вируса не определялась на 15-й день терапии при еженедельном анализе. У этого больного длительно сохранялся цитоз в спинномозговой жидкости (через 1 нед терапии – 24/3, 2 нед – 30/3, 6 нед – 20/3, 8 нед – 18/3, 9 нед – 11/3). Лишь через 1,5 мес лечения, после получения трехкратного отрицательного результата ДНК вируса в ликворе и крови методом ПЦР и снижения цитоза до 20/3, больного перевели на лечение валганцикловиром в дозе 900 мг/сут. Общая продолжительность лечения противовирусными препаратами составила 14 нед (3,5 мес). Дважды была попытка закончить противовирусную терапию (на 4 нед и 6 нед терапии) после получения однократного и двукратного (на 6 нед) отрицательного результата ПЦР-исследования. После прерывания терапии на этих сроках была отмечена повторная реактивация вируса, увеличение цитоза (ДНК ВГЧ-6 менее 500 копий/мл, возрастание цитоза с 20/3 до 42/3) и возвращение клини-

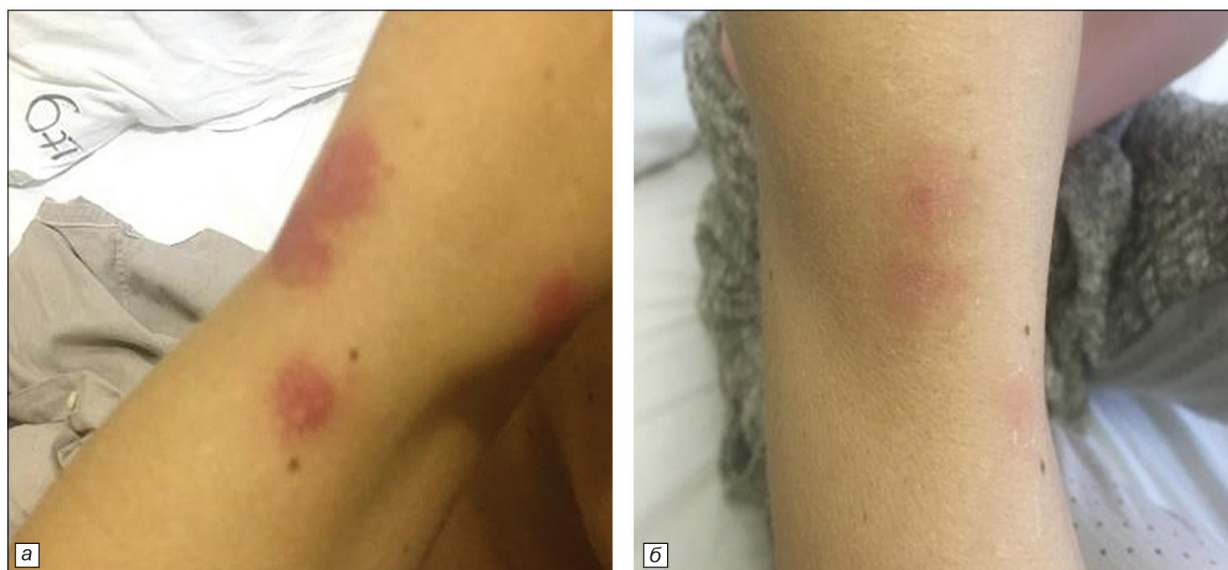


Рис. 1. Больная В., 41 год. Острый миелобластный лейкоз. Состояние после курса химиотерапии; фебрильная нейтропения.
а – дебют высыпаний; б – регрессия высыпаний на фоне лечения ганцикловиром.

ческих симптомов. Лечение противовирусным препаратом у этого больного завешено через 14 нед (суммарно 6 нед – внутривенная форма, 8 нед – таблетированная) при цитозе 11/3 и 4-кратном отрицательном результате ПЦР. По нашему опыту, необходимо многократное получение отрицательного результата исследования ПЦР (анализ 1 раз в неделю), а также длительное противовирусное внутривенное лечение (не менее 1 мес) в случае тяжелой вирусной инфекции.

У 2 больных ОМЛ после программных курсов химиотерапии отмечены эритематозные высыпания на коже,

возвышавшиеся над ее поверхностью, с тенденцией к слиянию, с выраженным болевым синдромом и фебрильной лихорадкой. Были исключены бактериальные и грибковые инфекции, а массивная антибактериальная терапия не давала эффекта. При биопсии этих образований данных о наличии лейкемид не получено, а методом ПЦР была выявлена ДНК ВГЧ-6 в биоптате кожи. Больным была назначена терапия ганцикловиром в дозе 10 мг/кг в сутки и высыпания значительно уменьшились на 10-й день терапии, регрессировала фебрильная лихорадка (рис. 1). В обоих случаях лечение проводили в течение 3–4 нед.



Рис. 2. Та же больная. Кожные проявления инфекции, ассоциированной с вирусом герпеса человека 6-го типа.
а – дебют высыпаний; б – регрессия высыпаний после 10-дневного курса лечения ганцикловиром.

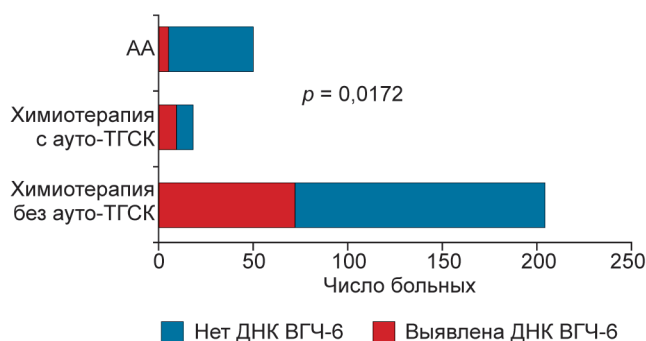


Рис. 3. Выявление ДНК вируса герпеса человека 6-го типа у больных апластической анемией (АА), с ауто-ТГСК и без ауто-ТГСК в период фебрильной цитопении.

По нашим наблюдениям, исчезновение клинических проявлений болезни еще не является показанием к прекращению лечения.

ДНК ВГЧ-6 выявлена лишь у 15,5% больных АА и, несмотря на иммунодефицитный статус и иммуносупрессивную терапию, не отмечено клинической манифестации инфекции ВГЧ-6, ни одному из больных не проводили специфическую противовирусную терапию. При сравнительном анализе ДНК ВГЧ-6 значимо реже выявлялась в группе больных АА, чем у больных, находившихся на химиотерапии (рис. 2). Частота развития вирусной инфекции не различалась в группах с трансплантацией и без нее (рис. 3). При сравнении групп больных ОЛЛ с трансплантацией и без нее не получено значимых различий в частоте детекции ДНК вируса и клинической симптоматики, что может быть связано с недостаточным количеством проанализированных пациентов.

Обсуждение

На сегодняшний день инфекцию, вызванную ВГЧ-6, рассматривают как полиморфную. Она может проявляться как в виде «внезапной экзантемы», так и вызывать поражения ЦНС (менингиты, энцефалиты), длительный субфебрилитет, респираторные, мочевые инфекции, нейтропении у иммунокомпрометированных больных [1, 10, 36]. Определяется высокая частота выявления ДНК ВГЧ 6-го типа у больных после алло-ТКМ и ауто-ТГСК крови. Одной из самых тяжелых инфекций является вирусный энцефалит, который может явиться причиной смерти больного в случае неправильной диагностики и неадекватного лечения [37–39]. Частота вирусного поражения ЦНС варьирует от 0–11,6%, чаще – у больных после алло-ТГСК [13–15, 37]. До сих пор не разработаны эффективные методы превентивной терапии онкогематологических больных, и лечение начинается тогда, когда уже есть клинические проявления поражения ЦНС [13], иногда приводящие к инвалидизации больного. В 2012 г. группа ученых из Японии [14] анализировала применение небольших доз фоскарнета (50 мг/кг в сутки) для предупреждения развития вирусных энцефалитов у больных перед алло-ТКМ и алло-ТГСК. Анализ крови на обнаружение вирусной ДНК изучали методом ПЦР каждую неделю. В группах с применением противовирусного препарата ($n = 67$) и без него ($n = 51$), оказалось, что значимых различий не выявлено: в обеих группах с одинаковой частотой встречались случаи вирусного энцефалита (9,9% против 4,5%; $p = 0,24$). Таким образом, превентивное лечение фоскарнетом в дозе 50 мг/кг в сутки не оказало влияния на частоту вирусных энцефалитов после ТКМ [14]. Лечение инфекции должно быть длительным, с постоянным контролем биологии

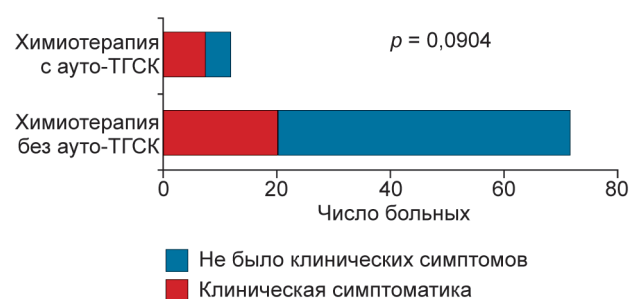


Рис. 4. Клинические проявления вируса герпеса человека 6-го типа у больных находящихся на химиотерапии с ауто-ТГСК и без ауто-ТГСК.

ческих сред на наличие копий ДНК вируса, вплоть до полной его элиминации (до снижения вирусной нагрузки ниже предела чувствительности тест-системы). На данный момент лечение инфекций, связанных с этим типом вируса, происходит в активной фазе с клинической симптоматикой, и в будущем необходимы новые исследования, направленные на поиск препарата и его дозы для профилактики иммунокомпрометированных больных.

Таким образом, наше исследование свидетельствует о высокой частоте обнаружения ДНК ВГЧ-6 у иммунокомпрометированных больных. Однако лишь у 9,5% больных мы диагностировали ассоциированную с вирусом инфекцию. Чаще всего (у 24% больных) вирусная инфекция выявляется у больных после ауто-ТГСК крови. Инфекция, ассоциированная с ВГЧ-6, требует длительного (как и в случае с ЦМВ-инфекцией) лечения внутривенной формой ганцикловира с последующим переводом на поддерживающее лечение валганцикловиrom в стандартных дозах.

Своевременная диагностика и лечение инфекции, вызванной ВГЧ-6, помогли избежать неблагоприятных исходов у пациентов. У всех больных достигнута эрадикация вируса из биологических сред, восстановление нормального кроветворения, нормализация температуры тела и исчезновение других клинических проявлений.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. *Герпесвирусные инфекции человека: Руководство для врачей*. СПб.: СпецЛит; 2006.
 - Чеботкевич В.Н., Абдулкадыров К.М. *Вирусные инфекции у онкогематологических больных*. СПб.: Роза Мира; 2002.
 - Тихомиров Д.С., Гаранжа Т.А., Троицкая В.В., Суворова П.А., Ярославцева Н.Г., Туполева Т.А. и др. Лабораторная диагностика герпесвирусных инфекций у больных острыми лейкозами. *Вопросы вирусологии*. 2009; 54(1): 19–21.
 - Ершов Ф.И., Оспельникова Т.П. Современный арсенал антигерпетических лекарственных средств. *Инфекции и антимикробная терапия*. 2001; 3(4): 100–4.
 - Казмирчук В.Е., Мальцев Д.В. Ретроспективный анализ применения препарата Гепримун-6 у пациентов с инфекцией, вызванной вирусом герпеса 6-го типа. *Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология*. 2011; 9–10: 32–48.
- Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Isakov V.A., Arkhipova E.I., Isakov D.V. *Human herpesvirus infections: The guide for physicians*. St.Peterburg: SpetsLit; 2006. (in Russian)
- Flamand L., Komaroff A.L., Arbuckle J.H., Medveczky P.G., Ablashi D.V. Review, part 1: Human herpes virus 6 basic biology, diagnostic testing, and antiviral efficacy. *J. Med. Virol.* 2010; 82(9): 1560–8.

3. Chebotkevich V.N., Abdulkadyrov K.M. *Viral infections in oncohematological patients*. St.Peterburg: Rosa Mira; 2002. (in Russian)
4. Tikhomirov D.S., Garanzha T.A., Troitskaya V.V., Suvorova P.A., Yaroslavtseva N.G., Tupoleva T.A., et al. Laboratory diagnostics of herpesviral infections in acute leukemia patients. *Problems of virology. Russian journal (Voprosy virusologii)*. 2009; 54(1): 19–21. (in Russian)
5. Vu T., Carrum G., Hutton G. Human herpesvirus-6 encephalitis following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2007; 39(11): 705–9. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705666.
6. Ogata M. Human Herpesvirus-6 in hematological malignancies. *J. Clin. Exp. Hematop.* 2009; 49(2): 57–67.
7. Tormo N., Solano C., de la Camara R., Garcia-Noblejas A., Cardenoso L., Clari M.A., et al. An assessment of the effect of human herpesvirus-6 replication on active cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2010; 16(5): 653–6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.12.003.
8. Singh N., Paterson D.L. Encephalitis caused by human herpesvirus-6 in transplant recipients: relevance of a novel neurotropic virus. *Transplantation*. 2000; 69(12): 2474–9.
9. Shiley K., Blumberg E. Herpes Viruses in Transplant Recipients: HSV, VZV, Human Herpes Viruses and EBV. *Hematol. Oncol. Clin.* 2011; 25(1): 171–91. DOI: 10.1016/j.hoc.2010.11.012.
10. Chiu S.S., Cheung C.Y., Tse C.Y., Peiris M. Early diagnosis of primary human herpesvirus 6 infection in childhood: serology, polymerase chain reaction, and virus load. *J. Infect. Dis.* 1998; 178(5): 1250–6.
11. Dulery R., Salleron J., Dewilde A., Rossignol J., Boyle E.M., Gay J., et al. Early human herpesvirus type 6 reactivation after allogeneic stem cell transplantation: a large scale clinical study. *Biol. Blood Marrow*. 2012; 18(7): 1080–9.
12. Verhoeven D.H., Claas E.C., Jol-van der Zijde C.M., Thijssen J.C., Lankester A.C., Bredius R.G., et al. Reactivation of human herpes virus-6 after pediatric stem cell transplantation: risk factors, onset, clinical symptoms and association with severity of acute graft-versus-host disease. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2015; 34(10): 1118–27. DOI: 10.1097/INF.0000000000000824.
13. Ogata M. Human herpesvirus-6 encephalitis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Brain Nerve*. 2015; 67(7): 919–30.
14. Ogata M., Satou T., Inoue Y., Takano K., Ikebe T., Ando T., et al. Foscarnet against human herpesvirus (HHV)-6 reactivation after allo-SCT: breakthrough HHV-6 encephalitis following antiviral prophylaxis. *Bone Marrow Transplant*. 2013; 48(2): 257–64.
15. Imataki O., Uemura M. Ganciclovir-resistant HHV-6 encephalitis that progressed rapidly after bone marrow transplantation. *J. Clin. Virol.* 2015; 69(8): 176–8. DOI: 10.1016/j.jcv.2015.06.097.
16. Agut H., Bonnafous P., Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. *J. Clin. Microbiol. Rev.* 2015; 28(2): 313–35. DOI: 10.1128/CMR.00122-14.
17. Ward K.N., Leong H.N., Nacheva E.P., Howard J., Atkinson C.E., Davies N.W., et al. Human herpesvirus 6 chromosomal integration in immunocompetent patients results in high levels of viral DNA in blood, sera, and hair follicles. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44(4): 1571–4.
18. Schenke C., Alejandre-Alcazar M.A., Holter W., Korn K., Papadopoulos T., Kohler H. Aplastic anemia following hepatitis associated with human herpesvirus 6. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2010; 51(4): 527–9. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181e9636e.
19. Chevallier P., Hebia-Fellah I., Planche L. Human herpes virus 6 infection is a hallmark of cord blood transplant in adults and may participate to delayed engraftment: a comparison with matched unrelated donors as stem cell source. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 45(7): 1204–11.
20. Zerr D.M., Corey L., Kim H.W., Huang M.L., Nguy L., Boeckh M. Clinical outcomes of human herpesvirus 6 reactivation after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 40(7): 932–40.
21. Quintela A., Escuret V., Roux S., Bonnafous P., Gilis L., Barraco F., et al.; Lyon HEMINF Study Group. HHV-6 infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: from chromosomal integration to viral co-infections and T-cell reconstitution patterns. *J. Infect.* 2016; 72(2): 214–22.
22. Ershov F.I., Ospelnikova T.P. Modern arsenal of antiherpetic drugs. *Infections and antimicrobial therapy. Russian journal (Infektsii i antimikrobnaya terapiya)*. 2001; 3(4): 100–4. (in Russian)
23. Kazmirschuk V.E., Maltsev D.V. Retrospective analysis of the use of Geprimun-6 in patients with HHV-6 infection. *Clinical Immunology. Allergology. Infectology. Russian Journal (Klinicheskaya immunologiya. Allergologiya. Infektologiya)*. 2011; 9–10(48–49): 32–48. (in Russian)
24. Karam C., Revuelta M., Macgowan D. Human herpesvirus 6 meningoradiculitis treated with intravenous immunoglobulin and valganciclovir. *J. Neurovirol.* 2009; 15(1): 108–9.
25. Zerr D.M., Gupta D., Huang M.L., Carter R., Corey L. Effect of antivirals on human herpesvirus 6 replication in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 39(3): 309–17.
26. Razonable R.R., Lautenschlager I. Impact of human herpesvirus 6 in liver transplantation. *World J. Hepatol.* 2010; 2(9): 345–53. DOI: 10.4254/wjh.v2.i9.345.
27. Hirabayashi K., Nakazawa I., Katsuyama Y., Yanagisawa T., Saito S. Successful ganciclovir therapy in a patient with human herpesvirus-6 encephalitis after unrelated cord blood transplantation: usefulness of longitudinal measurements of viral load in cerebrospinal fluid. *Infection*. 2013; 41(1): 219–23.
28. Imataki O., Uemura M. Ganciclovir-resistant HHV-6 encephalitis that progressed rapidly after bone marrow transplantation. *J. Clin. Virol.* 2015; 69(8): 176–8.
29. Razonable R.R., Hayden R.T. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013; 26(4): 703–27.
30. Flamand L., Lautenschlager I., Krueger G., Ablashi D. *Human herpesviruses HHV-6A, HHV-6B & HHV-7. Diagnosis and Clinical Management*. Elsevier; 2014. DOI:10.1016/B978-0-444-62703-2.00020-3
31. Zerr D.M. Human herpesvirus 6 and central nervous system disease in hematopoietic cell transplantation. *J. Clin. Virol.* 2006; 37(1): 52–6.
32. Ishiama K., Katagiri T., Hoshino T., Yoshida T., Yamaguchi M. Preemptive therapy of human herpesvirus-6 encephalitis with foscarnet sodium for high-risk patients after hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2011; 46(6): 863–9.
33. Ashshi A.M., Klapper P.E., Cooper R.J. Detection of human cytomegalovirus, human herpesvirus type 6 and human herpesvirus type 7 in urine specimens by multiplex PCR. *J. Infect.* 2003; 47(1): 59–64.
34. Asano Y., Yoshikawa T., Suga S., Yazaki T., Hirabayashi S., Ono Y., et al. Human herpesvirus 6 harboring in kidney. *Lancet*. 1989; 2(8676): 1391.
35. Arthur R.R., Shah K.V., Baust S.J., Santos G.W., Saral R. Association of BK viruria with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. *N. Engl. J. Med.* 1986; 315(4): 230–4.
36. Ongradi J., Ablashi D.V., Yoshikawa T., Stercz B., Ogata M. Roseolovirus-associated encephalitis in immunocompetent and immunocompromised individuals. *J. Neurovirol.* 2017; 23(1): 1–19.
37. Harberts E., Yao K., Wohler J.E., Maric D., Ohayon J., Henkin R., Jacobson S. Human herpesvirus-6 entry into the central nervous system through the olfactory pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011; 108(33): 13734–9.
38. Fotheringham J., Akhyani N., Vortmeyer A. Detection of active human herpesvirus-6 infection in the brain: correlation with polymerase chain reaction detection in cerebrospinal fluid. *J. Infect. Dis.* 2007; 195(3): 450–4. DOI: 10.1086/510757.
39. Ward K.N., Andrews N.J., Verity C.M., Miller E., Ross E.M. Human herpesvirus-6 and 7 each cause significant neurological morbidity in Britain and Ireland. *Arch. Dis. Child.* 2005; 90(6): 619–23. DOI: 10.1136/adc.2004.062216.

Поступила 13.11.17

Принята к печати 29.12.17

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.155.194.294-085.38

Рахмани А.Ф., Михайлова Е.А., Дубинкин И.В.

ТАКТИКА ТРАНСФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ КОНЦЕНТРАТАМИ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ДЕПРЕССИЯМИ КРОВЕТВОРЕНИЯ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России,
125167, г. Москва, Россия

Современная терапия заболеваний системы крови подразумевает необходимость интенсивного применения качественного и безопасного трансфузионного обеспечения сопроводительной терапии. Трансфузии концентратов тромбоцитов (КТ) являются основным эффективным методом купирования геморрагических осложнений при тромбоцитопениях вследствие угнетения нормального кроветворения или повышенного потребления тромбоцитов. Наиболее высокая потребность в трансфузиях КТ по их объемам и частоте отмечается у больных апластической анемией (АА), миелодиспластическим синдромом (МДС), различными вариантами острого лейкоза, а также после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). При этом множественные трансфузии донорских тромбоцитов могут являться фактором риска развития аллоиммунизации лейкоцитарными (HLA) и специфическими тромбоцитарными (HPA) антигенами донорских клеток крови и стать причиной развития иммунологической рефрактерности к трансфузиям КТ. Таким аллоиммунизированным больным трансфузии КТ целесообразно осуществлять на основе индивидуального подбора с помощью иммунологических тестов на совместимость пар «донор – реципиент». При множественной аллоиммунизации подбор пары «донор – реципиент» бывает затруднен или невозможен. В таких случаях методом выбора может быть плазмаферез, целью которого является устранение циркулирующих аллоантител и аутоантител.

Ключевые слова: обзор литературы; трансфузии концентратов тромбоцитов; аллоиммунизация; иммунологическая рефрактерность; индивидуальный подбор; плазмаферез.

Для цитирования: Рахмани А.Ф., Михайлова Е.А., Дубинкин И.В. Тактика трансфузионной терапии концентратами тромбоцитов у больных с депрессиями кроветворения. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(4): 218-222. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-218-222>

Rakhmani A.F., Mikhaylova E.A., Dubinkin I.V.

TACTICS OF PLATELET TRANSFUSION THERAPY IN PATIENTS WITH DEPRESSION OF THE HEMATOPOIESIS: REVIEW

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

Modern therapy of hematological diseases requires the intensive use of maintenance of high-quality and safe platelet concentrate (PC) transfusions. Transfusions of PCs are the main method of arresting hemorrhagic complications in thrombocytopenia. The highest need to PC transfusions is noted in patients with aplastic anemia (AA), myelodysplastic syndrome (MDS), acute leukemia and after transplantation of hematopoietic stem cells (THSC). Multiple PC transfusions may be a risk factor for the development of alloimmunization by leukocyte (HLA) and specific platelet (HPA) antigens. It is advisable to carry out such PC transfusion in alloimmunized patients on the basis of the individual selection with the use of immunological compatibility tests of donor-recipient pairs. In cases of multiple alloimmunization, the selection of a "donor-recipient" pair is difficult or impossible. Circulating alloantibodies and autoantibodies can be eliminated by plasmapheresis.

Key words: literature review; transfusion of platelet concentrates; alloimmunization; immunological refractivity; individual selection; plasmapheresis.

For citation: Rakhmani A.F., Mikhaylova E.A., Dubinkin I.V. Tactics of platelet transfusion therapy in patients with depression of the hematopoiesis: review. *Russian journal of Hematology and Transfusiology (Gematologia i Transfusiologya)*. 2017; 62(4): 218-222. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-218-222>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 13 Nov 2017

Accepted 29 Dec 2017

Для корреспонденции:

Рахмани Анжелика Фаридовна, врач-гематолог, аспирант отдела процессинга клеток крови и криоконсервирования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: angelique.r86@mail.ru

For correspondence:

Rakhmani Anzhelika F., MD, hematologist, graduate student of the Department of processing of blood cells and cryopreservation, National Medical Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: angelique.r86@mail.ru

Information about authors:

Rakhmani A.F., <http://orcid.org/0000-0002-1568-0999>, Researcher ID: Q-1929-2017;
Mikhaylova E.A., <http://orcid.org/0000-0002-2449-2682>, Researcher ID: P-7589-2014;
Dubinkin I.V., <http://orcid.org/0000-0001-5347-0127>, Researcher ID: P-87942014.

Трансфузии концентратов тромбоцитов (КТ) являются одним из основных методов лечения и профилактики геморрагических осложнений, обусловленных тромбоцитопениями [1]. Термин «тромбоцитопения» подразумевает изолированное снижение количества тромбоцитов в крови ниже $150 \times 10^9/\text{л}$ [2, 3]. Однако клинические проявления геморрагического синдрома обычно возникают при содержании тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$ [1, 2]. К основным патогенетическим механизмам развития тромбоцитопений относятся: снижение продукции тромбоцитов и сокращение пула мегакариоцитов в костном мозге; инфильтрация костного мозга опухолевыми клетками; повышенное разрушение тромбоцитов, связанное с иммунными и неиммунными факторами и др. [2–4].

Тромбоцитопения, связанная со сниженной продукцией тромбоцитов и сокращением пула мегакариоцитов в костном мозге (КМ), является характерным симптомом апластической анемии (АА) [5] – заболевания системы крови, характеризующегося глубокой панцитопенией в результате угнетения костномозгового кроветворения и развитием аплазии КМ [5, 6]. Одним из клинических проявлений болезни является геморрагический синдром на фоне выраженной тромбоцитопении [7]. Ведущим механизмом поражения кроветворения при АА считается иммунная агрессия, направленная на клетки – предшественники гемопоэза [5, 6]. В патогенезе АА выделяют несколько иммуноопосредованных механизмов: олигоклональная экспансия цитотоксических Т-клеток, направленная против гемопоэтических (стволовых) клеток; неконтролируемая продукция цитокинов (интерферон γ – $\text{INF}\gamma$, фактор некроза опухоли α – $\text{TNF}\alpha$, трансформирующий фактор роста β – $\text{TGF}\beta$; подавление пролиферации и индукция апоптоза клеток-предшественников гемопоэза; нарушение регуляции клеточного цикла (снижение колониеобразующей способности). В результате развивается костномозговая недостаточность и аплазия КМ [5, 6]. В основе патогенетического механизма тромбоцитопении при гемобластозах лежит опухолевая инфильтрация КМ бластными клетками и сокращение пула мегакариоцитов, а также воздействие цитостатической терапии [7, 8].

Исследования, проведенные ранее в «Гематологическом научном центре» (ныне «Национальном медицинском исследовательском центре гематологии» – НМИЦ гематологии) Минздрава России, показали, что основными маркерами иммунологической рефрактерности являются анти-HLA- и анти-HPA-антитела [9, 10]. Частота встречаемости анти-HLA аллогенных антител у больных с рефрактерной к трансфузиям КТ тромбоцитопенией, колеблется от 20–30% при острых лейкозах до 80–100% при аплазиях КМ. Анти-HLA-антитела могут быть транзиторными и исчезать в процессе лечения. Частота встречаемости изолированных анти-HPA составляла 49% у больных АА, 52% у больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) [9, 10].

Аллоиммунизация к HPA может являться следствием трансфузий тромбоцитов больным с патологией гликопротеидных комплексов при тромбоцитопатиях [3, 4]. Например, тромбастения Гланцмана характеризуется качественными и количественными дефектами GPIIb/IIIa. Повторные трансфузии тромбоцитов доноров больным с данной патологией могут привести к аллоиммунизации против нативных антигенов донорских тромбоцитов. Так как комплекс GPIIb/IIIa содержит наиболее значимые аллоантигены тромбоцитов HPA, его сниженная экспрессия при тромбастении Гланцмана может привести к выработке именно анти-HPA-антител [3]. Сенсибилизация к антигенам HPA-15 обычно ассоциируется с аллоиммунной тромбоцитопенией плода и новорожденного и при этом обычно сочетается с аллоантителами к другим тромбоцитарным антигенам, чаще к GPIIb/IIIa. При возникновении посттрансфузионной пурпуры (ПТП) чаще всего отмечается появление анти-HPA1a-антител [4]. ПТП развивается у больных с HPA1 в гомозиготном состоянии HPA1b/HPA1b или резко сниженным уровнем экспрессии антигена HPA1a. У таких реципиентов могут быть сформированы аллогенные антитела и клетки иммунологической памяти к HPA1a вследствие иммунизации во время беременности или заместительной трансфузионной терапии. Как правило, тяжелая тромбоцитопения развивается спустя 5–10 дней после трансфузии КТ. Механизм тяжелой тромбоцитопении при ПТП может быть связан и с адсорбцией на GPIIb/IIIa растворимого антигена HPA1a или микрочастиц тромбоцитов с HPA1a [3, 4].

Трансфузии КТ у гематологических больных проводят как с профилактической целью, так и с целью лечения геморрагического синдрома [11].

Существуют данные разных исследовательских групп, свидетельствующие о целесообразности проведения трансфузий КТ только при снижении количества тромбоцитов менее $10 \times 10^9/\text{л}$ [11, 12]. При наличии синдрома потребления (сепсис, лихорадка, спленомегалия и др.) показанием к трансфузиям КТ является тромбоцитопения менее $20 \times 10^9/\text{л}$ [13, 14].

Трансфузии КТ проводят с профилактической целью уменьшения риска развития спонтанных кровотечений при концентрации тромбоцитов в периферической крови менее $10 \times 10^9/\text{л}$; перед установкой центрального венозного катетера при концентрации тромбоцитов в периферической крови $20 \times 10^9/\text{л}$ и ниже; перед проведением люмбальной пункции или объемных оперативных вмешательств – при количестве тромбоцитов в периферической крови $50 \times 10^9/\text{л}$ и ниже [12].

При развитии геморрагического синдрома любой степени трансфузии КТ проводят независимо от количества тромбоцитов в периферической крови [11–14].

Алгоритм использования трансфузий донорских клеток у больных АА во многом зависит от этапа иммуносупрессивной терапии (ИСТ) [15]. Современная тактика лечения АА позволяет добиться общей выживаемости в течение 10 лет у 80–85% больных [16]. Терапия АА включает в себя: трансплантацию аллогенного костного мозга при наличии HLA-гистосовместимого донора-родственника; комбинированную ИСТ с применением препаратов антилимфоцитарного глобулина (АТГ) и циклоспорина А [15, 16]. АТГ – препарат, полученный путем иммунизации животных лимфоцитами человека (тимocyтами плода) [17]. Использование препаратов данного ряда в терапии больных АА базируется на их избирательном лимфоцитотоксическом эффекте в отношении активированных Т-лимфоцитов [17]. Эффективность современного лечения во многом определяется качеством сопроводительной терапии, в частности трансфузионной. На подготовительном этапе перед введением АТГ показана адекватная трансфузионная поддержка КТ и эритроцитарной взвесью для поддержания количества тромбоцитов выше $30 \times 10^9/\text{л}$, а концентрации гемоглобина – выше 80 г/л [5, 16]. Частота трансфузий определяется индивидуально. На фоне введения АТГ может усиливаться геморрагический синдром [17]. Поэтому трансфузионное обеспечение курса терапии АТГ (5 дней) и раннего послекурсового периода (2–3 нед) требует наиболее интенсивной трансфузионной поддержки: эритроцитарная взвесь и КТ применяют с такой частотой и в таком объеме, которые необходимы для поддержания концентрации гемоглобина выше 80 г/л, тромбоцитов выше $40 \times 10^9/\text{л}$. Главной целью эффективного лечения является профилактика геморрагических осложнений [5, 6, 15–17].

Эффективность трансфузий КТ оценивают по уменьшению или исчезновению геморрагического синдрома, а также по увеличению абсолютного прироста тромбоцитов (АПТ) и скорректированного прироста тромбоцитов (СПТ) через 1 и 24 ч после трансфузии КТ [18–20].

Для своевременного выявления рефрактерности к трансфузиям КТ используют расчетные показатели прироста тромбоцитов. В настоящее время общепринятым является показатель посттрансфузионного прироста тромбоцитов – СПТ [4, 18–20]. Расчет СПТ проводят по формуле:

$$\text{СПТ} = \text{площадь поверхности тела (ППТ)} (\text{м}^2) \times \text{АПТ/количество перелитых тромбоцитов} \times 10^{11}.$$

Эффективность трансфузионной терапии у гематологических больных зависит от совокупности факторов иммунной и неиммунной природы, характера течения заболевания (лихорадка, очаги инфекции, спленомегалия, наличие тяжелых осложнений, прогрессия заболевания), наличия предшествующих гемотрансфузий, беременностей [21, 22].

К критериям эффективности относят:

- клинические – прекращение спонтанной кровоточивости и отсутствие свежих геморагий на коже и на видимых слизистых оболочках;
- лабораторные – АПТ через 24 ч более $10 \times 10^9/\text{л}$ и СПТ через 1 ч после трансфузии более $7,5 \times 10^9/\text{л}$ и через 18–24 ч более $4,5 \times 10^9/\text{л}$ [18].

Отсутствие у больного лечебного эффекта от трансфузий КТ, снижение или отсутствие посттрансфузионного прироста количества тромбоцитов характеризуют рефрактерность к трансфузиям КТ. Согласно общепризнанному определению, под рефрактерностью понимаем неэффективность двух последовательных трансфузий тромбоцитов, соответствующих стандартам заготовки, совместимых по системе АВ0 со сроком хранения не более 5 сут от момента заготовки, при СПТ через 24 ч менее $4,5 \times 10^9/\text{л}$ [18, 20].

Рефрактерность к трансфузиям КТ может быть обусловлена как иммунными, так и неиммунными факторами [23]. Неиммунные факторы – это лихорадка, сепсис, инфекции, спленомегалия, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром). Иммунные факторы – это выработка антитромбоцитарных и антилейкоцитарных циркулирующих аллоантител (анти-НРА/HLA) к мембранным антигенам тромбоцитов; тромбоцитассоциированных иммуноглобулинов (platelet-associated immunoglobulins – PAIg) аутоиммунной природы, а также гаптенных вирус-ассоциированных и антител к лекарственным антигенам (гепарин, гентамицин, ванкомицин, амфотерицин, ципрофлоксацин, салицилаты, сульфаниламиды) [24–26]. Активную роль в элиминации тромбоцитов могут играть и специфические цитотоксические Т-лимфоциты [27].

По специфичности аллогенные антитела к тромбоцитам могут быть направлены к антигенам трех групп: эритроцитарным (AB0, Lewis), лейкоцитарным (HLA класса I) и тромбоцитарным (НРА). Появление у больного циркулирующих антитромбоцитарных антител может быть причиной развития иммунологических реакций негемолитического типа и привести к полному отсутствию клинического эффекта от трансфузии КТ [28]. Иммунный ответ на трансфузии КТ может проявляться аллоиммунной и аутоиммунной реакцией (в том числе гаптенной).

Независимо от того, какой специфичности индуцированные антитромбоцитарные антитела, они приводят либо к непосредственной гибели тромбоцитов путем их лизиса, либо опосредованно через взаимодействие с иммуноглобулинами и последующим фагоцитозом этих комплексов клетками ретикулоэндотелиальной системы в селезенке и печени [23]. Рефрактерность может возникать за счет вторичного иммунного ответа у больных, первично иммунизированных во время беременности или предшествующих трансфузий [29–31].

Генерация аллоиммунного ответа происходит при взаимодействии донорского антигена с антигенпрезентирующими клетками (АПК) реципиента с последующей его презентацией вместе с собственной молекулой HLA класса II своим CD4^+ Т-лимфоцитам (механизм двойного распознавания). Активированные CD4^+ Т-лимфоциты начинают секретировать цитокины: интерлейкин 2 (IL-2), $\text{INF}\gamma$ и др., под действием которых В-лимфоциты превращаются в плазматические клетки, вырабатывающие специфические антитромбоцитарные антитела [23, 27].

J. Manis и L. Silberstein [27] отметили, что специализированные АПК, такие как дендритные клетки, макрофаги, которые могут присутствовать в КТ, играют важную роль в развитии HLA-аллоиммунизации реципиентов по механизму прямого распознавания. Донорские АПК напрямую взаимодействуют с Т-лимфоцитами реципиента и инициируют сложный процесс лимфоцитарной активации и продукции аллоантител.

Иммунизация больного НРА-антигенами при трансфузиях донорских тромбоцитов может предшествовать тотальной HLA-аллоиммунизации [10, 32, 33].

Кроме того, на поверхности тромбоцитов могут адсорбироваться гаптены (лекарства, вирусы), а также растворимые формы аллоантигенов доноров [4, 30].

Множественные трансфузии КТ могут приводить к срыву иммунологической толерантности, что сопровождается выработкой PAIg, фиксированных на тромбоцитах (IgG, IgM, IgA) и приводит к не купируемому тяжелым геморрагическим осложнениям [34, 35].

Образовавшиеся PAIg индуцируют антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность, а также усиливают фагоцитоз тромбоцитов за счет взаимодействия с Fc-рецепторами фагоцитирующих клеток ретикулоэндотелиальной системы – макрофагами, моноцитами в большей степени в селезенке, а также в печени и КМ [23, 27].

Описаны функционально активные аутоантитела, которые могут ингибировать или активировать тромбоциты [3, 4]. Ингибирующие аутоантитела обычно направлены против рецепторов тромбоцитов (IIb/IIIa и Ib/IX) и обладают способностью блокировать их рецепторную активность. Ингибирующие аутоантитела увеличивают риск развития геморрагического синдрома [3, 4]. По данным многих авторов [25, 26, 34, 35], большинство антител связывается с рецепторными комплексами гликопротеидов GPIIb/IIIa и Ib/IX. Большая часть PAIg принадлежит к классу IgG, меньшая часть – к IgA. Кроме того, отмечается высокая частота выявления IgM-антител у гематологических больных, что свидетельствует о возможной неспецифической активности антител при множественных трансфузиях.

При рефрактерности к трансфузиям КТ необходимо осуществлять индивидуальный подбор пары «донор – реципиент» с учетом отсутствия у реципиента антител к тромбоцитам конкретного донора [36, 37].

В настоящее время существует ряд современных методов выявления антитромбоцитарных антител: радиоиммунный анализ, иммуноферментный анализ, методы МАРА [38]. Но все они являются трудоемкими и дорогостоящими. Более того, в связи с высоким полиморфизмом HLA и НРА-аллоантигенов тромбоцитов, фенотипирование и генотипирование доноров и реципиентов с целью подбора совместимых пар нецелесообразно.

Альтернативным подходом является кросс-матч-тестирование пары «донор – реципиент» методом адгезии тромбоцитов на твердой фазе. Преимуществами этого метода являются возможность одновременно осуществлять скрининг антитромбоцитарных антител (анти-HLA и анти-НРА) и проводить индивидуальный подбор пары «донор – реципиент» с помощью данного метода совмещения тромбоцитов [39–41].

Одним из современных методов для идентификации антител к тромбоцитам является метод проточной цитофлюориметрии [42]. Метод стал применяться для дифференциальной диагностики тромбоцитопений в последние десятилетия. Он является наиболее чувствительным для выявления PAIg при любых тромбоцитопениях (первичных и вторичных); при этом чувствительность метода с объективизацией учета результатов составляют более 90–95%. Метод позволяет выявлять PAIg разных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG и IgA). Преимуществами являются высокая скорость, позволяющая анализировать большие клеточные объемы, и возможность выполнения сложных одновременных измерений нескольких параметров каждой клетки в одной суспензии [42–44].

Таким образом, развитие аллоиммунизации и в последующем рефрактерности к трансфузиям донорских КТ значительно осложняет проведение адекватной современной терапии у гематологических больных. Поэтому особое внимание должно быть направлено на первичную профилактику аллоиммунизации у трансфузионнозависимых больных [20, 45].

Для снижения содержания лейкоцитов, которые могут вызывать HLA-иммунизацию и привести к нежелательным реакциям, а также с целью профилактики реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), ассоциированной с трансфузиями у иммунодефицитных реципиентов, необходимо применять совместимые по системе АВ0, лейкоредуцированные и облученные в дозе 25 Гр КТ [8, 45, 46]. Лейкоредукция – процесс удаления лейкоцитов и АПК с помощью лейкоцитарных фильтров, встроенных в современные аппараты для тромбоцитафереза. Трансфузии лейкоредуцированных и облученных КТ значительно снижают образование аллогенных антител у больного, но полностью не исключает этого, что впоследствии может приводить к посттрансфузионным реакциям [8, 46].

Сенсибилизация донорскими белками плазмы может также являться риском развития посттрансфузионных реакций. В связи с этим в некоторых случаях используют КТ во взвешивающем (добавочном) растворе [47].

Рекомендуется использовать КТ со сроком хранения не более 3 дней, так как выброс тромбоцитами провоспалительных цитокинов и других биологически активных веществ увеличивается после 3 дней хранения [48].

Аллоиммунизированным больным трансфузии КТ как первый этап терапии рекомендуется проводить от HLA-совместимого донора, но этот подход дорогостоящий, а адекватный клинический эффект не всегда удается получить. Поэтому

подбор совместимых пар «донор – реципиент» целесообразно осуществлять с помощью иммунологических тестов перекрестного совмещения, что позволяет одновременно определять наличие циркулирующих антитромбоцитарных антител в сыворотке больного и проводить подбор КТ для пары «донор – реципиент» в конкретный момент времени [36–41].

При неэффективности подбора, высокой частоте реагирования за счет тотальной HLA-аллоиммунизации и HPA-сенситизации, а также при наличии посттрансфузионных реакций (фебрильная негемолитическая лихорадка, сывороточная болезнь) нередко прибегают к использованию плазмафереза с дальнейшими трансфузиями КТ с индивидуальным подбором [49, 50].

Целью плазмафереза является устранение или снижение титров циркулирующих антитромбоцитарных и антилейкоцитарных антител для преодоления иммунологической рефрактерности к трансфузиям КТ, а также для проведения адекватной заместительной гемостатической терапии во время курсов иммуносупрессивной и полихимиотерапии. [49, 50]. Процедуры проводят с частотой 2–3 раза в неделю, с изъятием половины объема циркулирующей плазмы больного за одну процедуру, курс состоит в среднем из 5–10 процедур. Замещение проводят свежемороженой плазмой из расчета 20–25 мл/кг. При низком содержании альбумина дополнительно проводят замещение 5–10%-ным раствором альбумина (40% от объема удаленного белка). При возникновении реакций замещение можно проводить физиологическим раствором и альбумином под контролем концентрации общего белка в сыворотке крови [51, 52].

Критериями эффективности являются увеличение АПТ и СПТ после трансфузии КТ через 24 ч, снижение частоты реакций, снижение концентрации циркулирующих антитромбоцитарных антител и увеличение вероятности подбора пары «донор – реципиент». Процедуры плазмафереза сочетают с трансфузией АВ0-совместимыми, индивидуально подобранными в иммунологических тестах тромбоцитами [49–53].

При невозможности предупредить посттрансфузионные реакции, рекомендуется переливать КТ во взвешивающем (добавочном) растворе [47, 54]. Применение добавочных растворов снижает риск развития негемолитических посттрансфузионных реакций. Кроме того, использование добавочных растворов при заготовке КТ способствует сохранению функциональной активности тромбоцитов при сроках хранения до 7 дней [47, 54]. При неэффективности плазмафереза, а также при наличии PAIg в высоких значениях, терапией 3-й линии может являться внутривенное введение иммуноглобулина (ВВИГ). По мнению ряда авторов [31, 55], внутривенный иммуноглобулин может обеспечить увеличение прироста вскоре после переливания и подавлять активность PAIg, однако стойкость данной реакции является ограниченной. Через 24 ч количество тромбоцитов обычно возвращается на начальный уровень. Поэтому для эффективности следует проводить терапию иммуноглобулином в дозе 1 г/кг 1–2 инфузии на протяжении 2 дней. Учитывая возможность плохой переносимости инфузии ВВИГ за 1–2 дня, можно использовать также и традиционный режим – 0,4 г/кг в сутки в течение 5 дней [31].

Имеются данные литературы [4] о полезности введения тромбоцитов методом «медленной инфузии» малыми дозами в течение 4–12 ч. Также возможно проведение плазмообменов с удалением всего объема циркулирующей плазмы больного.

В работе W. Liu и соавт. [56] описана эффективность лечения рефрактерности к трансфузиям КТ ритуксимабом у больных с депрессиями кроветворения. Это препарат моноклонального химерного антитела к CD20-антигену, который экспрессируется на всех В-лимфоцитах. Ритуксимаб неселективно элиминирует весь пул В-клеток, в том числе и клоны В-лимфоцитов, продуцирующие антитромбоцитарные антитела. Возможно, лечебный эффект ритуксимаба реализуется не только через уничтожение клонов В-лимфоцитов, но и через иммуномодуляцию, в результате которой происходит стойкая элиминация антигенспецифических Т-хелперов, а также восстановление числа регуляторных Т-лимфоцитов.

При определении тактики ведения больных с рефрактерностью к трансфузиям КТ рекомендуется исключить рефрактерность, связанную с неиммунными факторами, такими как синдром повышенного потребления (лихорадка, сепсис, кровотечение, РТПХ, ДВС-синдром и др.). Также необходимо учитывать дополнительные факторы такие, как вирусные инфекции, прием

некоторых лекарственных препаратов, терапия гепарином, терапия основного заболевания (АТГ, химиотерапия) [18–22].

Таким образом, трансфузии КТ являются неотъемлемой частью сопроводительной терапии гематологических больных. Несмотря на описанные выше различные меры по преодолению рефрактерности к трансфузиям КТ, предсказать формирование такого клинко-гематологического феномена не всегда удается. Актуальной задачей является дальнейшее распознавание отдельных механизмов, снижающих эффективность трансфузий КТ, разработка новых подходов для преодоления рефрактерности, а также изучение информативности различных диагностических тестов для обнаружения антитромбоцитарных антител и цитотоксических Т-лимфоцитов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Зотиков Е.А., Бабаева А.Г., Головкина Л.Л. *Тромбоциты и антитромбоцитарные антитела*. М.: Монолит; 2003.
- Мазуров А.В. *Физиология и патология тромбоцитов*. М.: Литтерра; 2011.
- Жибурт Е.Б., Мадзаев С.Р. *Заготовка и переливание тромбоцитов. Руководство для врачей*. М.: Российская академия естественных наук; 2013.
- Савченко В.Г. *Программное лечение заболеваний системы крови. Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови*. М.: Практика; 2012.
- Войцеховский В.В., Ландышев Ю.С., Целуйко С.С., Заболотских Т.В. *Геморрагический синдром в клинической практике*. Благовещенск: Амурская государственная медицинская академия; 2014.
- Васильев С.А., Виноградов В.Л., Мазуров А.В. Тромбоцитопении. *Акушерство. Гинекология. Репродукция*. 2014; 8(2): 112–5.
- Головкина Л.Л. Антигены тромбоцитов и их значение в медицине. *Гематология и трансфузиология*. 2010; 55(4): 24–31.
- Головкина Л.Л., Зотиков Е.А. Аллоиммунизация к антигенам систем HPA и HLA у гематологических больных с множественными трансфузиями компонентов крови. *Новое в трансфузиологии*. 2003; 34: 12–22.
- Зарубин М.В., Губанова М.Н., Гапонова Т.В., Парамонов И.В., Мадзаев С.Р., Хальзов К.В. и др. Обеспечение эффективности и безопасности переливания тромбоцитов. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова*. 2016; 11(3): 118–25.
- Балашов Д.Н., Трахтман П.Е. Особенности проведения трансфузионной терапии у пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Обзор литературы. Онкогематология*. 2013; 7(3): 42–6.
- Михайлова Е.А., Устинова Е.Н., Клясова Г.А. Программное лечение больных апластической анемией. В кн.: Савченко В.Г., ред. *Программное лечение лейкозов*. М.: ГИЦ РАМН; 2008: 328–42.
- Михайлова Е.А., Савченко В.Г. Протокол программного лечения больных апластической анемией: комбинированная иммуносупрессивная терапия. М.: Практика; 2012.
- Головкина Л.Л. Генетическая рестрикция гуморального иммунного ответа. *Онкогематология*. 2014; 8(2): 58–62.
- Глазнова Т.В., Грицаев С.В., Шилова Е.Р., Павлова И.Е., Чубукина Ж.В., Розанова О.Е. и др. Выработка аллогенных антител к антигенам лейкоцитов и тромбоцитов (анти-HLA и анти-HPA) у больных с заболеваниями системы крови на фоне трансфузий компонентов крови. *Гематология и трансфузиология*. 2015; 60(4): 26–9.
- Минеева Н.В., Гавровская С.В., Кробицец И.И., Пашкова И.А., Бодрова Н.Н., Сысоева Е.А. Частота выявления антиэритроцитарных, антилейкоцитарных антитромбоцитарных аллоантител у больных гематологическими заболеваниями. *Онкогематология*. 2013; 7(4): 13–7.
- Минеева Н.В., Кробицец И.И., Блинов М.Н., Капустин С.И. Антигены и антитела к тромбоцитам (обзор литературы). *Онкогематология*. 2013; 3: 60–8.
- Бутина Е.В., Зайцева Г.А., Карлов Д.А., Целоусова О.М. HLA-сенситизация: риск развития посттрансфузионных осложнений методов профилактики. *Трансфузиология*. 2005; 4(6): 52–6.
- Глазнова Т.В., Розанова О.Е., Павлова И.Е., Чубукина Ж.В., Шилова Е.Р., Бубнова Л.Н. Влияние гемокомпонентной терапии на показатели иммунитета и образование аллоантител у больных апластической анемии. *Вестник гематологии*. 2015; 11(3): 4–8.
- Пашкова И.А., Гилевич И.В., Минеева Н.В. Алгоритм патогенетической диагностики тромбоцитопении. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2014; 145(3): 93–9.
- Масчан А.А., Румянцев А.Г., Ковалева Л.Г., Афанасьев Б.В., Поспелова Т.И., Зарицкий А.Ю. и др. Рекомендации Российского совета экспертов по диагностике и лечению больных первичной иммунной тромбоцитопенией. *Онкогематология*. 2010; 3: 36–45.
- Красникова Н.А., Порешина Л.П., Головкина Л.Л., Зотиков Е.А. Выявление антитромбоцитарных антител у больных с тромбоцитопенией. *Новое в трансфузиологии*. 1999; 24: 44–9.
- Карпова О.В., Ройтман Е.В., Игнатова А.А. Оценка качества тромбоцитного концентрата, заготовленного методом афереза с использованием добавочного раствора SSP+. *Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2014; 13(2): 20–4.
- Головкина Л.Л., Кутына Р.М., Зотиков Е.А., Калинин Н.Н., Штырева Е.М., Михайлова Е.А. Влияние плазмафереза, проводимого в сочетании с трансфузиями тромбоцитов, на активность антитромбоцитарных антител. *Новое в трансфузиологии*. 2001; 29: 57–65.
- Головкина Л.Л., Кутына Р.М., Зотиков Е.А., Калинин Н.Н., Штырева Е.М., Михайлова Е.А. Влияние плазмафереза, на активность антитромбоцитарных антител. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2002; 4: 54–5.
- Калинин Н.Н. *Клиническое применение экстракорпоральных методов лечения*. М.: Трекнор Технолоджи; 2006.

53. Михайлова Е.А., Ядрихинская В.В., Вернюк М.А., Устинова Е.А., Исаев В.Г., Штырева Е.М., Головкина Л.Л., Стремоухова А.Г., Калинин Н.Н., Савченко В.Г. Плазм- и лимфоцитаферез в комплексной терапии апластической анемии. *Труды VIII конференции московского общества гематологов*. Москва. 2000.

Остальные источники пп. 1, 6, 11, 12, 17–20, 22, 23, 27, 33–46, 48, 51 см. в References.

REFERENCES

- Holbro A., Infanti L., Sigle J., Buser A. Platelet transfusion: basic aspects. *Swiss Med. Wkly.* 2013; 143: w13885. <https://doi.org/10.4414/smww.2013.13885>.
- Zotikov E.A., Babaeva A.G., Golovkina L.L. *Platelets and antiplatelet antibodies*. Moscow: Monolith; 2003. (in Russian)
- Mazurov A.V. *Physiology and pathology of platelets*. M: Littera; 2011. (in Russian)
- Zhiburt E.B., Madzaev S.R. *Procurement and transfusion of platelets. Manual for doctors*. Moscow: Russian Academy of Natural Sciences; 2013. (in Russian)
- Savchenko V.G. *Program treatment of diseases of the blood system. Algorithms for diagnosis and protocols for the treatment of diseases of the blood system*. Moscow: Practice; 2012. (in Russian)
- Killick S.B., Bown N., Cavenagh J., Dokal I., Foukaneli T., Hill A., et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. *Br. J. Haematol.* 2016; 172(2): 187–207.
- Voytsekhovskiy V.V., Landishev Yu.S., Tseluyko S.S., Zabolotskikh T.V. *Hemorrhagic syndrome in clinical practice*. Blagoveshchensk: Amur Academy of Sciences; 2014. (in Russian)
- Vasiliev S.A., Vinogradov V.L., Mazurov A.V. Thrombocytopenia. *Obstetrics. Gynecology. Reproduction. Russian journal (Acusherstvo. Ginecologiya. Reprodukciya)*. 2014; 8(2): 112–5. (in Russian)
- Golovkina L.L. Platelet antigens and their importance in medicine. *Russian journal of Hematology and transfusiology (Gematologia i Transfuziologiya)*. 2010; 55(4): 24–31. (in Russian)
- Golovkina L.L., Zotikov E.A. Alloimmunization to antigens system HPA and HLA in hematological patients with multiple transfusions of blood components. *New in Transfusiology. Russian journal (Novoe v Transfuziologii)*. 2003; 34: 12–22. (in Russian)
- Zeller M. Clinical Guide to Transfusion. *Canadian blood services*; 2011. <https://professionaleducation.blood.ca/en/platelet-transfusion-alloimmunization-and-management-platelet-refractoriness> (Aug 1, 2016).
- Kaufman R.M., Djulbegovic B., Gernsheimer T., Kleinman S., Timmouth A., Capocelli K., et al. Platelet transfusion: A clinical practice guideline from the AABB. *Ann. Intern. Med.* 2015; 162(3): 1–18. doi:10.7326/M14-1589.
- Zarubin M.V., Gubanov M.N., Gaponova T.V., Paramonov I.V., Madzaev S.R., Halzov K.V., et al. Providing efficacy and safety of platelet transfusions. *Russian Journal of the National Medical-Surgical Center n.a. N.I. Pirogov (Vestnik Natsionalnogo mediko-khirurgicheskogo tsentra im. N.I. Pirogova)*. 2016; 11(3): 118–25. (in Russian)
- Balashov D.N., Trakhtman P.E. Features of transfusion therapy in patients after hematopoietic stem cell transplantation. Literature review. *Oncohematology. Russian journal (Oncogematologiya)*. 2013; 7(3): 42–6. (in Russian)
- Savchenko V.G., ed. *Programmed treatment of patients with aplastic anemia*. Programmed treatment of leukemia. Moscow: Hematology Research Center of Russian Academy of Medical Sciences; 2008: 328–42. (in Russian)
- Mikhaylova E.A., Savchenko V.G. *Protocol for the treatment of patients with aplastic anemia: combined immunosuppressive therapy*. Moscow: Practice; 2012. (in Russian)
- Bevans M.F., Shalabi R.A. Management of patients receiving antithymocyte globulin for aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Clin. J. Oncol. Nurs.* 2004; 8(4): 377–82. doi:10.1188/04.CJON.
- Forest S.K., Hod E.A. Management of the platelet refractory patient; *Hematology/Oncology Clinics of North America*. W.B. Saunders. 2016; 30: 665–77. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2016.01.008>
- Schiffert C.A., O'Connell B., Lee E.J. Platelet transfusion therapy for alloimmunized patients: selective mismatching for HLA B12, an antigen with variable expression on platelets. *Blood*. 1989; 74(3): 1172–6.
- Hod E., Schwartz J. Platelet transfusion refractoriness. *Br. J. Haematol.* 2008; 142(3): 348–60. doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07189.x16.
- Golovkina L.L. Genetic restriction of the humoral immune answer. *Oncohematology. Russian journal (Oncogematologiya)*. 2014; 8(2): 58–62. (in Russian)
- Pavenski K., Freedman J., Semple J.W. HLA alloimmunization against platelet transfusions: pathophysiology, significance, prevention and management. *Tissue Antigens*. 2012; 79(4): 237–45. doi:10.1111/j.1399-0039.2012.01852.x.
- Wallington T. Essential immunology for transfusion medicine. In: Murphy M., Pamphilon D. *Practical Transfusion Medicine*. London, Blackwell Publishing Ltd.; 2009: 7–18.
- Glazanova T.V., Gritsaev S.V., Shilova E.R., Pavlova I.E., Chubukina Zh.V., Rozanova O.E., et al. Development of allogenic antibodies to leukocyte and platelet antigens (anti-HLA and anti-HPA) in patients with blood system diseases in the background transfusion of blood components. *Russian journal of Hematology and Transfusiology (Gematologia i Transfuziologiya)*. 2015; 60(4): 26–9. (in Russian)
- Mineeva N.V., Gavrovskaya S.V., Krobinets I.I., Pashkova I.A., Bodrova N.N., Sisoeva E.A. The frequency of detection of anti-erythrocyte, antiplatelet, antiplatelet alloantibodies in patients with hematological diseases. *Oncohematology. Russian journal (Oncogematologiya)*. 2013; 7(4): 13–7. (in Russian)
- Mineeva N.V., Krobinets I.I., Blinov M.N., Kapustin S.I. Antigens and antibodies to platelets (review of the literature). *Oncohematology. Russian journal (Oncogematologiya)*. 2013; 7(3): 60–8. (in Russian)
- Manis J.P., Silberstein L.E. Platelet refractoriness: It's not the B- and end-all. *Blood*. 2016; 127(14): 1740–1. doi:10.1182/blood-2016-02-695437.
- Butina E.V., Zaitseva G.A., Karpov D.A., Tselousova O.M. HLA-sensitization: the risk of posttransfusion complications prevention methods. *Transfusiology. Russian journal (Transfuziologiya)*. 2005; 4(6): 52–6. (in Russian)
- Glazanova T.V., Rozanova O.E., Pavlova I.E., Chubukina Zh.V., Shilova E.R., Bubnova L.N. Effect of hemocomponent therapy on immunity parameters and the formation of alloantibodies in patients with aplastic anemia. *Bulletin of Hematology. Russian journal (Vestnik Gematologii)*. 2015; 11(3): 4–8. (in Russian)
- Pashkova I.A., Gilevich I.V., Mineeva N.V. Algorithm of pathogenetic diagnostics of thrombocytopenia. *Kuban Scientific Medical Bulletin. Russian Journal (Kubanskiy Nauchnyy Medicinskiy Vestnik)*. 2014; 145(3): 93–9. (in Russian)
- Maschan A.A., Romyantsev A.G., Kovaleva L.G., Afanasiev B.V., Pospelova T.I., Zaritskiy A.Yu., et al. Guidelines of Russian expert council on diagnostic and therapy of patients with primary immune thrombocytopenia. *Oncohematology. Russian journal (Oncogematologiya)*. 2010; 4(3): 36–45. (in Russian)
- Krasnikova N.A., Poreshina L.P., Golovkina L.L., Zotikov E.A. Identification of antiplatelet antibodies in patients with thrombocytopenia. *New in transfusiology. Russian journal (Novoe v transfuziologii)*. 1999; 24: 44–9. (in Russian)
- Brouk H., Bertrand G., Zitouni S., Djenoun A., Martageix C., Griffi F., Ouelaa H. HPA antibodies in Algerian multitransfused patients: Prevalence and involvement in platelet refractoriness. *Transfus. Apher. Sci.* 2015; 52(3): 295–9. doi:10.1016/j.transci.2014.12.028.
- Romero-Guzman L.T., Lopez-Karpovitch X., Paredes R., Barrales-Benitez O., Piedras J. Detection of platelet-associated immunoglobulins by flow cytometry for the diagnosis of immune thrombocytopenia: a prospective study and critical review. *Haematologica*. 2000; 85(6): 627–31.
- He Y., Zhao Y.X., Zhu M.Q., Wu Q., Ruan C.G. Detection of autoantibodies against platelet glycoproteins in patients with immune thrombocytopenic purpura by flow cytometric immunobead array. *Clin. Chim. Acta*. 2013; 415: 176–80. doi:10.1016/j.cca.2012.10.035.
- Jia Y., Li W., Liu N., Zhang K., Gong Z., Li D., et al. Prevalence of platelet-specific antibodies and efficacy of crossmatch-compatible platelet transfusions in refractory patients. *Transf. Med.* 2014; 24(6): 406–10. doi:10.1111/tme.12157.
- Pavenski K., Rebulla P., Duquesnoy R., Saw C. L., Slichter S. J., Taneel S. Efficacy of HLA-matched platelet transfusions for patients with hypoproliferative thrombocytopenia: a systematic review. *Transfusion*. 2013; 53(10): 2230–42. doi:10.1111/trf.12175.
- Sarkar R.S., Philip J., Jain N. Detection and identification of platelet-associated alloantibodies by a solid-phase Modified Antigen Capture Elisa (MACE) technique and its correlation to platelet refractoriness in multi platelet concentrate transfused patients. *Indian J. Hematol. Blood Transfus.* 2015; 31(1): 77–84. doi:10.1007/s12288-014-0374-4.
- Rachel J.M., Sinor L.T., Tawfic O.W., Summers T.C., Beck M.L., Bayer W.L., Plapp F.V. A solid phase red cell adherence test for platelet cross-matching. *Med. Lab. Sci.* 1985; 42(2): 194–5.
- Heal J.M., Blumberg N., Masel D. An evaluation of crossmatching, HLA, and ABO matching for platelet transfusions to refractory patients. *Blood*. 1987; 70(1): 23–30.
- Kopko P.M., Warner P., Kresie L., Pancoska C. Methods for the selection of platelet products for alloimmune-refractory patients. *Transfusion*. 2015; 55(2): 235–44.
- Sayyadi M., Shaiegan M., Zarif M., Vaezi M., Mohammadi S. Platelet transfusion outcome and flow cytometric monocyte phagocytic assay (FMFA). *Arch. Iranian Med.* 2016; 19(6): 426–9.
- Kiefel V., Freitag E., Kroll H., Santoso S., Mueller-Eckhardt C. Platelet autoantibodies (IgG, IgM, IgA) against glycoproteins IIb/IIIa and Ib/IX in patients with thrombocytopenia. *Ann. Hematol.* 1996; 72(4): 280–5.
- He Y., Zhao Y.X., Zhu M.Q., Wu Q., Ruan C.G. Detection of autoantibodies against platelet glycoproteins in patients with immune thrombocytopenic purpura by flow cytometric immunobead array. *Clin. Chim. Acta*. 2013; 415: 176–80. doi:10.1016/j.cca.2012.10.035.
- Fletcher C.H., Dom Bourian M.G., Millward P.A. Platelet transfusion for patients with cancer. *Cancer Control*. 2015; 22(1): 47–51.
- Jackman R., Deng X., Bolgiano D., Utter G., Schechterly C., Lebedeva M., et al. Leukoreduction and ultraviolet treatment reduce both the magnitude and the duration of the HLA antibody response. *Transfusion*. 2014; 54(3): 672–80.
- Karpova O.V., Roitman E.V., Ignatova A.A. Evaluation of the quality of platelet concentrate harvested by the apheresis method with the use of a prebath SSP+ solution. *Pediatric Hematology, Oncology and Immunopathology. Russian journal (Voprosy gematologii, onkologii i immunologii v pediatrii)*. 2014; 13(2): 20–4. (in Russian)
- Cognasse F., Hamzeh-Cognasse H., Lafarge S., Acquart S., Chavarin P., Courbil R., Garraud O. Donor platelets stored for at least 3 days can elicit activation marker expression by the recipient's blood mononuclear cells: An in vitro study. *Transfusion*. 2009; 49(1): 91–8.
- Golovkina L.L., Kutina R.M., Zotikov E.A., Kalinin N.N., Shityreva E.M., Mikhailova E.A. The effect of plasmapheresis, performed in combination with platelet transfusions, on the activity of antiplatelet antibodies. *New in transfusiology. Russian journal (Novoe v transfuziologii)*. 2001; 29: 57–65. (in Russian)
- Golovkina L.L., Kutina R.M., Zotikov E.A., Kalinin N.N., Shityreva E.M., Mikhailova E.A. Influence of plasmapheresis on the activity of antiplatelet antibodies. *Russian journal of Clinical laboratory diagnostics (Klinicheskaya laboratornaya diagnostika)*. 2002; 4: 54–5. (in Russian)
- Szczepiorkowski Z.M., Winters J.L., Bandarenko N., Kim H.C., Linenberger M.L., Marques M.B., et al.; Apheresis Applications Committee of the American Society for Apheresis. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice—evidence-based approach from the apheresis applications committee of the American society for apheresis. *J. Clin. Apher.* 2010; 25(3): 83–177. doi:10.1002/jca.20240.
- Kalinin N.N. *Clinical application of extracorporeal methods of treatment*. Moscow: Treckpore Technology; 2006. (in Russian)
- Mikhaylova E.A., Yadrinkhinskaya V.V., Vernyuk M.A., Ustinova E.A., Isaev V.G., Shityreva E.M., et al. Plasmapheresis and lymphocytapheresis in the complex therapy of aplastic anemia. Moscow, 2000, VIII conference of the Moscow Society of Haemapheresis. 2000; 39: 40. (in Russian)
- Kiefel V. Reactions Induced by Platelet Transfusions. *Transfusion medicine and hemotherapy: offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhamatologie*. 2008; 35(5): 354–8. doi:10.1159/000151350.
- British Committee for Standards in Haematology General Haematology Task Force. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy. *Br. J. Haematol.* 2003; 120(4): 574–96.
- Liu W., Wu D., Hu T., Ye B. Efficacy of treatment with rituximab in platelet transfusion refractoriness: A study of 7 cases. *Inter. J. Clin. Exp. Med.* 2015; 8(8): 14080–4.

Поступила 17.11.17
Принята к печати 29.12.17

© МАТОСОВА Е.В., АНДРЮКОВ Б.Г., 2017
УДК 616.9-022.7-092:612.112.91

Матосова Е.В., Андрюков Б.Г.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЯХ И ИХ ВКЛАД В ПАТОГЕНЕЗ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова»,
690087, г. Владивосток, Россия

Инфекции – одна из основных причин смертности и заболеваемости в мире. Нейтрофилы являются активным и многочисленным эффекторным звеном врождённой иммунной системы, которое защищает организм от инфицирования патогенными микроорганизмами. Однако вклад нейтрофилов в развитие инфекционного процесса был недооценён, несмотря на то, что функции этого подкласса лейкоцитов давно известны в качестве патогенетического элемента воспаления. В дополнение к фагоцитозу эти клетки могут опосредовать менее изученную в качестве антибактериальной стратегии внеклеточную дегрануляцию, а также, высвобождая внеклеточный хроматин, ядерный белок и сериновые протеазы, образовывать сетчатые волоконные структуры, называемые нейтрофильными внеклеточными ловушками (Neutrophil Extracellular Traps – NETs). NETs могут захватывать патогены, вызывать эндотелиальную дисфункцию и провоспалительные иммунные реакции. Феномен NETs – это сравнительно новая форма программируемой клеточной смерти (нетоз), значение которой в развитии инфекционного процесса и развитии воспаления до конца не изучено. Нетоз имеет высокий потенциал для дальнейшего изучения патогенеза воспаления и поиска эффективных методов лечения инфекций. В этом обзоре основное внимание уделяется современным данным об основных защитных стратегиях нейтрофилов при бактериальных инфекциях и их вкладу в патогенез провоспалительных реакций. Обсуждаются современные подходы к фармакологической модуляции различных вариантов антимикробных механизмов нейтрофилов, что перспективно в случаях комплексного лечения инфекций, ассоциированных с антибиотикорезистентными штаммами бактерий.

Ключевые слова: инфекционные болезни; нейтрофилы; воспаление; антибиотикорезистентность; фагоцитоз; дегрануляция; нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs); обзор.

Для цитирования: Матосова Е.В., Андрюков Б.Г. Морфофункциональная характеристика защитных механизмов нейтрофилов при бактериальных инфекциях и их вклад в патогенез провоспалительных реакций. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(4): 223-229. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-223-229>

Matosova E.V., Andryukov B.G.

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF PROTECTIVE MECHANISMS OF NEUTROPHILS AGAINST BACTERIAL INFECTIONS AND THEIR CONTRIBUTION IN PATHOGENESIS OF PRO-INFLAMMATORY RESPONSES

Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, 690087, Russian Federation

Infection is one of the leading causes of the mortality and morbidity. Neutrophils protect the body against pathogenic microorganisms. However, the contribution of neutrophils in the development of the infectious process was underestimated. In addition to phagocytosis, neutrophils can mediate extracellular degranulation, release of extracellular chromatin, nuclear protein and serine proteases and form neutrophil extracellular traps NETs. NETs can capture pathogens, cause endothelial dysfunction and pro-inflammatory immune responses. The phenomenon of NETs is a relatively new form of programmed cell death (NETosis). NETosis has a high potential for the further study of the pathogenesis of inflammation and the search for effective methods of treating infections. This review focuses on modern data on the basic protective strategies of neutrophils against bacterial infections and their contribution to the pathogenesis of proinflammatory responses. Approaches to pharmacological modulation of different antimicrobial mechanisms of neutrophils are discussed.

Key word: infectious diseases; neutrophils; inflammation; antibiotic resistance; phagocytosis; degranulation; neutrophilic extracellular traps (NETs); review.

For citation: Matosova E.V., Andryukov B.G. Morphofunctional characteristics of protective mechanisms of neutrophils against bacterial infections and their contribution in pathogenesis of pro-inflammatory responses. *Russian journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i Transfusiology)*. 2017; 62(4): 223-229. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-223-229>

Acknowledgments. This work was supported by the Comprehensive Program of Basic Research of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences "Far East", project No. 18-5-099.

Acknowledgments. The authors express their gratitude to Bynina Marina Pavlovna, the junior researcher of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Microbiology of Somov Institute of Epidemiology and Microbiology for her help in the preparation of materials.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 24 Nov 2017

Accepted 29 Dec 2017

Иммунная система человека защищает организм от патогенных бактерий, которые потенциально способны вызвать инфекционные болезни. Сегментоядерные нейтрофилы, являясь доминирующим подклассом лейкоцитов в периферической крови, имеют большое значение в функционировании врожденной иммунной системы человека. Пул этих клеток образуется и созревает в костном мозге. Примерно 100 млрд нейтрофилов ежедневно высвобождаются в периферическую кровь и выходят из нее в ткани, опосредуя иммунные реакции, которые играют решающую роль против микробных инфекций [1, 2]. Наследственные или приобретенные нейтропении, а также нарушения функции нейтрофилов приводят к возникновению рецидивов бактериальных инфекций, угрожающих жизни [3].

Нейтрофилы являются первыми иммунокомпетентными клетками, которые встречают патогены после прохождения ими эпителиальных барьеров. Репликация бактерий в тканях организма приводит к высвобождению ими экзогенных продуктов и сигнальных молекул, которые обнаруживаются нейтрофилами посредством Toll-подобных (Toll-like receptors – TLR), G-белковых и иммунных рецепторов [2, 4]. После получения рецепторного сигнала нейтрофилы реагируют на эти раздражители, мигрируют из кровеносных сосудов к месту заражения и фагоцитируют бактерии.

Этот сложный многоступенчатый процесс включает последовательные этапы: адгезию нейтрофилов к эндотелиальным клеткам, трансэндотелиальную экстравазацию, хемотаксическую миграцию, опсонизацию и последующее уничтожение инокулированных бактерий. После миграции к очагу заражения и фагоцитоза нейтрофилы используют антимикробные стратегии для выполнения защитной функции [1, 4]. При этом используется комбинация из компонентов цитотоксических гранул, биологически активных пептидов, активных форм кислорода (ROS) и формирования внеклеточных ловушек нейтрофилов NETs для создания необходимых условий для эффективного уничтожения и деградации бактерий [5, 6].

В процессе эволюции многие бактерии выработали эффективные механизмы защиты от антимикробных стратегий нейтрофилов, основные из которых можно разделить на пять категорий: уклонение от хемотаксиса, предотвращение опсонизации и фагоцитоза, выживание внутри нейтрофилов, индуцирование гибели клеток и формирование биопленок [7, 8].

Цель работы – анализ современных данных об основных защитных стратегиях нейтрофилов при бактериальных инфекциях и их вкладе в патогенез провоспалительных реакций.

Фагоцитирование нейтрофилами патогенных бактерий

Фагоцитарная теория «целевой силы организма» была впервые предложена в 1883 г. И.И. Мечниковым, за что он в 1908 г. вместе с П. Эрлихом был удостоен Нобелевской премии. На протяжении многих лет нейтрофильный фагоцитоз считался единственным средством борьбы организма с чужеродными объектами, включая инфекции. В дальнейшем было показано, что помимо нейтрофилов способностью к фагоцитозу обладают моноциты (тканевые макрофаги) [9, 10].

Первой реакцией на микробную инвазию организма является покидание нейтрофилами сосудистого русла и их миграция к очагу инфицирования (рис. 1). Этот процесс состоит из трех основных этапов: иницирование адгезии нейтрофилов к активированным эндотелиальным клеткам, проникновение через сосудистую стенку и их миграция к месту заражения [6, 11].

Процесс фагоцитоза протекает в несколько этапов: хемотаксис (направленная миграция нейтрофилов к бактериям),

распознавание рецепторов, активация клеток, поглощение и переваривание бактерий [8, 12, 13].

Хемотаксис зависит от градиентов концентрации хемоаттрактантов (эндогенных и экзогенных), которые определяют направленное движение фагоцитов [10, 2, 13]. В качестве хемоаттрактантов могут выступать молекулы, высвобождаемые при гибели клеток, биоактивные пептиды (лейкотриены – LT_{B4}), хемокины (IL-8, CXCL2, CXCL1) или провоспалительные цитокины (IL-1 β , TNF α), продуцируемые стромальными, эпителиальными и иммунными клетками [13, 14].

Узнавание бактерий нейтрофилами основано на обнаружении поверхностных и внутриклеточных рецепторов. Нейтрофилы распознают чужеродные объекты с помощью рецепторов – pattern recognition receptors (PRR) [11, 15]. В человеческом организме наиболее значимыми нейтрофильными структурами подобного типа являются TLRs: TLR1, TLR2, TLR3, ... TLR10. Эти рецепторы имеют много общего в структуре и механизме действия. Для последующего распознавания TLRs связываются с соответствующими высококонсервативными бактериальными лигандами, каждый из которых является специфическим для больших групп патогенов. Например, липопептиды являются лигандами для TLR1, а пептидогликаны грамположительных и грамотрицательных бактерий являются мишенями для TLR2, эндотоксин грамотрицательных бактерий – для TLR4 [16, 17]. Связывание TLRs со специфическими лигандами приводит к активации нейтрофилов, замедляет их апоптоз и индуцирует секрецию цитокинов.

Опсонизация (греч.: «подготовка к обеду») патогенов является мощным усилителем активности фагоцитоза. Она происходит с участием классических опсонин IgG и C3b и нейтрофильных рецепторов к ним, посредством которых фагоциты способны различать бактерии: Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII, и лектинов C-типа (маннозные рецепторы, лектины, мутантные рецепторы). Иммуноглобулин и комплемент, в состав молекул которого входят Fc-фрагменты, фиксируют бактерии, а нейтрофилы, имеющие на своей поверхности группы рецепторов Fc γ , распознают, захватывают и поглощают патогены. Понятно, что фагоцитоз неэффективен в отсутствие опсонизации патогена [15, 17, 18]. Однако при взаимодействии нейтрофилов с биопленками микробов опсонизация патогена не требуется, так как в матриксе содержатся вещества, которые активируют нейтрофилы [19, 20].

Внутриклеточное «переваривание» инфекционных агентов реализуется в результате активации двух сложных механизмов внутриклеточного уничтожения. Микроорганизмы внутри фаголизосомы уничтожаются под действием бактерицидных компонентов нейтрофильных гранул, таких как дефенсины, кателицины, катепсины, пентаксины и лактоферрин и ряд других протеинов [21, 22]. В последние десятилетия с использованием протеомного анализа исследователям удалось идентифицировать и охарактеризовать около 30 гранулярных белков, обладающих антимикробной активностью. Некоторые из них представлены в **таблице**. Гранулы делятся на четыре типа: первичные (азурофильные), возникающие в процессе дифференцировки на стадии промиелоцита; вторичные (специфические), возникающие при трансформации нейтрофилов в миелоциты; желатиновые или третичные гранулы [19, 23]; секреторные (везикулы), появляющиеся в зрелых сегментированных формах [9, 19]. Все типы гранул различаются по пептидному составу и обеспечивают различные механизмы антимикробной функции нейтрофилов. Первичные (азурофильные) гранулы содержат миелопероксидазу (MPO) и спектр нейтрофильных сериновых протеаз (NSP), таких как катепсин G (CG), нейтрофильная эластаза (NE), протеиназа 3 (PR3) и недавно обнаруженная нейтрофильная серин-протеаза-4 (NSP4) [22, 23].

Вторичные или специфические гранулы содержат, в основном, антибактериальные компоненты, такие как лактоферрин (специфический маркер), лизоцим, ряд белков и ферментов [19, 22, 24]. Основным ферментом третичных гранул является желатиназа (специфический маркер). Она служит резервом матрикс-деградирующих ферментов и мембранных рецепторов, необходимых для экстравазации и диапедеза нейтрофилов. Секреторные гранулы (везикулы) или эндосомы содержат металлопротеиназы и щелочную фосфатазу (специфический маркер), а также ряд белков. Они являются наиболее подвижными гранулами зрелого нейтрофила. После слияния эндосом с нейтрофильной

Для корреспонденции:

Матосова Екатерина Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, 690087, г. Владивосток, Россия. E-mail: e_matosova@mail.ru

For correspondence:

Matosova Ekaterina V., MD, junior researcher of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Microbiology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, 690087, Russian Federation. E-mail: e_matosova@mail.ru

Information about authors:

Matosova E.V., <http://orcid.org/0000-0001-9968-3347>;
Andryukov B.G., <http://orcid.org/0000-0003-4456-808X>.

Пептидный состав нейтрофильных гранул и механизмы антибактериальной защиты

Пептиды	Основной механизм	Альтернативный механизм	Локализация
α -дефенсины	Ингибируют НК, белки, синтез клеточных мембран	Опсонизация бактерий, выработка ROS	Первичные гранулы, NETs
LL-37	Формируют трансмембранных пор	Участвуют в выработке ROS	Вторичные гранулы, NETs
Бактерицидный белок, повышающий проницаемость	Нейтрализация эндотоксинов Грам(-) флоры	Ингибируют цитокины, активируют апоптоз бактерий	Первичные гранулы
Гистоны	Активация мембран	Формирование NETs	Ядро, NETs
Лизоцимы	Деграция бактериальных мембран	Формирование NETs	Лизосомы
Протеиназа-3	Активация протеолиза, деграция факторов вирулентности	Формирование NETs	Первичные гранулы, NETs
Нейтрофильная эластаза	Активация протеолиза, деграция факторов вирулентности	Формирование NETs	Первичные гранулы, NETs
Катепсин G	Активация протеолиза	Формирование NETs	Первичные гранулы, NETs
Сериновая протеаза 4	Трипсин-подобный	Неизвестный	Первичные гранулы
Азуроцидин	Активация мембран	Опсонизация бактерий	Первичные гранулы
Лактоферрин	Связывает железо и ЛПС бактериальных стенок	Входящая в состав белка окисленная форма железа инициирует перекисное окисление липидов	Первичные гранулы
Кальпротектин (S100A, calgranulin)	Связывает марганец и цинк, лишая бактерии нужных микроэлементов	Формирование NETs, является маркером воспаления в пищеварительном тракте	Вторичные гранулы, 60% цитозольных белков
NADPH oxidase	Генерирует ROS в фагосомах	Формирование NETs, инициация перекисного окисления липидов	Вторичные гранулы, плазматическая мембрана
Миелопероксидаза	Образует хлорноватистую кислоту, обладающую мощной антимикробной активностью	Формирование NETs	Первичные гранулы, лизосомы

мембраной образуются рецепторы плазматической мембраны нейтрофила [21, 22, 24].

R. Nordenfelt и соавт. [25] показали, что процесс поглощения опсонизированных частиц при нейтрофильном фагоцитозе происходит менее чем за 20 с. Но при этом клетки микроорганизмов в биопленках менее доступны для фагоцитоза, чем отдельные клетки, получившие название «планктонных». Когда нейтрофилы взаимодействуют *in vitro* с биопленками *S. aureus*, почти полное отторжение 2-дневной биопленки происходит в течение 45-минутного воздействия. Это является следствием разрушения внеклеточного матрикса ферментативными продуктами фагоцитов, а также прямого фагоцитоза биопленки стафилококков нейтрофилами. Исследования показали, что внеклеточный матрикс биопленок (независимо от таксономической принадлежности образующих их микроорганизмов) содержит структуры, ослабляющие фагоцитарные реакции [26].

Таким образом, в антимикробной защите нейтрофилы имеют до 300 различных ферментных и белковых компонентов гранул, которые могут секретироваться во внеклеточное пространство или оставаться связанными с мембраной нейтрофилов. Эти компоненты одинаково токсичны как для микроорганизмов, так и для клеток хозяина, обладают высокой реакционной способностью, широкой субстратной специфичностью и антимикробной активностью.

Дегрануляция нейтрофилов

Важнейшим показателем функциональной активации клеток врожденного иммунитета при инфекционном воспалении является дегрануляция (экзоцитоз) нейтрофилов с регулируемым и последовательным высвобождением арсенала содержимого гранул в цитоплазму и во внеклеточное пространство. Этот процесс сопровождается структурными изменениями актинового цитоскелета клетки и сигналами рецепторного аппарата [9, 14, 27].

Эта антимикробная стратегия нейтрофилов является прогностическим показателем риска генерализации воспалительного процесса [9, 14, 28]. Кроме того дегрануляция выполняет триггерную функцию в развитии дегенеративных сосудистых и тканевых изменений, ассоциированных с инфекционным процессом [9].

Основным механизмом секреторной дегрануляции нейтрофилов является последовательное и строго регулируемое высвобождение содержимого гранул в клеточную цитоплазму и во внеклеточное пространство. При этом высвобождается широкий спектр протеолитических ферментов и антибактериальных пептидов, обладающих цитотоксическим действием. Регуляция процесса осуществляется структурными изменениями актинового цитоскелета после сигнальной стимуляции рецепторным аппаратом клетки [19, 29].

При рассмотрении механизмов фагоцитоза отмечено активное участие содержимого гранул, секрета которого активно происходит в процессе фагосомно-лизосомального слияния. В связи с появлением и развитием новых методов молекулярно-клеточной биологии были получены многочисленные данные об автономности экзоцитоза, которые позволили выделить дегрануляцию в качестве отдельной антибактериальной стратегии.

Обнаружение и количественное определение в плазме крови гранулярных энзимов и антимикробных пептидов используется в клинических и научных исследованиях различных физиологических и патологических процессов. Они рассматриваются в качестве основных гуморальных факторов врожденного иммунитета (лизоцим) и являются маркерами синдрома эндогенной интоксикации (среднемолекулярные пептиды), активности воспалительного процесса (лактоферрин), скрининга специфических антител при аутоиммунных заболеваниях для выявления соответствующих антигенов гранулоцитов и оценки состояния гомеостаза [9, 14, 19]. Клиническое значение определения этих ферментов и пептидов связывается с их участием в координации иммунного ответа и внеклеточном управлении инфекционным воспалением [19].

Кроме того, в качестве маркера активности дегрануляции нейтрофилов используют ряд количественных показателей: повышение экстрацеллюлярной активности эластазы [22, 27], снижение внутриклеточного содержимого первичных гранул, содержащих эластазу и сериновые протеазы [21, 25], увеличение содержания в плазме крови комплекса эластаза- α -1-ингибитор [24, 28].

С феноменом дегрануляции нейтрофилов связывается формирование более напряженного иммунитета [19, 30], а количественные маркеры интенсивности дегрануляции могут рассматриваться в качестве показателей иммуногенной активности

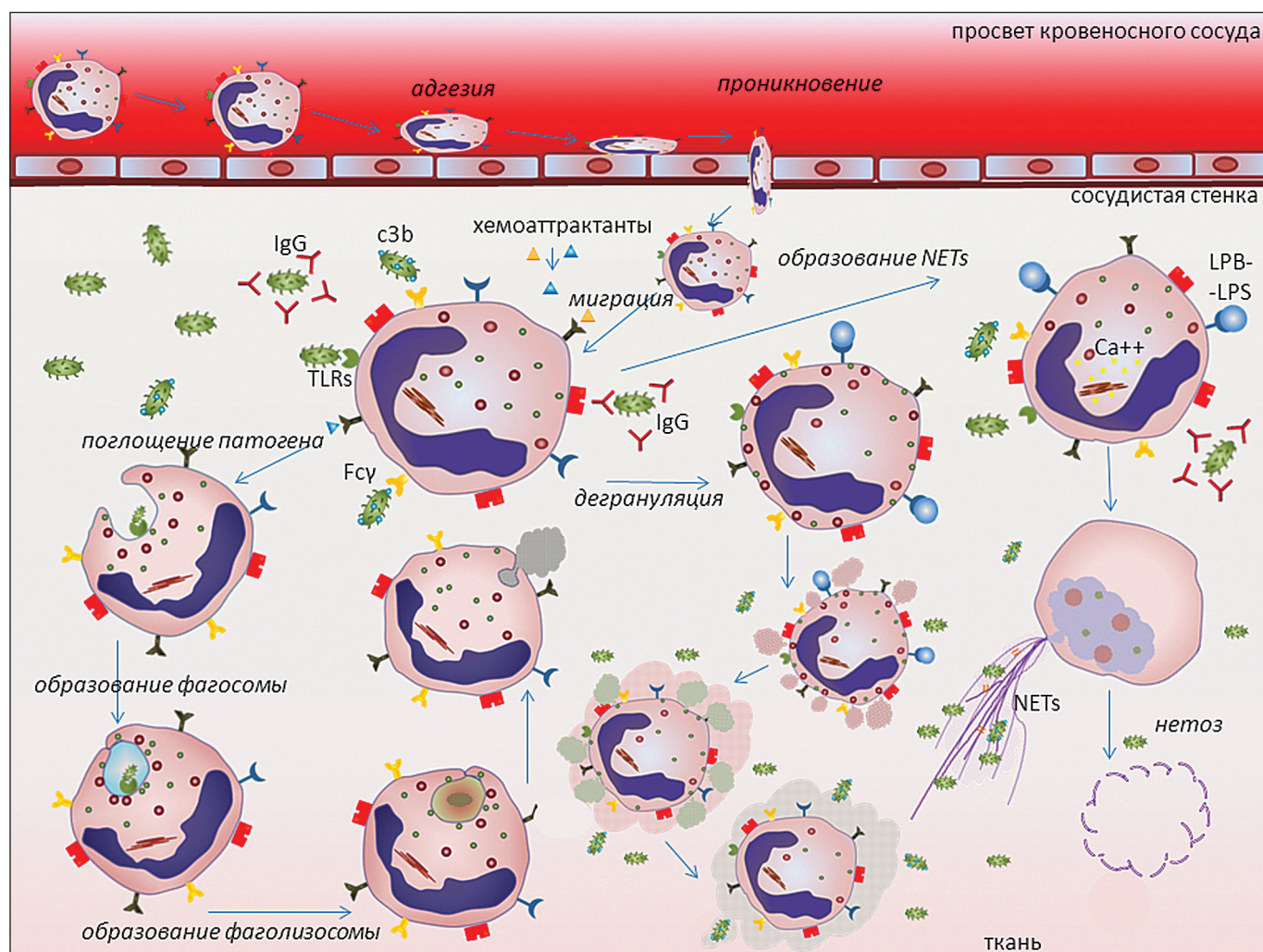


Рис. 1. Антибактериальные стратегии нейтрофилов.

бактериальных вакцин [9, 19]. Дегрануляция нейтрофилов запускается при их активации молекулярными паттернами грамотрицательных бактерий – липополисахаридами (LPS) [19, 27, 29, 30] и сопровождается секрецией провоспалительных цитокинов [9, 19, 30] при киллинге опсонизированных микроорганизмов [19, 22] или взаимодействии с белками внеклеточного матрикса, такими как фибронектин, коллаген и ламинин [27, 30].

I. Naegelen и соавт. [29] изучали динамику секреции активированными нейтрофилами цитокинов и эффект дегрануляции гранулоцитов и обнаружили, что секреция цитотоксических белков, содержащихся в гранулах, и цитокинов активированными нейтрофилами, обнаруженными в очагах инфекции, имеет выраженные кумулятивный и синергический эффекты, влияющие на формирование воспаления в окружающих тканях. Это подтверждает результаты, полученные K. Malcolm и соавт. [31].

Исследования, выполненные в последние годы, показали, что первичная реакция в очаге воспаления является первым шагом афферентного участия нейтрофилов в модуляции иммунных реакций – врожденной иммунной системы и приобретенного адаптивного иммунитета [9, 13, 19]. Характер инфекционного процесса зависит от течения иммунных реакций и эффективности антибактериальных систем клеток врожденного иммунитета, в том числе нейтрофилов, функционирующих не только в качестве фагоцитов. Они, непосредственно взаимодействуя с лимфоцитами [9, 13], естественными клетками-киллерами [10, 19], макрофагами [13, 19] и дендритными клетками [19, 24], играют центральную роль в реализации реакций адаптивного иммунитета. Это взаимодействие опосредуется способностью нейтрофилов секретировать ряд цитокинов, которые непосредственно взаимодействуют с другими иммунокомпетентными клетками [9, 13, 19].

Формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек, убивающих бактерии

Кроме фагоцитоза и внеклеточной дегрануляции нейтрофилы проявляют антибактериальную активность посредством образования внеклеточных сетей-ловушек (neutrophil extracellular traps – NETs), которые были впервые описаны V. Brinkmann и соавт. [32, 33].

При формировании NETs происходит выбрасывание на скопление бактерий сетчатых структур, состоящих из нитей нуклеиновых кислот, связанных с гистонами, а также гранулярными антимикробными пептидами и ферментами (рис. 2). Этот процесс позднее получил название «нетоз» (NETosis) и стал рассматриваться в качестве новой формы программируемой гибели клеток (ПГК) [33].

В молекулярном механизме формирования NETs важную роль играют два компонента. Один из них – производство ROS, которое зависит от активности ключевых ферментов – MPO и NADPH-оксидазы. Второй компонент связан с деконденсацией хроматина. В недавних исследованиях было показано, что ключевым ферментом этого процесса является нейтрофильная эластаза [34–37].

Вместе с тем, при недостаточном контроле цитотоксичность NETs оказывает неблагоприятное действие для организма-хозяина. При ряде воспалительных заболеваний бактериальной этиологии (васкулит, сепсис, системная красная волчанка, нефрит) может происходить чрезмерное образование ловушек, что может привести к эпителиальной дисфункции и тромбозам [38, 39]. Исследования, проведенные B. Amulic и соавт. [40], показали, что активация эндотелиальных клеток и чрезмерное образование NETs лежат в основе патогенеза преэклампсии у беременных.

Механизмы резистентности бактерий к защитным стратегиям нейтрофилов

В процессе эволюции бактерии выработали набор контрмер против антимикробных стратегий нейтрофилов. Они направлены на ингибирование механизмов ключевых этапов фагоцитоза (рис. 3).

Противодействие антибактериальным стратегиям нейтрофилов на первом этапе фагоцитоза (покидание сосудистого русла и миграция к очагу инфицирования) направлено на ингибирование его основных звеньев. Например, суперантиген-подобные белки *S. aureus* SSL5, SSL7 и SSL8 блокируют адгезию нейтрофилов к эндотелиальным клеткам путем связывания с рецептором гликопротеинового лиганда Р-селектина 1 (PSGL-1) [41]. Аналогичный механизм был впоследствии обнаружен и у других бактерий и вирусов [42]. Кроме того, выявлено, что белки SSL5, SSL7 и SSL8 также ингибируют реакции нейтрофилов на некоторые хемокины и компоненты комплемента C3а и C5а.

В конце XX века во многих патогенных штаммах *S. aureus* был обнаружен белок внеклеточного прилипания (extracellular adherence protein – Eap), впоследствии описанный как один из факторов вирулентности стафилококков [43, 44], обеспечивающих бактериальную адгезию и агрегацию. Помимо этого, была выявлена способность Eap ингибировать миграцию нейтрофилов к очагу воспаления путем связывания и ингибирования рецептора ICAM-1, который экспрессируется на поверхности эндотелиальных клеток [45, 46]. Кроме того, бактерии могут выделять различные протеазы, что приводит к деградации хемокинов. Например, хемотаксис-ингибирующий белок (CHIPS), свободно секретируемый *S. aureus*, непосредственно связывает и блокирует рецепторы C5а (C5aR) и формил-пептидов (FPR) и тем самым ингибирует миграцию нейтрофилов [47].

Ряд бактериальных патогенов (*S. aureus*, *C. perfringens*, *Acinetobacter* и *S. pyogenes*) разработали сложные механизмы для подавления процесса формирования нейтрофилами NETs и различные способы противодействия внеклеточным ловушкам. Одним из наиболее распространенных механизмов является экспрессия нуклеаз, которые способны вызывать деградацию NETs [48], а также ингибировать образование NETs путем деградации нейтрофил-стимулирующего хемокина IL-8 с участием пептидазы SpyCER [49, 50].

Несмотря на признание центральной роли фагоцитоза и врожденной иммунной системы в защите от бактериальных инфекций, разработка тактики их лечения остается ориентирован-

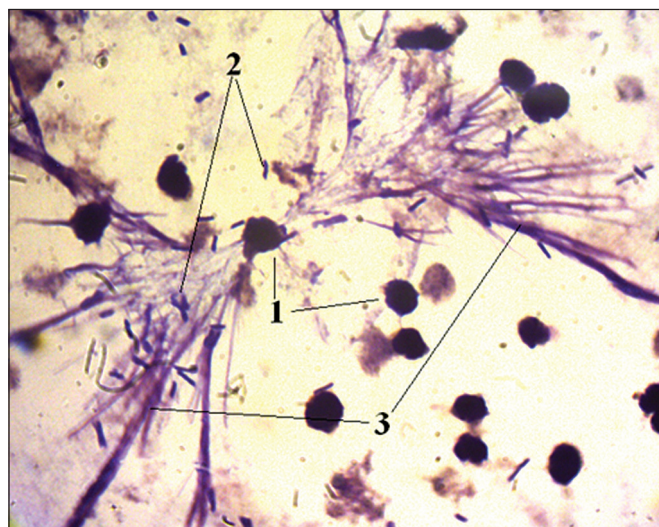


Рис. 2. Нейтрофильная внеклеточная ловушка. Световая микроскопия.

Окрашивание по Романовскому–Гимзе. Ув. 1500.

1 – нейтрофильный гранулоцит; 2 – бактериальные клетки; 3 – волокна деконденсированного хроматина с прикрепленными белками.

ной на антибиотикотерапию. Взаимодействие между нейтрофилами и патогенными бактериями по сей день остается интересной и до конца не изученной составляющей иммунологической защиты организма. Нейтрофилы занимают первую линию обороны от инфекционных агентов, располагая для защиты арсеналом антимикробных стратегий. В свою очередь, патогенные бактерии выработали ряд механизмов, позволяющих им уклоняться от нейтрофильных атак для последующей репликации и колонизации организма-хозяина.

Изучение антимикробных стратегий нейтрофилов имеет высокий потенциал для поиска новых фармакологических средств для модуляции их функциональной активности, направленной против патогенов человека. Среди препаратов направленного терапевтического действия, уже прошедших клинические испытания при лечении различных, в том числе инфекционных



Рис. 3. Бактериальное ингибирование механизмов ключевых этапов фагоцитоза.

заболеваний, следует отметить индуцируемый гипоксией фактор 1 (HIF-1) [51, 52], врожденные защитные регуляторы пептидов (IDR-HH2, IDR-1002 и IDR-1018) [16, 53] и витамин В₃, которые усиливают антимикробную активность нейтрофилов за счет улучшения их адгезии к эндотелиальным клеткам, стимулирования миграции фагоцитов и образования хемокинов. Кроме того, выявлено, что IDR значительно подавляют LPS-опосредованную дегрануляцию нейтрофилов, высвобождение ROS и секрецию провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухоли – Tumor Necrosis Factor, TNF и интерлейкин 10 – IL-10), что позволяет снизить воспаление. Фармакологические препараты тамоксифен [54] или анакардиновая кислота [55] индуцируют формирование NETs и нейтрофильный фагоцитоз.

Озабоченность общества по поводу стремительного роста антибиотикорезистентности патогенных бактерий заставляет иначе взглянуть на роль нейтрофилов и влияние их функциональной активности и антибактериальных стратегий на эффективность антибиотикотерапии. Традиционные рекомендации по применению антибиотиков в отношении доз, способов и кратности введения основаны на фармакокинетике и фармакодинамике этой группы препаратов, показанных на экспериментальных моделях и добровольцах (по большей части здоровых), без учета взаимодействия и соучастия антибактериальных стратегий нейтрофилов.

Возможно, применение указанных средств, модулирующих различные звенья антимикробных стратегий нейтрофилов, перспективно в случаях комплексного лечения инфекций, ассоциированных с антибиотикорезистентными штаммами бактерий. Это может в конечном итоге обеспечить критически новый уровень иммунологической защиты организма и повысить эффективность лечения.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity*. 2010; 33(5): 657–70. doi: 10.1016/j.immuni.2010.11.011.
- Leliefeld P.H., Wessels C.M., Leenen L.P., Koenderman L., Pillay J. The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation. *Crit. Care*. 2016; 20: 73. doi: 10.1186/s13054-016-1250-4.
- Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat. Rev. Immunol.* 2006; 6(3): 173–82. doi: 10.1038/nri1785.
- Mayadas T.N., Cullere X., Lowell C.A. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu. Rev. Pathol.* 2014; 9: 181–218. doi: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023.
- Segal A.W. How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol.* 2005; 23: 197–223. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115653. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2092448/> (accessed 11 Sept 2017).
- Urban C.F., Lourido S., Zychlinsky A. How do microbes evade neutrophil killing? *Cell Microbiol.* 2006; 8(11): 1687–96. doi: 10.1111/j.1462-5822.2006.00792.x.
- Döhrmann S., Cole J.N., Nizet V. Conquering neutrophils. *PLoS Pathog.* 2016; 12(7): e005682. doi: 10.1371/journal.ppat.1005682. Available at: <http://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1005682> (accessed 11 Sept 2017).
- Nauseef W.M. Neutrophils, from cradle to grave and beyond. *Immunol. Rev.* 2016; 273(1): 5–10. doi: 10.1111/imr.12463.
- Dunkelberger J.R., Song W.C. Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res.* 2010; 20(1): 34–50. doi: 10.1038/cr.2009.139. Available at: <https://www.nature.com/cr/journal/v20/n1/full/cr2009139a.html> (accessed 11 Sept 2017).
- van Kessel K.P., Bestebroer J., van Strijp J.A. Neutrophil-mediated phagocytosis of *Staphylococcus aureus*. *Front. Immunol.* 2014; 5: 467. doi: 10.3389/fimmu.2014.00467. Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2014.00467/full> (accessed 11 Sept 2017).
- Amulic B., Cazalet C., Hayes G.L., Metzler K.D., Zychlinsky A. Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annu. Rev. Immunol.* 2012; 30: 459–89. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-074942.
- Rigby K.M., DeLeo F.R. Neutrophils in innate host defense against *Staphylococcus aureus* infections. *Semin Immunopathol.* 2012; 34(2): 237–59. doi: 10.1007/s00281-011-0295-3. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00281-011-0295-3> (accessed 11 Sept 2017).
- Ford J.W., McVicar D.W. TREM and TREM-like receptors in inflammation and disease. *Curr. Opin. Immunol.* 2009; 21(1): 38–46. doi: 10.1016/j.coi.2009.01.009.
- Mucsaí A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond. *J. Exp. Med.* 2013; 210(7): 1283–99. doi: 10.1084/jem.20122220. Available at: (accessed 11 Sept 2017); <http://jem.rupress.org/content/210/7/1283.long>
- Roos D., van Bruggen R., Meischl C. Oxidative killing of microbes by neutrophils. *Microbes Infect.* 2003; 5(14): 1307–15. doi: 10.1016/j.micinf.2003.09.009.
- Greenlee-Wacker M., DeLeo F.R., Nauseef W.M. How methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* evade neutrophil killing. *Curr. Opin. Hematol.* 2015; 22(1): 30–5. doi: 10.1097/MOH.0000000000000096.
- Odobasic D., Kitching A.R., Holdsworth S.R. Neutrophil-mediated regulation of innate and adaptive immunity: the role of myeloperoxidase. *J. Immunol. Res.* 2016; 2016: 11. doi: 10.1155/2016/2349817. Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2349817> (accessed 11 Sept 2017).
- Bardoel B.W., Kenny E.F., Sollberger G., Zychlinsky A. The balancing act of neutrophils cell host and microbe. *Cell Host. Microbe*. 2014; 15(5): 526–36. doi: 10.1016/j.chom.2014.04.011. Available at: <http://www.cell.com/action/showImagesData?pii=S1931-3128%2814%2900145-0> (accessed 11 Sept 2017).
- Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 77(5): 598–625.
- Dapunt U., Hansch G.M., Arciola C.R. Innate Immune Response in Implant-Associated Infections: Neutrophils against Biofilms. *Materials*. 2016; 9(5): 387. Available at: <http://www.mdpi.com/1996-1944/9/5/387/htm> (accessed 11 Sept 2017).
- Morozov V.I., Pryatkin S.A., Kalinski M.I., Rogozkin V.A. Effect of exercise to exhaustion on myeloperoxidase and lysozyme release from blood neutrophils. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2003; 89(3–4): 257–62. doi: 10.1007/s00421-002-0755-5.
- Winterbourn C.C., Kettle A.J., Hampton M.B. Reactive oxygen species and neutrophil function. *Annu. Rev. Biochem.* 2016; 85: 765–92. doi: 10.1146/annurev-biochem-060815-014442.
- Cardot-Martin E., Casalegno J.S., Badiou C., Dauwalder O., Keller D., Prévost G., et al. α -defensins partially protect human neutrophils against Panton-Valentine leukocidin produced by *Staphylococcus aureus*. *Lett. Appl. Microbiol.* 2015; 61(2): 158–64. doi: 10.1111/lam.12438.
- Frasca L., Lande R. Role of defensins and cathelicidin LL37 in auto-immune and auto-inflammatory diseases. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2012; 13(10): 1882–97. doi: 10.2174/138920112802273155.
- Nordenfelt P., Tapper H.J. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils. *J. Leukoc. Biol.* 2011; 90(2): 271–84. doi: 10.1189/jlb.0810457.
- Chebotar I.V. Mechanisms of antibiofilm immunity. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012; 67(12): 22–9. doi: 10.15690/vramm.v67i12.477. (in Russian)
- Schuerholz T., Brandenburg K., Marx G. Antimicrobial peptides and their potential application in inflammation and sepsis. *Crit. Care*. 2012; 16(2): 207. doi: 10.1186/cc11220. Available at: <https://doi.org/10.1186/cc11220> (accessed 11 Sept 2017).
- Cojocaru I.M., Cojocaru M., Burcin C. Evaluation of granulocyte elastase as a sensitive diagnostic parameter of inflammation in first ischemic stroke. *Rom. J. Intern. Med.* 2006; 44(3): 317–21. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18386609> (accessed 11 Sept 2017).
- Naegele I., Beaume N., Plançon S., Schenten V., Tschirhart E.J., Bréhard S. Regulation of Neutrophil Degranulation and Cytokine Secretion: A Novel Model Approach Based on Linear Fitting. *J. Immunol. Res.* 2015; 2015: 817038. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/jir/2015/817038/> (accessed 11 Sept 2017).
- Park C.B., Yi K.S., Matsuzaki K., Kim M.S., Kim S.C. Structure-activity analysis of buforin II, a histone H2A-derived antimicrobial peptide: the proline hinge is responsible for the cell-penetrating ability of buforin II. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000; 97(15): 8245–50. Available at: <http://www.pnas.org/content/97/15/8245.long> (accessed 11 Sept 2017).
- Malcolm K.C., Worthen G.S. Lipopolysaccharide stimulates p38-dependent induction of antiviral genes in neutrophils independently of paracrine factors. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(18): 15693–701. Available at: <http://www.jbc.org/content/278/18/15693.long> (accessed 11 Sept 2017).
- Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004; 303(5663): 1532–5.
- Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? *J. Cell Biol.* 2012; 198(5): 773–83. doi: 10.1083/jcb.118.050701. Available at: <http://jcb.rupress.org/content/198/5/773.long> (accessed 11 Sept 2017).
- Klebanoff S.J., Kettle A.J., Rosen H., Winterbourn C.C., Nauseef W.M. Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *J. Leukoc. Biol.* 2013; 93(2): 185–98. doi: 10.1189/jlb.0712349.
- Theeb W., Sellau J., Steeg C., Klinken A., Baldus S., Cramer J.P., et al. Myeloperoxidase attenuates pathogen clearance during *Plasmodium yoelii* nonlethal infection. *Infect. Immun.* 2016; 85(1): e00475–16. Available at: <http://iaa.asm.org/content/85/1/e00475-16.long> (accessed 11 Sept 2017).
- Delgado-Rizo V., Martinez-Guzman M.A., Iniguez-Gutierrez L., Garcia-Orozco A., Alvarado-Navarro A., Fafutis-Morris M. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: an overview. *Front. Immunol.* 2017; 8: 81. doi: 10.3389/fimmu.2017.00081. Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2017.00081/full> (accessed 11 Sept 2017).
- Yang H., Biermann M.H., Brauner J.M., Liu Y., Zhao Y., Herrmann M. New insights into neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in inflammation. *Front. Immunol.* 2016; 7: 302. Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2016.00302/full> (accessed 11 Sept 2017).
- Chakraborty S., Kaur S., Guha S., Batra S.K. The multifaceted roles of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in inflammation and cancer. *Biochim. Biophys. Acta*. 2012; 1826(1): 129–69. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.03.008.
- Koymans K.J., Feitsma L.J., Brondijk T.H., Aerts P.C., Lukkien E., Lössl P., et al. Structural basis for inhibition of TLR2 by staphylococcal superantigen-like protein 3 (SSL3). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2015; 112(5): 11018–23.
- Amulic B., Hayes G. Neutrophil extracellular traps. *Curr. Biol.* 2011; 21(9): R297–8.
- Pang Y.Y., Schwartz J., Bloomberg S., Boyd J.M., Horswill A.R., Nauseef W.M. Methionine sulfoxide reductases protect against oxidative stress in *Staphylococcus aureus* encountering exogenous oxidants and human neutrophils. *J. Innate. Immun.* 2014; 6(3): 353–64.
- Nishimura Y., Lee H., Hafenstein S., Kataoka C., Wakita T., Bergelson J.M., et al. Enterovirus 71 binding to PSGL-1 on leukocytes: VP1-145 acts as a molecular switch to control receptor interaction. *PLoS Pathog.* 2013; 9(7): e0035111. Available at: <http://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1003511> (accessed 11 Sept 2017).
- Lee L.Y., Höök M., Haviland D., Wetzel R.A., Yonter E.O., Syrbeyers P., et al. Inhibition of complement activation by a secreted *Staphylococcus aureus* protein. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(3): 571–9.
- Higgins J., Loughman A., Van Kessel K.P., Van Strijp J.A., Foster T.J. Clumping factor A of *Staphylococcus aureus* inhibits phagocytosis by human polymorphonuclear leukocytes. *FEMS Microb. Lett.* 2006; 258(2): 290–6.
- Postma B., Poppelier M.J., van Galen J.C., Prossnitz E.R., van Strijp J.A., de Haas C.J., et al. Chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* binds specifically to the C5a and formylated peptide receptor. *J. Immunol.* 2004; 172(11): 6994–7001.

46. van Wamel W.J., Rooijackers S.H., Ruyken M., van Kessel K.P., van Strijp J.A. The innate immune modulators staphylococcal complement inhibitor and chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* are located on β -hemolysin-converting bacteriophages. *J. Bacteriol.* 2006; 188(4): 1310–5.
47. Gustafsson E., Rosén A., Barchan K., van Kessel K.P., Haraldsson K., Lindman S., et al. Directed evolution of chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* generates biologically functional variants with reduced interaction with human antibodies. *Protein Eng. Des. Sel.* 2010; 23(2): 91–101.
48. Thammavongsa V., Missiakas D.M., Schneewind O. *Staphylococcus aureus* degrades neutrophil extracellular traps to promote immune cell death. *Science.* 2013; 342(6160): 863–6. doi: 10.1126/science.1242255.
49. Abate F., Malito E., Falugi F., Margarit Y Ros I., Bottomley M.J. Cloning, expression, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of SpyCEP, a candidate antigen for a vaccine against *Streptococcus pyogenes*. *Acta Cryst.* 2013; 69(Pt 10): 1103–6. doi: 10.1107/S1744309113024871. Available at: <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S1744309113024871> (accessed 11 Sept 2017)
50. Lazaro-Diez M., Chapartegui-Gonzalez I., Redondo-Salvo S., Leigh C., Merino D., Segundo D., et al. Human neutrophils phagocytose and kill *Acinetobacter baumannii* and *A. pittii*. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 4571. doi: 10.1038/s41598-017-04870-8.
51. Feng S., Bowden N., Fragiadaki M., Souilhol C., Hsiao S., Mahmoud M., et al. Mechanical activation of hypoxia-inducible factor 1 α drives endothelial dysfunction at atheroprone sites. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2017; 37(11): 2087–2101. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309249.
52. Guo X., Zhu Z., Zhang W., Meng X., Zhu Y., Han P., et al. Nuclear translocation of HIF-1 α induced by influenza A (H1N1) infection is critical to the production of proinflammatory cytokines. *Emerg. Microbes. Infect.* 2017; 6(5): e39. doi: 10.1038/emi.2017.21. Available at: <https://www.nature.com/emi/journal/v6/n5/full/emi201721a.html> (accessed 11 Sept 2017)
53. Niyonsaba F., Madera L., Afacan N., Okumura K., Ogawa H., Hancock R.E. The innate defense regulator peptides IDR-HH2, IDR-1002, and IDR-1018 modulate human neutrophil functions. *J. Leukoc. Biol.* 2013; 94(1): 159–70. doi: 10.1189/jlb.1012497.
54. Corriden R., Hollands A., Olson J., Derieux J., Lopez J., Chang J.T., et al. Tamoxifen augments the innate immune function of neutrophils through modulation of intracellular ceramide. *Nat. Commun.* 2015; 6: 8369. doi: 10.1038/ncomms9369. Available at: <https://www.nature.com/articles/ncomms9369> (accessed 11 Sept 2017)
55. Hollands A., Corriden R., Gysler G., Dahesh S., Olson J., Raza Ali S., et al. Natural product anacardic acid from cashew nut shells stimulates neutrophil extracellular trap production and bactericidal activity. *J. Biol. Chem.* 2016; 291(27): 13964–73.

Поступила 24.11.17

Принята к печати 29.12.17

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.155.191-085

Меликян А.Л., Суборцева И.Н., Гилязитдинова Е.А., Ковригина А.М., Судариков А.Б., Абдуллаев А.О.

ТЕРАПИЯ ИСТИННОЙ ПОЛИЦИТЕМИИ РУКСОЛИТИНИБОМ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России,
125167, г. Москва, Россия

В настоящее время методами воздействия при истинной полицитемии (ИП) являются: профилактика тромботических осложнений (препараты ацетилсалициловой кислоты); физическое удаление избыточной массы циркулирующих эритроцитов (кровопускание или эритроцитаферез); циторедуктивная терапия; лечение тромботических осложнений; терапия в особых ситуациях (при беременности, хирургических вмешательствах). В качестве 1-й линии лечения в молодом возрасте показан интерферон α , в старшей возрастной группе – гидроксикарбамид. В 15–25% случаев данные препараты имеют малую эффективность и плохую переносимость. Переход на другую линию показан в случае неэффективности или непереносимости проводимой терапии. Результаты клинических исследований доказали эффективность ингибитора JAK2 руksолитиниба в купировании массивной спленомегалии и конституциональных симптомов у больных первичным миелофиброзом и ИП. Представлен обзор литературы и описание клинического случая эффективного лечения больного ИП руksолитинибом.

Ключевые слова: миелопролиферативные неоплазии; истинная полицитемия; JAK2V617F; руksолитиниб.

Для цитирования: Меликян А.Л., Суборцева И.Н., Гилязитдинова Е.А., Ковригина А.М., Судариков А.Б., Абдуллаев А.О. Терапия истинной полицитемии руksолитинибом. *Гематология и трансфузиология.* 2017; 62(4): 229–232. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-229-232>

Melikyan A.L., Subortseva I.N., Gilyazitdinova E.A., Kovrigina A.M., Sudarikov A.B., Abdullaev A.O.

THERAPY OF THE POLYCYTHEMIA VERA WITH RUXOLITINIB

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

Currently, methods of therapeutic the treatment of polycythemia vera (PV) are: prophylaxis of thrombotic complications with acetylsalicylic acid; erythrocytapheresis; cytoreductive therapy; treatment of thrombotic complications; therapy in special conditions (pregnancy, surgery). The first line of the treatment at a young age is interferon α , in the older age group is hydroxycarbamide. In 15–25% of cases, these drugs have low efficiency and poor tolerance. The transition to another line is indicated if the therapy is ineffective or patient is intolerant of the therapy. Results of clinical trials have proved the effectiveness of ruxolitinib, JAK2 inhibitor, in the management of splenomegaly and constitutional symptoms in patients with primary myelofibrosis and PV. A review of the literature and a description of the clinical case of the effective treatment of the PV patient ruxolitinib is presented.

Key words: myeloproliferative neoplasia; true polycythemia; JAK2V617F; ruxolitinib.

For citation: Melikyan A.L., Subortseva I.N., Gilyazitdinova E.A., Kovrigina A.M., Sudarikov A.B., Abdullaev A.O. Therapy of polycythemia vera with ruxolitinib. *Russian Journal of Hematology and transfusiology (Gematologiya i Transfusiologya).* 2017; 62(4): 229–232. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-4-229-232>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Received 19 Dec 2017

Accepted 29 Dec 2017

Истинная полицитемия (ИП) относится к группе классических Ph-негативных клональных миелолифферативных неоплазий (МЛН) и характеризуется пролиферацией эритроидного, гранулоцитарного, мегакариоцитарного ростков миелопоэза с преимущественной пролиферацией эритроидного ростка кроветворения (панмиелоэз), увеличением показателей эритроцитов и повышением концентрации гемоглобина, тромбоцитозом, лейкоцитозом в периферической крови (панцитоз), независимостью эритропоэза от нормальных механизмов регуляции. Почти все больные являются носителями мутации *JAK2 V617F* или другой функционально сходной мутации [1, 2].

Заболеваемость ИП составляет 0,4–2,8 случаев на 100 тыс. населения в год. ИП редко встречается в возрасте до 40 лет (менее 5% случаев), средний возраст на момент установления диагноза составляет 60 лет, что влечет за собой некоторое преобладание мужчин среди заболевших [3]. В литературе описан аутосомно-доминантный механизм передачи генов, что определяет наследственную предрасположенность к развитию МЛН [4]. Частота семейных случаев развития ИП составляет 6% [5]. Ретроспективное международное исследование на когорте 1545 пациентов показало, что у больных ИП 15-летний совокупный риск развития вторичного миелофиброза или бластного криза составляет 35 и 5% соответственно [6].

Такие критерии, как возраст старше 60 лет и тромбоцитические осложнения в анамнезе, лежат в основе стратификации пациентов в группы риска тромбоцитических осложнений и помогают принять решение о начале терапии [7–9]. Все больные ИП получают лечение в соответствии с международными и национальными клиническими рекомендациями или в рамках клинических исследований. Выбор варианта лечения определяется наличием и степенью выраженности симптомов заболевания, возрастом больного, риском развития тромбозов, сопутствующими заболеваниями и необходимостью их постоянного лечения, образом жизни пациента [1, 10, 11]. Методы лечения включают: механическое удаление клеточной массы (проведение кровопусканий или эритроцитафереза), профилактику тромбоцитических осложнений, циторедуктивную терапию (гидроксикарбамид, препараты интерферона α (INF α) в качестве 1-й линии терапии, а затем бусульфана), таргетную терапию, лечение осложнений заболевания (тромбозов, тромбозомболий).

Клиническое наблюдение за больными следует проводить регулярно. Для оценки симптомов заболевания следует использовать опросники, например МЛН-10 [12]. В исследовании CUTO-PV доказано, что поддержание показателей гематокрита у пациентов на уровне менее 45% позволило в 4 раза снизить частоту больших тромбоцитических событий в сравнении с пациентами, у которых гематокрит был 45–50% [13, 14]. Проведение кровопусканий или эритроцитаферезов остается стандартом терапии больных ИП, отнесенных в группу низкого риска тромбоцитических осложнений, до тех пор, пока позволяют осуществлять контроль гематокрита, не вызывая тромбоцитоз и/или чрезмерный дефицит железа. У больных ИП кроме контроля гематокрита следует контролировать концентрацию лейкоцитов и тромбоцитов. У больных ИП, отнесенных к группе низкого риска тромбоцитических осложнений, возможно проведение гемоэксфузионной терапии для снижения гематокрита до уровня менее 45% и назначения анагредина с целью нормализации концентрации тромбоцитов [15]. В исследовании ECLAP показана эффективность терапии малыми дозами ацетилсалициловой кислоты с целью первичной профилактики тромбоцитических осложнений, при этом не существенно не увеличивается риск кровотечений. Таким образом, при отсутствии противопоказаний все больные должны получать малые дозы ацетилсалициловой кислоты [16–18].

Наиболее часто препаратом, применяемым для лечения ИП, в настоящее время является гидроксикарбамид [19]. Результаты контрольного проспективного клинического исследования S. Cortelazzo и соавт. [20]

показали, что гидроксикарбамид не оказывает влияния на продолжительность жизни больных, развитие тромбоцитических осложнений и вторичного миелофиброза. Терапия гидроксикарбамидом недостаточно эффективна для профилактики транзиторных ишемических атак у больных с резистентностью к ацетилсалициловой кислоте [21].

INF α является хорошей альтернативой циторедуктивной терапии. У молодых пациентов, беременных женщин INF α является 1-й линией терапии. Клинические исследования показали высокую эффективность интерферонотерапии в лечении МЛН: объективный гематологический ответ (полный или частичный гематологический ответ) удавалось получить у 80% больных, независимость от кровопусканий у 60% больных ИП, отмечалось также уменьшение интенсивности кожного зуда. С другой стороны, данная терапия не лишена своих недостатков. Основным фактором, лимитирующим назначение INF α , является развитие нежелательных явлений (НЯ) [22].

Открытие мутации *JAK2V617F* в 2005 г. послужило первым шагом в заполнении пробела в знаниях о патогенезе и клинических проявлениях ИП, впервые описанного Луи Генри Вакесом в конце XIX века [23]. Сигнальный путь JAK-STAT является одним из основных сигнальных путей, ответственных за регуляцию апоптоза и пролиферацию гемопоэтических клеток-предшественников. Высокая распространенность мутации *JAK2 V617F* при МЛН – более 95% при ИП и около 50% при первичном миелофиброзе и эссенциальной тромбоцитемии – и активация сигнального пути JAK-STAT сделали *JAK2* терапевтической мишенью [24]. Результаты многолетних клинических исследований доказали эффективность ингибитора JAK1/2 руксолитиниба в лечении МЛН. Данный препарат был первоначально одобрен для лечения первичного миелофиброза [25]. В недавно опубликованном клиническом исследовании III фазы RESPONSE [26] была показана высокая эффективность руксолитиниба в лечении больных ИП. В этом исследовании сравнивали эффективность и переносимость руксолитиниба с наилучшей доступной терапией в когорте 222 больных ИП с непереносимостью гидроксикарбамида или резистентностью к нему. Резистентность была определена как требуемая дозировка не менее 2 г/сут или максимально переносимая дозировка, приводящая к развитию гематологической токсичности или неспособности контролировать лейкоцитоз, тромбоцитоз, концентрацию гематокрита или спленомегалию. Непереносимость определена как развитие гематологической токсичности при минимальной дозировке гидроксикарбамида, появление негематологических нежелательных явлений. Средний возраст больных составил 60 лет, соматический статус был оценен более 2 баллов по шкале ECOG, анамнез заболевания составлял 8–9 лет с момента установления диагноза. Больные были рандомизированы в соотношении 1:1. Исследовали дозу руксолитиниба 10 мг 2 раза в день. Первичной конечной точкой являлся контроль гематокрита или уменьшение размера селезенки, по меньшей мере, на 35% к 8-му месяцу терапии. В группе терапии руксолитинибом 60% больных достигли целевой концентрации гематокрита, 38% – уменьшения объема селезенки. Только 21% больных достигли комбинированной конечной точки, что указывает на отсутствие корреляции между данными параметрами. Улучшение в отношении симптомов опухолевой интоксикации было достигнуто у 49% больных, получавших руксолитиниб, против 5% в контрольной группе. Отмечено снижение зависимости от кровопусканий. Эти результаты имеют существенное значение для клинической практики. В то время как кровопускание является эффективным методом контроля гематокрита, его длительное использование приводит к развитию тяжелого дефицита железа.

Руксолитиниб имеет хорошую переносимость у больных ИП. Наиболее распространенным нежелательным явлением является миелосупрессия – от односторонней цитопении до панцитопении. В период терапии необходим регулярный контроль анализа крови и коррекция дозировки или перерыв в терапии в случае развития гематологических нежелательных явлений. Другими нежелательными явлениями являются желудочно-кишечная токсичность и иммуносупрессия, включая повышенный риск инфекции и реактивации вирусов герпеса и других инфекционных агентов, контролируемых через клеточный иммунитет. У больных, получавших руксолитиниб, зарегистрированы случаи рака кожи. Причинно-следственная связь не установлена в связи с тем, что больные получали несколько линий терапии, были пожилого возраста и в некоторых случаях имели предраковые заболевания. Имеются сообщения о спорадических случаях прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии, вызванной активацией полиомавируса человека 2-го типа (вирус JC) [26].

Исследование RESPONSE продемонстрировало сокращение размеров селезенки к концу первого года лечения больных ИП руксолитинибом, аналогично показанному в исследовании COMFORT-II у больных первичным миелофиброзом [27]. В исследовании по-

Для корреспонденции:

Меликян Анаит Левоновна, доктор медицинских наук, заведующая отделением стандартизации методов лечения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: anoblood@mail.ru

For correspondence:

Melikyan Anait L., MD, PhD, Head of the Department of Standardization of Methods of Treatment, National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: anoblood@mail.ru

Information about authors:

Melikyan A.L., <http://orcid.org/0000-0002-2119-3775>;
Subortseva I.N., <http://orcid.org/0000-0001-9045-8653>;
Gilyazitdinova E.A., <https://orcid.org/0000-0002-3883-185X>;
Kovrigina A.M., <http://orcid.org/0000-0002-1082-8659>;
Sudarikov A.B., <http://orcid.org/0000-0001-9463-9187>;
Abdullaev A.O., <https://orcid.org/0000-0003-2530-808X>.

казана высокая эффективность терапии в отношении симптомов, опосредованных массивной спленомегалией, аквагенного зуда, конституциональных симптомов, болей в костях. Вышеуказанные клинические преимущества должны быть аргументом для начала терапии у больных с сохраняющимися конституциональными симптомами и массивной спленомегалией на фоне стандартной терапии.

Клиническое исследование RELIEF инициировано с целью получения ответа о наилучшей тактике лечения у больных ИП с выраженными симптомами интоксикации, но хорошо контролируемым заболеванием при терапии гидроксикарбамидом. Это рандомизированное плацебо-контролируемое исследование III фазы показало положительную динамику в отношении симптомов опухолевой интоксикации при переходе на терапию руксолитинибом, но тенденция оказалась статистически незначимой [28]. Оценку симптомов проводили по форме «Оценка симптомов миелопролиферативных неоплазий» (Myeloproliferative Neoplasm Symptom Assessment Form). Баллы, полученные при оценке усталости, зуда, болей в мышцах, ночной и дневной потливости, суммировали. Статистически значимая разница в сравниваемых группах не выявлена. Тем не менее, после 4 мес лечения такие симптомы, как аквагенный зуд и ночная потливость, достигли улучшения по сравнению с исходными данными на 40% в группе плацебо и 68% в группе руксолитиниба. В таблице суммированы данные клинических исследований об эффективности терапии больных ИП руксолитинибом [26–28].

Целью клинического исследования III фазы RESPONSE-2 является контроль гематокрита у больных ИП без спленомегалии в случае резистентности к гидроксикарбамиду или его непереносимости. Вторичные конечные точки включают оценку частоты тромбозов, кровотечений, бластного криза. Первые результаты, касающиеся этих вопросов, ожидаются в 2020 г. В клиническом исследовании II фазы MAJIS планируется оценить общую выживаемость, тромботические осложнения, гистологические ремиссии, молекулярные ремиссии у больных ИП. В настоящее время данные об отдаленных результатах терапии руксолитинибом у больных ИП немногочисленны.

Таким образом, препарат показал высокую эффективность и хорошую переносимость у больных ИП. Клинические исследования по оценке отдаленных результатов терапии продолжаются. В марте 2015 г. руксолитиниб был зарегистрирован для лечения ИП в случаях, если у больного зафиксирован неадекватный ответ или непереносимость гидроксикарбамида.

Приводим собственное клиническое наблюдение.

Клиническое наблюдение.

Больная Ш., 51 год, обратилась в январе 2016 г. в отделение стандартизации методов лечения ФГБУ «Гематологический научный центр» (в настоящее время ФГБУ НМИЦ гематологии) Минздрава РФ с жалобами на слабость, потливость, аквагенный кожный зуд, беспокоившие ее с июля 2015 г. Сопутствующие заболевания: артериальная гипертензия II стадии, 2-й степени; состояние после ампутации матки по поводу миомы в 2009 г.; состояние после резекции буллы нижней доли левого легкого в 2010 г. При обследовании выявлены панцитоз (в клиническом анализе крови: гемоглобин 173 г/л, эритроциты $6,32 \times 10^{12}/л$, гематокрит 54,2%, тромбоциты $1123 \times 10^9/л$, лейкоциты $24,48 \times 10^9/л$), спленомегалия – при ультразвуковом исследовании размеры селезенки 176×78 мм, положительный маркер Ph-негативных МПН (BCR/ABL – отрицательный, JAK2 V617F – 74%). При гистологическом исследовании трепанобиоптата костного мозга морфологическая картина была характерна для МПЗ, ИП: гиперклеточный костный мозг, гранулоцитарный росток расширен, омоложен, эритроидный росток представлен клетками на всех стадиях созревания; мегакариоциты представлены клетками различных размеров, преимущественно с гиперлобулярными нормохромными и гипохромными ядрами, присутствуют гигантские формы и безядерные формы; при окраске по Гомори – степень ретикулинового фиброза MF-0.

На основании двух больших критериев (высокая концентрация гемоглобина и мутация JAK2) и малого критерия (гистологическое исследование трепанобиоптата костного мозга) установлен диагноз ИП.

В октябре 2015 г. начата терапия гидроксикарбамидом, и проведены две процедуры кровопускания. Однако после каждой процедуры отмечалось появление головной боли, головокружения, синкопальное состояние, тошнота, рвота, что свидетельствовало о неудовлетворительной переносимости кровопускания. Терапию гидроксикарбамидом проводили по 2000 мг (4 капсулы) в сутки с октября 2015 по февраль 2016 г. В результате проводимой терапии достигнуто снижение концентрации тромбоцитов до $612 \times 10^9/л$. Однако другие показатели оставались практически без изменений, появились боли в правом подреберье, дерматит (покраснение, сухость и шелушение кожи щёк).

Потребность в проведении кровопусканий/эритроцитафереза для поддержания уровня гематокрита менее 45% после 3 мес

терапии гидроксикарбамидом в дозе более 2000 мг/сут, появление дерматита свидетельствовали о резистентности к терапии.

В качестве 2-й линии была назначена терапия INFα2b в дозе 3 млн МЕ подкожно через день. После каждой инъекции препарата развивалась гипертермия до 40°C, миалгия, артралгия. Больная отмечала появление гиперчувствительности кожи – чувство жжения и болезненность при соприкосновении с одеждой, бельем. После 5 инъекций препарата развилось тревожность, раздражительность, плаксивость, суицидальные мысли. Состояние расценено как депрессивное расстройство, индуцированное INF. Назначена терапия антидепрессантами (флувоксамина малеат). После приема антидепрессантов появились отеки на лице.

В анализе крови через 3 нед терапии INF сохранялся панцитоз (гемоглобин 181 г/л, эритроциты $5,8 \times 10^{12}/л$, гематокрит 55%, тромбоциты $820 \times 10^9/л$, лейкоциты $25,1 \times 10^9/л$).

Таким образом, каждый вид терапии вызывал нежелательные явления: кровопускания – головную боль, синкопальное состояние; гидроксикарбамид – дерматит; INFα – депрессивное расстройство.

Пациентка начала лечение руксолитинибом по 10 мг 2 раза в день в июле 2016 г.

Оценка эффективности терапии проведена через 3 мес лечения. Достигнута клинико-гематологическая ремиссия: состояние стало удовлетворительным, жалоб на потливость, кожный зуд не предъявляла, явления дерматита купированы, показатели клинического анализа крови стали в пределах нормы (гемоглобин 134 г/л, эритроциты $4,45 \times 10^{12}/л$, гематокрит 42,4%, тромбоциты $393 \times 10^9/л$, лейкоциты $8,7 \times 10^9/л$), отмечено сокращение размеров селезенки до 152×52 мм.

В настоящее время длительность терапии руксолитинибом составляет 8 мес. Нежелательные явления не зарегистрированы.

Обсуждение

Целями терапии ИП являются профилактика и лечение тромбогеморрагических осложнений, контроль симптомов опухолевой интоксикации, сведение к минимуму риска развития острого лейкоза и постполицистемического миелофиброза, предупреждение осложнений в случае беременности, хирургических операций. В соответствии с рекомендациями Европейской организации по изучению и лечению лейкозов (European Leukemia Net, ELN) и Британского комитета по стандартизации в гематологии (British Committee for Standards in Haematology) кровопускание, низкие дозы ацетилсалициловой кислоты, циторедуктивная терапия гидроксикарбамидом или препаратами INFα являются 1-й линией лечения ИП [26, 27]. Данная терапия позволяет получить ответ (клинико-гематологический ответ или стабилизацию заболевания) у больных ИП. Однако приблизительно у 15–25% больных наблюдается резистентность к гидроксикарбамиду или его непереносимость [29, 30]. Лечение этой категории больных представляет собой сложную задачу.

В случае непереносимости самым распространенным практическим подходом является снижение суточной дозы до наилучшего переносимого и более широкое использование кровопусканий для поддержания целевых показателей гематокрита. Однако частые кровопускания плохо переносятся и могут вызвать симптоматический дефицит железа. Возможна смена гидроксикарбамида на INFα. Однако следует учитывать неудовлетворительную переносимость терапии препаратами INFα и высокий риск развития нежелательных явлений. Использование альтернативного цитотоксического агента необходимо тщательно оценивать, особенно у молодых больных, из-за повышенного лейкозогенного риска [31].

Руксолитиниб – это ингибитор JAK1/JAK2, одобренный Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) и Европейским агентством по лекарственным средствам (EMA) для больных ИП в случае непереносимости гидроксикарбамида или резистентности к нему [2]. В РФ руксолитиниб в 2013 г. одобрен для больных миелофиброзом (включая первичный и вторичный миелофиброз, развившийся вследствие ИП и эссенциальной тромбоцитемии), а в 2015 г. для больных ИП, резистентных к терапии препаратами гидроксимочевины, или при их непереносимости [32]. Клинические исследования показали высокую эффективность руксолитиниба в сравнении с наилучшей доступной терапией для контроля гематокрита без кровопусканий и уменьшения объема селезенки (22,7% против 0,9% больных). При этом ответ длительный – поддержание целевого уровня гематокрита и сокращение размеров селезенки наблюдались у 89% и 98% больных соответственно при медиане наблюдения 111 нед. Потребность в проведении кровопусканий для поддержания гематокрита менее 45% у больных, получающих терапию руксолитинибом, меньше в сравнении с группой больных на наилучшей доступной терапии [33].

У больных ИП ожидаемая продолжительность жизни близка к продолжительности жизни в общей популяции, поэтому в настоя-

шее время основной целью лечения является профилактика тромбозов, на которые приходится основная часть смертей при этом заболевании. Количество сердечно-сосудистых событий при терапии руколитинибом было ниже (1,8 против 8,2 на 100 пациентов-лет в сравняемых группах). Метаанализ исследований COMFORT-I, COMFORT-II и RESPONSE (всего 750 пациентов) показал значительное снижение частоты тромбозов у больных, получавших руколитиниб, с коэффициентом риска 0,45 по сравнению с плацебо и наилучшей доступной терапией [34–36].

Больные, получавшие руколитиниб, отмечали значительное улучшение общего состояния, в отличие от пациентов, получавших наилучшую доступную терапию. Лечение руколитинибом характеризуется хорошей переносимостью, при этом 82,7% больных продолжают терапию более 80 нед [33].

Таким образом, данные клинических исследований и представленное нами клиническое наблюдение наглядно демонстрируют, что руколитиниб является эффективным препаратом для купирования спленомегалии и симптомов опухолевой интоксикации у больных ИП при неэффективности и/или непереносимости терапии гидроксикарбамидами.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меликян А.Л., Туркина А.Г., Абдулкадыров К.М., Зарицкий А.Ю., Афанасьев Б.В., Шуваев В.А. и др. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Ph-негативных миелоидных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитозия, первичный миелофиброз). *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59(4): 31–56.
2. Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Миелоидные новообразования: новые данные. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2016; 9(2): 218–28.
3. Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Материалы 58-й ежегодной конференции Американского гематологического общества (декабрь 2016 г. Сан-Диего). *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2017; 10(2): 258–70.
4. Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Материалы 19-го конгресса Европейской гематологической ассоциации (2014 г., Милан). *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2014; 7(4): 598–607.
5. Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Материалы 56-го конгресса Американского гематологического общества (декабрь 2014 г., Сан-Франциско). *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2015; 8(2): 201–32.
6. Суборцева И.Н., Колошейнова Т.И., Пустовая Е.И., Егорова Е.К., Ковригина А.М., ПлISKунова Ю.В. и др. Истинная полицитемия: обзор литературы и собственные данные. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2015; 8(4): 397–412.
7. Суборцева И.Н., Меликян А.Л., Ковригина А.М., Судариков А.Б. Латентная истинная полицитемия. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(1, прил. 1): 72.
8. Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Биология миелоидных новообразований. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2016; 9(3): 314–25.
9. Инструкция по применению лекарственного препарата Джакави® № ЛП 002028, выданное Минздравом РФ от 21.03.13. Available at: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_58405.htm (Access 06 Apr 2017).
10. Танашян М.М., Кузнецова П.И., Лагода О.В., Шабалина А.А., Суборцева И.Н., Меликян А.Л. Миелоидные новообразования и ишемический инсульт. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2014; 8(2): 41–5.
11. Меликян А.Л., Суборцева И.Н., Суханова Г.А. Тромбогеморрагические осложнения у больных Ph-негативными миелоидными заболеваниями. *Кровь*. 2014; 2(1): 21–5.

Остальные источники литературы пп. 3, 4, 6, 7, 11–17, 19–23, 25–30, 32, 33, 36 см. в References.

REFERENCES

1. Melikyan A.L., Turkina A.G., Abdulkadyrov K.M., Zarickiy A.YU., Afanas'ev B.V., Shuvaev V.A. et al. Clinical recommendations for the diagnosis and therapy of Ph-negative myeloproliferative diseases (true polycythemia, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis). *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfusiologya)*. 2014; 59(4): 31–56. (in Russian)
2. Melikyan A.L., Subortseva I.N. Myeloproliferative neoplasms: new data. *Russian Journal of Clinical Oncology. Fundamental research and clinical practice (Klinicheskaya onkologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2016; 9(2): 218–28. (in Russian)
3. Mehta J., Wang H., Iqbal S.U., Mesa R. Epidemiology of myeloproliferative neoplasms in the United States. *Leuk. Lymphoma*. 2014; 55(3): 595–600.
4. Saliba J., Saint-Martin C., Di Stefano A., Lenglet G., Marty C., Keren B., et al. Germline duplication of ATG2B and GSKIP predisposes to familial myeloid malignancies. *Nat. Genet.* 2015; 47(10): 1131–40.
5. Melikyan A.L., Subortseva I.N. Materials of the 58th Congress of the American Hematology Society (December 2016, San Diego). *Russian Journal of Clinical Oncology. Fundamental research and clinical practice (Klinicheskaya onkologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2017; 10(2): 258–70. (in Russian)
6. Tefferi A., Rumi E., Finazzi G., Gisslinger H., Vannucchi A.M., Rodeghiero F., Randi M.L., et al. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia*. 2013; 27(9): 1874–81.
7. Marchioli R., Finazzi G., Landolfi R., Kutti J., Gisslinger H., Patrono C., et al. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(10): 2224–32.
8. Melikyan A.L., Subortseva I.N. Materials of the 19th Congress of the European Hematology Association (2014, Milan). *Russian Journal of Clinical*

Oncology. Fundamental research and clinical practice (Klinicheskaya onkologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika). 2014; 7(4): 598–607. (in Russian).

9. Melikyan A.L., Subortseva I.N. Materials of the 56th Congress of the American Hematology Society (December 2014, San Francisco). *Russian Journal of Clinical Oncology. Fundamental research and clinical practice (Klinicheskaya onkologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2015; 8(2): 201–32. (in Russian)
10. Subortseva I.N., Kolosheynova T.I., Pustovaya E.I., Egorova E.K., Kovrigina A.M., Pliskunova Yu.V., et al. Polycythemia vera: a review of literature and our own data. *Russian Journal of Clinical Oncology. Fundamental research and clinical practice (Klinicheskaya onkologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2015; 8(4): 397–412. (in Russian)
11. Subortseva I.N., Kolosheynova T.I., Pustovaya E.I., Egorova E.K., Kovrigina A.M., Pliskunova Yu.V., et al. Diagnosis and treatment of polycythemia vera (PV) in Russian Federation: single center experience. *Blood*. 2015; 126(23): 5196.
12. Emanuel R.M., Dueck A.C., Geyer H.L., Kiladjan J.J., Slot S., Zweegman S., et al. Myeloproliferative neoplasm (MPN) symptom assessment form total symptom score: prospective international assessment of an abbreviated symptom burden scoring system among patients with MPNs. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30(33): 4098–103.
13. Tefferi A., Elliott M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Semin. Thromb. Hemost.* 2007; 33(4): 313–20.
14. Marchioli R., Finazzi G., Specchia G., Cacciola R., Cavazzina R., Cillon D., et al.; CYTO-PV Collaborative Group. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N. Engl. J. Med.* 2013; 368(1): 22–33.
15. Kremyanskaya M., Mascarenhas J., Hoffman R. Anagrelide hydrochloride and ruxolitinib for treatment of polycythemia vera. *Expert. Opin. Pharmacother.* 2015; 16(8): 1185–94.
16. Landolfi R., Marchioli R. European collaboration on low-dose aspirin in polycythemia vera (ECLAP): a randomized trial. *Semin. Thromb. Hemost.* 1997; 23(5): 473–8.
17. Landolfi R., Marchioli R., Kutti J., Gisslinger H., Tognoni G., Patrono C., Barbui T. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350(2): 114–24.
18. Subortseva I.N., Melikyan A.L., Kovrigina A.M., Sudarikov A.B. Latent polycythemia vera. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfusiologya)*. 2016; 61(1, Suppl. 1): 72. (in Russian)
19. Silver R.T. Long-Term effects of the treatment of polycythemia vera with recombinant IFN-α. *Cancer*. 2006; 107(3): 451–8.
20. Najean Y. Treatment of polycythemia vera: the use of hydroxyurea and pipobroman in 292 patients under the age of 65 years. *Blood*. 1997; 90(9): 3370–7.
21. Cortelazzo S., Finazzi G., Ruggeri M. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332(17): 1132–6.
22. Quintas-Cardama A., Kantarjian H., Mansouri T., Luthra R., Estrov Z., Pierce S., et al. Pegylated interferon α2a yields high rates of hematologic and molecular response in patients with advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(32): 5418–24.
23. Tefferi A. The history of myeloproliferative disorders: before and after Dameshek. *Leukemia*. 2008; 22(1): 3–13. doi:10.1038/sj.leu.2404946
24. Melikyan A.L., Subortseva I.N. Biology of myeloproliferative diseases. *Russian Journal of Clinical Oncology. Fundamental research and clinical practice (Klinicheskaya onkologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2016; 9(3): 314–25. doi:10.1182/blood-2009-03-209262. (in Russian)
25. Quintas-Cardama A., Vaddi K., Liu P., Vestri O., Galli M., Rodeghiero F., Barbui T. Preclinical characterization of the selective JAK1/2 inhibitor INCB018424: therapeutic implications for the treatment of myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2010; 115(15): 3109–17.
26. Vannucchi A.M., Kiladjan J.J., Griesshammer M., Masszi T., Durrant S., Passamonti F., et al. Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372(5): 426–35.
27. Cervantes F., Vannucchi A.M., Kiladjan J.J., Al-Ali H.K., Sirulnik A., Stalbovskaya V., et al.; COMFORT-II investigators. Three-year efficacy, safety, and survival findings from COMFORT-II, a phase 3 study comparing ruxolitinib with best available therapy for myelofibrosis. *Blood*. 2013; 122(25): 4047–53.
28. Mesa R., Vannucchi A.M., Yacoub A., Zachee P., Garg M., Lyons R., et al. The efficacy and safety of continued hydroxyurea therapy versus switching to ruxolitinib in patients with polycythemia vera: a randomized, double-blind, double-dummy, symptom study (RELIEF). *Br. J. Haematol.* 2017; 176(1): 76–85. doi:10.1111/bjh.14382.
29. Alvarez-Larrán A., Kerguelen A., Hernández-Boluda J.C., Pérez-Encinas M., Ferrer-Marín F., Báez A., et al. Frequency and prognostic value of resistance/intolerance to hydroxycarbamide in 890 patients with polycythemia vera. *Br. J. Haematol.* 2016; 172(5): 786–93.
30. Antonioli E., Guglielmelli P., Pieri L., Finazzi M., Rumi E., Martinelli V., et al. Hydroxyurea-related toxicity in 3,411 patients with Ph-negative MPN. *Am. J. Hematol.* 2012; 87(5): 552–4.
31. Instructions for the use of the drug Jakavi® No. LP 002028, issued by the Ministry of Health of the Russian Federation of 21.03.2013. Available at: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_58405.htm (Access 06 Apr 2017).
32. Björkholm M., Derolf A.R., Hultcrantz M., Kristinsson S.Y., Ekstrand C., Goldin L.R., et al. Treatment-related risk factors for transformation to acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in myeloproliferative neoplasms. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29(17): 2410–5.
33. Verstovsek S., Vannucchi A.M., Griesshammer M., Masszi T., Durrant S., Passamonti F., et al. Ruxolitinib versus best available therapy in patients with Polycythemia Vera: 80 Week follow up from the RESPONSE trial. *Haematologica*. 2016; 101(7): 821–9. doi:10.3324/haematol.2016.143644
34. Tanashyan M.M., Kuznetsova P.I., Lagoda O.V., Shabalina A.A., Subortseva I.N., Melikyan A.L. Myeloproliferative diseases and ischemic stroke. *Annals of clinical and experimental neurology. Russian Journal (Annaly klinicheskoy i eksperimental'noy neurologii)*. 2014; 8(2): 41–5. (in Russian)
35. Melikyan A.L., Subortseva I.N., Sukanova G.A. Thrombohemorrhagic complications in patients with Ph-negative myeloproliferative diseases. *Russian Journal "Blood" (Krov')*. 2014; 2(1): 21–5. (in Russian)
36. Samuelson B.T., Vesely S.K., Chai-Adisakopha C., Scott B.L., Crowther M., Garcia D. The impact of ruxolitinib on thrombosis in patients with polycythemia vera and myelofibrosis: a meta-analysis. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 2016; 27(6): 648–52. doi:10.1097/MBC.0000000000000446.

Поступила 19.12.17

Принята к печати 29.12.17