

ГЕМАТОЛОГИЯ и ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

2' 2016

КВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В ЯНВАРЕ 1956 ГОДА

АПРЕЛЬ—ИЮНЬ ТОМ 61

Учредитель журнала ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

ПОЧТОВЫЙ АДРЕС РЕДАКЦИИ:

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

ТЕЛЕФОН РЕДАКЦИИ:

+7-495-670-65-94

E-mail: RBeIGT@yandex.ru

Зав. редакцией *М. Ю. Белоусова*

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел./факс +7-495-678-64-84

Ответственность за достоверность информации, содержащейся в рекламных материалах, несут рекламодатели

Редактор *И. Я. Таджикив*

Художественный редактор
М. Б. Белякова

Корректор *Т. Д. Малышева*

Верстка *С. М. Мешкорудникова*

Сдано в набор 20.05.16.

Подписано в печать 02.06.16.

Формат 60 x 88 1/8.

Печать офсетная.

Печ. л. 7,00.

Усл. печ. л. 8,86.

Уч.-изд. л. 7,35.

Заказ 182.

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.ppressa-ru

Подписка на электронную версию

журнала: elibrary.ru

ISSN 0234-5730 (Print).

ISSN 2411-3042 (Online).

Гематология и трансфузиология. 2016.

Т. 61. № 2, 57–112.

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
Голеньков 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:

Абдулкадыров Кудрат Мугутдинович (Санкт-Петербург, Россия), 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 Саиджалола Махмудович (Ташкент, Республика Узбекистан), Идельсон Лев Иосифович (Иерусалим, Израиль), Новак Василий Леонидович (Львов, Украина), Перехрестенко Петр Михайлович (Киев, Украина)



GEMATOLOGIYA i TRANSFUZIOLOGIYA

2' 2016

FREQUENCY 4 ISSUES PER YEAR

HEMATOLOGY AND TRANSFUSIOLOGY

FOUNDED IN 1956

APRIL—JUNE VOL. 61

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, MD, PhD, DSc, prof.; Golenkov 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., MD, PhD, DSc; Tupitsin Nicholay 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

Abdulkadyrov Kudrat M. (St. Petersburg, Russia), 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), Idelson Lev I. (Ierusalim, Israel), Novak Vasily L. (Lviv, Ukraine), Perehrestenko Peter M. (Kiev, Ukraine)

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Соколов А.Н., Клясова Г.А., Кузьмина Л.А., Дроков М.Ю., Обухова Т.Н., Куликов С.М. и Российская группа по изучению ОЛ.* Долгосрочные результаты лечения больных острыми миелоидными лейкозами по протоколу Российского многоцентрового рандомизированного исследования ОМЛ-10..... **60-65**
- Кострома И.И., Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Чубукина Ж.В., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Тиранова С.А., Потихонова Н.А., Абдулкадыров К.М.* Клинико-гематологическая гетерогенность острого миелоидного лейкоза и миелодиспластического синдрома с моносомным карнотипом..... **65-72**
- Петрова Е.В., Мартынкевич И.С., Полушкина Л.Б., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Цыбакова Н.Ю., Клеина Е.В., Шабанова Е.С., Чететкин А.В., Абдулкадыров К.М.* Клинические, гематологические и молекулярно-генетические особенности острых миелоидных лейкозов с мутациями в генах *FLT3*, *CKIT*, *NRAS* и *NPM1*..... **72-80**
- Воробьев А.И., Горгидзе Л.А., Захаров В.Н., Чететкин В.Г., Кременецкая О.С., Шевелев А.А., Шкловский-Корди Н.Е.* Влияние ударно-волнового воздействия микросекундного диапазона на опухолевые клетки..... **81-87**
- Парамонов И.В., Попцов А.Л., Рылов А.В.* Опыт внедрения системы утверждения доноров плазмы для фракционирования..... **87-91**
- Самигулина Г.Р., Спиридонова Е.А., Ройтман Е.В., Самсонова Н.Н., Климович Л.Г., Варнавин О.А., Пасько В.Г., Макаров Р.В.* Различия в состоянии системы гемостаза у выживших и умерших от острого деструктивного панкреатита на ранней стадии заболевания..... **92-96**
- Логина М.А., Парамонов И.В., Татаева З.М., Кабардиева А.И.* Новый аллель локуса HLA-A, A*24:314, выявленный в популяциях Северного Кавказа..... **96-100**

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

- Зайцева Г.А., Киселева А.Н., Парамонов И.В.* Полиморфизм генов *MICA* и *MICB* в комплексе МНС..... **100-104**
- Ватутин Н.Т., Склянная Е.В., Эль-Хатиб М.А., Макарова М.В., Старченко С.В.* Периферические полинейропатии, индуцированные различными химиотерапевтическими агентами: современное состояние проблемы..... **105-109**
- Будневский А.В., Овсянников Е.С., Жусина Ю.Г.* Новые критерии диагностики лейкоемического системного мастоцитоза и миеломастоцитозной лейкемии..... **110-112**

ИНФОРМАЦИЯ

Круглый стол «Достижения и проблемы в лечении гемофилии» приуроченный к Всемирному дню гемофилии. 14 апреля 2016 г., Москва (на 3-й стр. обложки)

CONTENTS

ORIGINAL PAPERS

- Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Sokolov A.N., Klyasova G.A., Kuzmina L.A., Drovkov M.Yu., Obukhova T.N., Kulikov S.M. and Russian Group for the Study of AL.* Long-term results of treatment of patients with acute myeloid leukemia according to the protocol of the Russian multicenter randomized trial of AML-10..... **60-65**
- Kostroma I.I., Gritsaev S.V., Martynkevich I.S., Chubukina Zh.V., Martynenko L.S., Ivanova M.P., Tiranova S.A., Potikhonova N.A., Abdulkadyrov K.M.* Clinico-haematological heterogeneity of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes with monosomal karyotype..... **65-72**
- Petrova E.V., Martynkevich I.S., Polushkina L.B., Martynenko L.S., Ivanova M.P., Tsybakova N.Yu., Kleina E.V., Shabanova E.S., Chechetkin A.V., Abdulkadyrov K.M.* Clinical, hematological and molecular-genetic features of acute myeloid leukemia with mutations in *FLT3*, *CKIT*, *NRAS* and *NPM1*..... **72-80**
- Vorobiev A.I., Gorgidze L.A., Zakharov V.N., Chechetkin V.G., Kremenetskaya O.S., Shevelev A.A., Shklovskiy-Kordi N.E.* Influence of the shock-wave pulses of microsecond-range on tumor cells..... **81-87**
- Paramonov I.V., Poptsov A.L., Rylov A.V.* Experience of implementation of the system of qualification of donors of plasma for fractionation..... **87-91**
- Loginova M.A., Paramonov I.V., Tataeva Z.M., Kabardieva A.I.* New allele A*24:314 for the loci HLA-A identified in populations of the Northern Caucasus..... **92-96**
- Samigulina G.R., Spiridonova E.A., Roitman E.V., Samsonova N.N., Klimovich L.G., Varnavin O.A., Pasko V.G., Makarov R.V.* Differences in the hemostasis in survived and died patients with acute necrotizing pancreatitis..... **96-100**

REVIEWS OF LITERATURE

- Zaitseva G.A., Kiseleva A.N., Paramonov I.V.* Major histocompatibility complex class I chain-related gene A (*MICA*) and B (*MICB*) polymorphism..... **100-104**
- Vatutin N.T., Sklyannaya E.V., El-Khatib M.A., Makarova M.V., Starchenko S.V.* Peripheral neuropathies induced by various chemotherapeutic agents: current state of the problem..... **105-109**
- Budnevskiy A.V., Ovsyannikov E.S., Zhulina Yu.G.* New diagnostic criteria of leukemic systemic mastocytosis and myelomastocytic leukemia..... **110-112**

INFORMATION

Round table "Achievements and challenges in hemophilia care" timed to the world day of hemophilia, 14 April 2016, Moscow

Журнал "Гематология и трансфузиология" входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук, опубликованный в бюллетене ВАК Министерства образования и науки РФ.

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», 2016

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.155.392.8-036.11-08

Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Соколов А.Н., Клясова Г.А., Кузьмина Л.А.,
Дроков М.Ю., Обухова Т.Н., Куликов С.М. и Российская группа по изучению ОЛ

ДОЛГОСРОЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ ПО ПРОТОКОЛУ РОССИЙСКОГО МНОГОЦЕНТРОВОГО РАНДОМИЗИРОВАННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ОМЛ-10

ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия

Российское многоцентровое рандомизированное исследование ОМЛ-10 ставило своей задачей оценку эффективности 2 курсов консолидации – либо (1-я ветвь) с цитарабином в стандартной дозе (7+3), либо (2-я ветвь) – в высокой дозе (ВДЦ 1 г/м² 2 раза в день 1–3 дня) в сочетании с идарубицином (8 мг/м² 3 дня) и митоксантроном (10 мг/м² 3 дня); после выполнения 2 индукционных курсов 7+3 с даунорубицином в дозе 60 мг/м² на введение и последующей поддерживающей терапией 6 курсами 5+5 (цитарабин+6МР).

Материал и методы. С января 2010 по январь 2013 г. в исследование были включены 250 больных ОМЛ из 20 гематологических центров РФ, из них 125 больных (73 женщины и 52 мужчины) в возрасте от 17 до 59 лет (средний возраст 45 лет) были рандомизированы на 1-ю ветвь терапии (здесь лучше ввести R1, R2 и далее их использовать), 125 больных (69 женщин и 56 мужчин) в возрасте от 16 до 60 лет (средний возраст 43 года) – на 2-ю ветвь. 212 больных были включены в анализ, выполненный в сентябре 2015 г. (о 39 больных нет сведений). Цитогенетические данные представлены у 75% больных: на 1-й ветви 17,3% отнесены к благоприятной группе по цитогенетике, 66,7% – промежуточного риска, 16% – неблагоприятного риска; на 2-й ветви – 20; 53,6 и 21,4% соответственно.

Результаты. Достижение полной ремиссии (ПР) наблюдалось у 153 (72,2%) больных, из них резистентность – у 28 (13,2%), смерть в индукции наступила у 31 (14,6%), смерть в полной ремиссии – у 22 (14,4%). Общая выживаемость (ОВ) всех больных в течение 5 лет составила 30,7%, безрецидивная (БрВ) – 32,7%. Различий в ОВ и БрВ у больных при терапии 1-й и 2-й ветви не было: 31,6 и 29,8%; 39,6 и 25,8% соответственно. При достижении ПР после 1-го курса БрВ на 1-й ветви составила 44%, на 2-й ветви – 31%; после 2-го курса – 34 и 20%. В многовариантном анализе (МА, модель Кокса), включавшем пол, возраст, вариант рандомизации, инициальный лейкоцитоз и число тромбоцитов, процент бластных клеток в периферической крови и костном мозге, группу риска по цитогенетике, альбумин и ЛДГ, достижение ПР после 1-го или 2-го курса, выполнение аллогенной ТГСК в 1-й ПР, определены факторы, статистически значимо негативно влиявших на показатели 5-летней ОВ и БрВ: неблагоприятная цитогенетическая группа (HR 1,9; $p = 0,014$ и HR 3,047; $p = 0,0049$ соответственно), достижение ПР после 2-го курса (HR 2,4; $p = 0,003$ и HR 2,3; $p = 0,007$) и невыполнение аллогенной ТГСК в 1-й ПР (HR 4,71; $p = 0,001$ и HR 4,9; $p = 0,006$).

Заключение. Консолидация ВДЦ не имеет преимуществ перед консолидацией с цитарабином в стандартных дозах при использовании высокой суммарной дозы антрациклинов. Высокодозная консолидация не улучшает долгосрочные результаты выживаемости больных из различных групп риска: при достижении ПР после 2-го курса и из промежуточной/неблагоприятной группы риска по цитогенетике. При достижении ПР после 2-го курса химиотерапии только выполнение аллогенной ТГСК позволяет получить долгосрочные результаты, сопоставимые с таковыми в группах благоприятного прогноза.

Ключевые слова: острые миелоидные лейкозы, лечение; долгосрочные результаты; Российское многоцентровое рандомизированное исследование ОМЛ-10.

Для цитирования: Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Соколов А.Н., Клясова Г.А., Кузьмина Л.А., Дроков М.Ю., Обухова Т.Н., Куликов С.М. и Российская Группа по изучению ОЛ. Долгосрочные результаты лечения больных острыми миелоидными лейкозами по протоколу Российского многоцентрового рандомизированного исследования ОМЛ-10. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(2): 60-65. DOI 10.18821/0234-5730-2016-61-2-60-65

*Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Sokolov A.N., Klyasova G.A., Kuzmina L.A., Drovkov M.Yu.,
Obukhova T.N., Kulikov S.M. and Russian Group for the Study of AL*

LONG-TERM RESULTS OF TREATMENT OF PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA ACCORDING TO THE PROTOCOL OF THE RUSSIAN MULTICENTER RANDOMIZED TRIAL OF AML-10

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

The tasks of the Russian multicenter randomized trial of AML-10 were to evaluate of the efficacy of 2 consolidation courses – either (1st branch) with standard dose Cytarabine (7 + 3), or (2nd branch) – at the high dose (HiDAC 1 g/m², twice a day, 1–3 days) in combination with Idarubicin (8 mg/m², 3 days) and mitoxantrone (10 mg/m², 3 days); after administration of 2 courses of induction 7 + 3 with Daunorubicin in a dose of 60 mg/m² on the introduction and subsequent maintenance therapy by 6 courses 5 + 5 (Cytarabine +6MP).

Material and methods. From January 2010 to January 2013 250 AML patients were included in the trial from 20 Hematological Centers of the Russian Federation. 125 of 250 patients (73 women and 52 men) aged 17 to 59 years (mean age: 45 years) were randomized to the 1st branch of therapy and 125 patients (69 women and 56 men) aged between 16 and 60 years (mean age: 43 years) – to the 2nd branch. 212 patients were included in the analysis carried out in September 2015 (there is no data about 39 patients). Cytogenetic data are presented in 75% of patients: in the 1st branch 17.3% of cases were referred to favorable group on cytogenetics, 66.7% cases – to the intermediate risk, and 16% cases – to the negative risk; 2nd branch – 20; 53.6 and 21.4% respectively.

Results. Achievement of complete remission (CR) was observed in 153 (72.2%) of patients, the resistance was in 28 (13.2%), death occurred during induction in 31 (14.6%), death in complete remission – in 22 (14.4%). Five year overall survival rate (OS) was 30.7%, disease-free survival (DFS) rate was 32.7%. There was no difference in OS and DFS in patients in the 1st and 2nd branch of treatment: 31.6 and 29.8%; 39.6 and 25.8% respectively. Upon achievement of CR after the 1 course DFS in the 1st branch was in 44%, in the 2nd branch – 31%. After the 2nd course – 34 and 20%. In multivariate analysis (MA, Cox model), including gender, age, randomization option, initial leukocytosis and platelet count, the percentage of blast cells in the peripheral blood and bone marrow, risk for cytogenetics, albumin and LDH, achievement of CR after the 1st or 2nd course, the performance of allogeneic HSCT in the 1st CR, there were identified factors statistically significantly negative affected on the indices of 5-year OS and DFS: unfavorable cytogenetic group (HR 1.9; $p = 0.014$ and HR 3.047; $p = 0.0049$, respectively), achievement of CR after the 2nd course (HR 2.4; $p = 0.003$ and HR 2.3; $p = 0.007$) and the non-performance of allogeneic HSCT in the 1st CR (HR 4.71; $p = 0.001$ and HR 4.9; $p = 0.006$).

Conclusion. Consolidation HiDAC has no advantage over consolidation with standard doses Cytarabine in using a high cumulative dose of anthracyclines. High-dose consolidation does not improve long-term survival results in patients from the various risk groups: in the achievement of CR after the 2nd course and from the intermediate /unfavorable risk group for cytogenetics. Upon reaching the CR after the 2nd course of chemotherapy just the performance of allogeneic HSCT allows you to get long-term results that are comparable with those in groups of favorable prognosis.

Key words: acute myeloid leukemia; the treatment; long-term results; Russian multicenter randomized trial of AML-10.

For citation: Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Sokolov A.N., Klyasova G.A., Kuzmina L.A., Drovkov M.Yu., Obukhova T.N., Kulikov S.M. and Russian Group for the Study of AL. Long-term results of treatment of patients with acute myeloid leukemia according to the protocol of the Russian multicenter randomized trial of AML-10. *Hematology and Transfusiology, Russian journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2016; 61(2): 60-65. (in Russian). DOI 10.18821/0234-5730-2016-61-2-60-65

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest

Funding. The study had no sponsorship.

Received 14 March 2016

Accepted 10 May 2016

В течение последних полутора десятков лет не подвергается сомнению утверждение о крайне высокой эффективности консолидации полной ремиссии ОМЛ цитарабином в высоких дозах [1]. Чаще всего речь идет о применении 3–4 курсов монотерапии цитарабином после 1–2 курсов индукционных 7+3 и без поддерживающей терапии. Также были опубликованы результаты рандомизированного исследования о преимуществе даунорубина в высоких дозах (90 мг/м² на введение) в программе 7+3, особенно у больных из группы благоприятного и промежуточного прогноза по цитогенетике [2]. Тем не менее необходимость использования цитарабина в высоких дозах при применении в протоколе лечения разных антрациклинов (даунорубина, идарубина) и антрацендиона (митоксантрона) в высокой суммарной дозе (720 мг/м² в перерасчете на даунорубин) не изучена. В связи с этим Российское многоцентровое рандомизированное исследование ОМЛ-10 ставило своей задачей оценку эффективности двух курсов консолидации – либо (1-я ветвь – R1) с цитарабином в стандартной дозе (7+3), либо (2-я ветвь – R2) в высокой дозе (ВДЦ 1 г/м² 2 раза в день 1–3 дня) в сочетании с идарубином (8 мг/м² 3 дня) и митоксантроном (10 мг/м² 3 дня) после выполнения 2 индукционных курсов 7+3 с даунорубином в дозе 60 мг/м² на введение и последующей поддерживающей терапией шестью курсами 5+5 (цитарабин +

6МР). В рамках запланированного исследования предусматривали выполнение трансплантации аллогенного костного мозга всем, кроме больных благоприятной прогностической группы, у кого были доноры и была возможность ее осуществить.

Материал и методы

С января 2010 по июнь 2013 г. в исследование были включены 250 больных ОМЛ из 20 гематологических центров РФ. Детали протокола были опубликованы ранее [3]. 125 больных ОМЛ (73 женщины и 52 мужчины) в возрасте от 17 до 59 лет (средний возраст 45 лет) были рандомизированы на 1-ю ветвь терапии, 125 больных ОМЛ (69 женщин и 56 мужчин) в возрасте от 16 до 60 лет (средний возраст 43 года) – на 2-ю ветвь терапии. Различий по клинико-лабораторным параметрам в группах не обнаружено. Результаты цитогенетического исследования представлены у 75% больных: на 1-й ветви 17,3% отнесено к благоприятной группе по цитогенетике, 66,7% – промежуточного риска, 16% – неблагоприятного риска; на 2-й ветви – 20; 53,6 и 21,4% соответственно. 212 больных были включены в анализ, выполненный в сентябре 2015 г. (о 39 больных нет сведений).

Результаты

Полная ремиссия (ПР) достигнута у 153 (72,2%) больных, резистентность – у 28 (13,2%), смерть в индукции зарегистрирована у 31 (14,6%) больного. На протяжении 20 лет проведения многоцентровых исследований по лечению ОМЛ в России показатель ранней летальности остается крайне высоким.

Для корреспонденции:

Паровичникова Елена Николаевна, доктор медицинских наук, заведующий научно-клиническим отделом химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России. E-mail: elenap@blood.ru.

For correspondence:

Parovichnikova E.N., MD, PhD, DSc, Head of the Clinical Research department Leukemia chemotherapy, depression hematopoiesis and bone marrow transplantation National Hematology Research Center, Moscow. E-mail: elenap@blood.ru.

Information about authors:

Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0003-2935-4040>; Parovichnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>; Troitskaya V.V., <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>; Sokolov A.N., <http://orcid.org/0000-0003-0337-4027>; Klyasova G.A., <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>; Kuzmina L.A., <http://orcid.org/0000-0001-6201-6276>; Drovkov M.Yu., <http://orcid.org/0000-0001-9431-8316>.

Таблица 1

**Результаты индукционного лечения больных ОМЛ
в исследовании ОМЛ-01.10**

Результат	Рандомизация				Всего (n = 212)	
	R1 (n = 109)		R2 (n = 103)			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Полная ремиссия	76	69,7	77	74,5	153	72,2
Резистентность	13	11,9	15	15,5	28	13,2
Ранняя летальность	20	18,3	11	10	31	14,6
Смерть в ремиссии	11 из 76	14,5	11 из 77	14,3	22 из 153	14,4

Конечно, это общий показатель по всем центрам, принимающим участие в исследовании, но, к сожалению, он отражает состояние сопроводительной терапии преимущественно в региональных центрах. В Координационном центре (ГНЦ Минздрава России) показатель летальности в период индукции составил 2,9% [3].

Результаты индукционной терапии в зависимости от ветви рандомизации представлены в **табл. 1**. После достижения ПР смерть наступила у 22 (14,4%) из 153 больных (общий показатель), при этом, если оценивать только показатели Координационного центра, то постремиссионная летальность фактически в 2 раза ниже – 6,9% [3]. Следует отметить, что смерть в ПР на обеих ветвях исследования одинакова, и ее показатель также достаточно высокий. Если суммировать показатели летальности в период индукции и в постремиссионный период, то оказывается, что фактически треть больных ОМЛ умирают от причин, связанных собственно с лечением.

Общая выживаемость (ОВ) в течение 5 лет всех больных составила 30,7%, безрецидивная (БрВ) – 32,7% (**рис. 1**). Полученные в настоящем исследовании показатели долгосрочной выживаемости несколько лучше тех, которые были получены ранее. В последних российских многоцентровых исследованиях ОМЛ-01.01 и ОМЛ-06.06 ОВ составляла 25,5 и 25%, а БрВ – 25 и 29% [4, 5].

Сопоставляя результаты анализируемого контролируемого клинического исследования с результатами так называемой рутинной практики гематологических отделений крупнейшего мегаполиса страны,

можем заключить, что даже не столь оптимистичные приведенные показатели выживаемости исследования ОМЛ-10 существенно превышают все показатели гематологических отделений, работающих в общей практике. Доля достижения ПР у больных в группе интенсивной терапии составила лишь 48%, а 4-летняя ОВ – 18%. При этом следует отметить достаточно высокую БрВ этих больных – 36%. Авторы московского исследования также с досадой подчеркивают, что ни одному больному ОМЛ не выполнена аллогенная ТКМ в первой ПР [6].

При сравнении долгосрочных результатов у больных 1-й и 2-й ветви различий в ОВ и БрВ не обнаружено: 31,6 и 29,8%; 39,6 и 25,8% соответственно (**рис. 2, 3**). Полученные результаты с очевидностью демонстрируют одинаковую эффективность двух видов консолидации – стандартной и высокодозной, и позволяют прийти к заключению, что в рамках проводимого исследования курсы ВДЦ в сочетании с антрациклинами не имеют никаких преимуществ перед классическим протоколом 7+3. Эти результаты, с нашей точки зрения, соответствуют заключению, сделанному 5 лет назад общегерманской исследовательской группой: долгосрочная 5-летняя ОВ больных ОМЛ была одинаковой независимо от суммарной дозы цитарабина, вида антрациклинового антибиотика, доли выполненных аллогенных ТКМ и составляла 41,5–47,5% во всех 6 сравниваемых группах [7]. Этот факт означает, что при соблюдении принципа доза–интенсивность вариации цитостатического воздействия принципиально не изменяют эффективность лечения ОМЛ.

В нашем исследовании при достижении ПР после 1-го курса БрВ на 1-й ветви терапии составила 44%, на 2-й ветви – 31%; после 2-го курса – 34 и 20%, что свидетельствует о том, что ВДЦ не изменяют долгосрочную эффективность при позднем достижении ПР.

На протоколе ОМЛ-10 подразумевалось выполнение трансплантации аллогенного костного мозга (аллогенная ТКМ) у больных в первой ремиссии. Если в предшествующих исследованиях (ОМЛ-01.10 и ОМЛ-06.06) доля больных, которым была выполнена аллогенная ТКМ, была крайне невелика и составляла 2%, то в настоящем исследовании в общей слож-

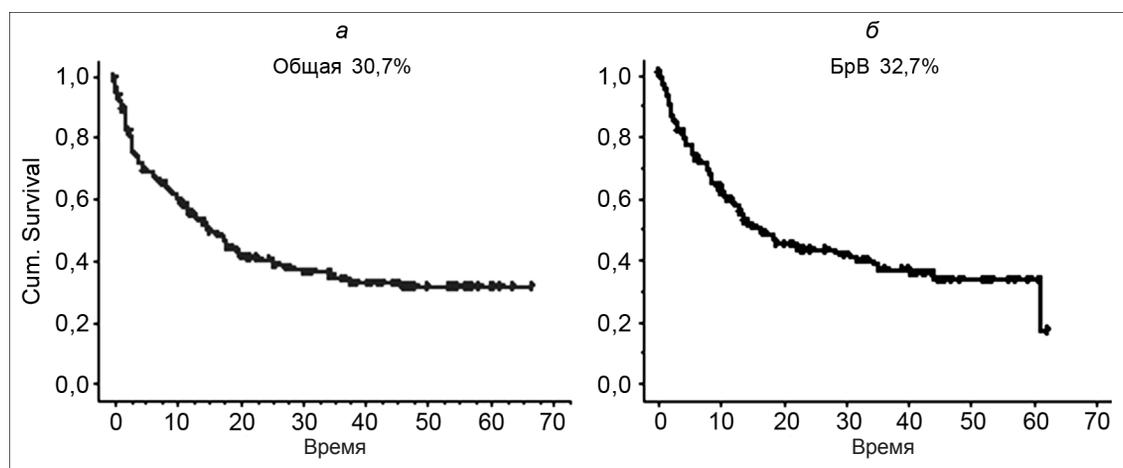


Рис. 1. Общая (а) и безрецидивная (б) выживаемость всех больных, включенных в исследование.

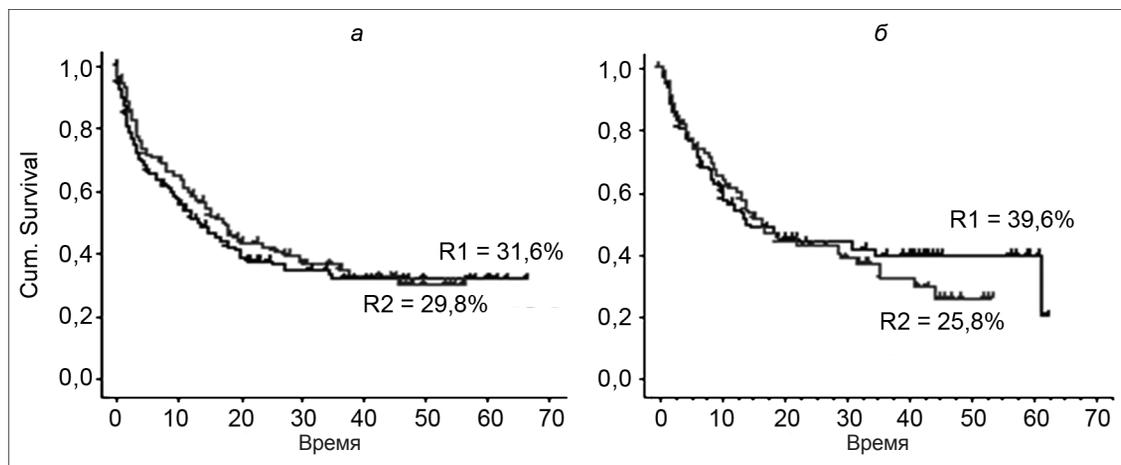


Рис. 2. Общая (а) и безрецидивная (б) выживаемость больных, рандомизированных на разные ветви исследования.

ности выполнено 30 (14%) аллогенных ТКМ у 212 больных, из них 17 (11,1%) из 153 в первой ПР. Не вызывает сомнения необходимость выполнения аллогенной ТКМ практически всем больным ОМЛ, и целесообразно это делать в период первой ремиссии. Международные эксперты рекомендуют подходить к выполнению этого этапа лечения в достаточной степени избирательно. Например, даже в рамках группы благоприятного прогноза по молекулярно-генетическим маркерам аллогенную ТКМ можно рассматривать как этап лечения в первой ПР – у больных с $t(8;21)$ и лейкоцитозом $20 \times 10^9/\text{л}$ и более. У больных благоприятной группы обязательным является и достижение ПР после 1-го курса терапии, иначе группа прогноза оценивается как промежуточная и вопрос о выполнении аллогенной ТГСК у них должен рассматриваться в период первой ПР. Европейские эксперты не сомневаются, что нецелесообразно выполнять аллогенную ТКМ в первой ПР только у больных, у которых при $t(8;21)$ нет лейкоцитоза более $20 \times 10^9/\text{л}$, больных с инверсий 16 хромосомы, у больных с нормальным кариотипом и биаллельной мутацией гена *CEBPA* или мутацией гена *NPM1*, но без мутации гена *FLT3*, при достижении у этих больных ремиссии после первого курса индукции и при отсутствии минимальной резидуальной болезни (МРБ) [7].

Если обсуждать не итоги клинических исследований, а именно реальную практику, то заключение общегерманской группы о том, что в рамках их многоцентрового исследования доля выполненных аллогенных ТКМ не определяла результаты долгосрочной выживаемости (она варьировала от 19 до 33%), может быть поставлено под сомнение. По оценке Шведского популяционного регистра, в том регионе, где доля аллогенных ТКМ составила не 22% как в пяти других, а 46%, общая 5-летняя выживаемость больных ОМЛ превысила 50%. При этом в оставшихся пяти регионах она была совершенно одинаковой и в 2 раза ниже – 20–32% [8]. Хотелось бы подчеркнуть, что при достаточно высокой интенсивности химиотерапевтического воздействия в нашем исследовании ОВ больных хуже (31%), чем в общенемецком 41,5–47,5%; но и доля выполненных аллогенных ТКМ была всего 14%.

Российские эксперты при рассмотрении Российских клинических рекомендаций по лечению ОМЛ в возрасте до 60 лет учитывали, что комплексная оценка группы прогноза у больных ОМЛ в нашей стране осуществляется лишь у незначительной части пациентов, в клинические исследования подавляющее большинство больных не включается, и вследствие этого было принято решение о необходимости рассматривать возможность выполнения аллогенной

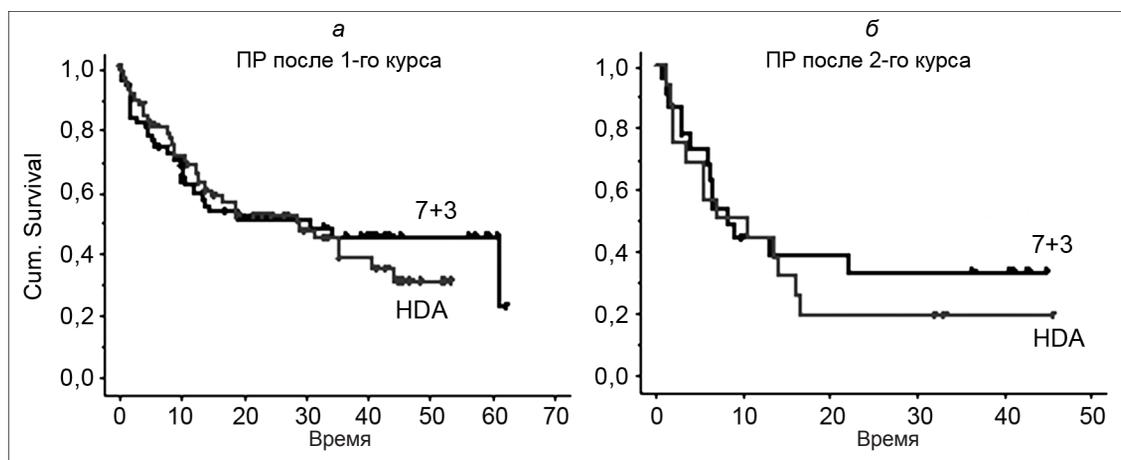


Рис. 3. Безрецидивная выживаемость больных, рандомизированных на разные ветви исследования, в зависимости от времени достижения ПР: после 1-го курса (а) и после 2-го курса (б).

Таблица 2

Результаты многовариантного анализа (модель Кокса)

Параметр МА	Выживаемость	HR	p
Группа риска по цитогенетике	Общая	1,9	0,014
	Безрецидивная	3,047	0,0049
Достижение ПР после 1-го или 2-го курса	Общая	2,4	0,003
	Безрецидивная	2,3	0,007
Выполнение алло-ТГСК в 1-й ПР	Общая	4,71	0,001
	Безрецидивная	4,9	0,006

ТКМ у **всех** больных ОМЛ, у кого получена первая ПР [9].

В настоящем исследовании мы включили факт выполнения аллогенной ТКМ в период первой ПР в анализ факторов риска. В многовариантном анализе (МА, модель Кокса), включившем пол, возраст, вариант рандомизации, инициальный лейкоцитоз и число тромбоцитов, процент бластных клеток в периферической крови (ПК) и костном мозге (КМ), группу риска по цитогенетике, альбумин и ЛДГ, достижение ПР после 1-го или 2-го курса, выполнение аллогенной ТГСК в 1-й ПР, определены факторы, статистически значимо негативно влиявшие на показатели 5-летней ОВ и БрВ: неблагоприятная цитогенетическая группа, достижение ПР после 2-го курса и невыполнение аллогенной ТГСК в 1-й ПР (табл. 2).

При достижении ПР после 2-го курса применение ВДЦ в консолидации не изменяет в целом неблагоприятный прогноз, и только выполнение аллогенной ТГСК позволяет изменить долгосрочные результаты в лучшую сторону (рис. 4).

К сожалению, все анализируемые группы невелики, и сделанные заключения по собственным данным могут показаться не столь весомыми. Тем не менее исследовательской группе представляется крайне важным подчеркнуть необходимость задумываться о выполнении аллогенной ТКМ фактически у всех больных ОМЛ, начинать поиск и типирование доноров как можно раньше. Идеальным представляется типирование больного и его потенциальных доноров (родные братья и сестры) еще до начала 1-го индукционного курса химиотерапии; в крайнем случае – перед 2-м курсом индукции.

Таким образом, консолидация ВДЦ не имеет преимуществ перед консолидацией с цитарабином в стандартных дозах при использовании высокой суммарной дозы антрациклинов. Высокодозная консолидация не улучшает долгосрочные результаты выживаемости больных из разных групп риска: при достижении ПР после 2-го курса и из промежуточной/неблагоприятной группы риска по цитогенетике. При достижении ПР после 2-го курса химиотерапии только выполнение аллогенной ТГСК позволяет получить долгосрочные результаты, сопоставимые с таковыми в группах благоприятного прогноза. Рекрутирование больных в исследование по протоколу ОМЛ-01.10 было завершено летом 2013 г. По результатам выполненного исследования в настоящее время в ФГБУ ГНЦ МЗ РФ больным проводят лечение в соответствии с первой ветвью рандомизации (R1). Всем больным из группы промежуточного и плохого

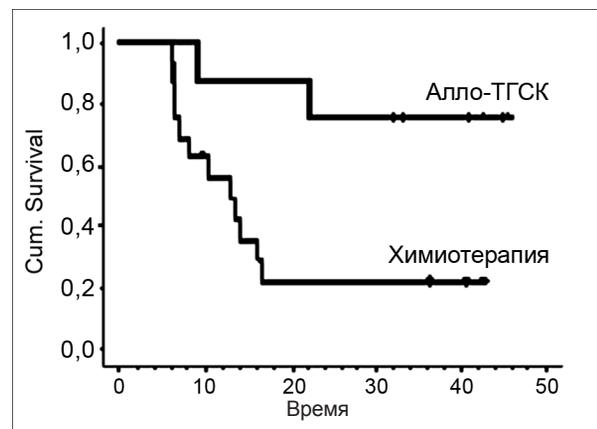


Рис. 4. Безрецидивная выживаемость больных, у которых ПР была достигнута после 2-го курса индукции, в зависимости от реализации аллогенной ТГСК (ландмарк-анализ – включены больные прожившие в ПР 6 мес).

риска по цитогенетическим критериям, а также всем больным, у которых ПР получена после 2-го курса индукции, осуществляют поиск НЛА-совместимого донора (родственного или неродственного) с целью выполнения аллогенной ТГСК в период первой ПР. Анализируя опыт работы координационного центра и муниципальных городских отделений гематологии, следует сделать вывод о крайней необходимости у всех больных ОМЛ рассматривать вопрос о возможности выполнения аллогенной ТКМ в первой ПР.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

3. Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Клясова Г.А., Кузьмина Л.А., Соколов А.Н., Парамонова Е.В. и др. Лечение острых миелоидных лейкозов по протоколу российского многоцентрового рандомизированного исследования ОМЛ-01.10: результаты координационного центра. *Терапевтический архив*. 2014; 86(7):14–23.
4. Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г., Клясова Г.А., Исаев В.Г., Соколов А.Н., Куликов С.М. и др. Токсичность различных протоколов лечения острых миелоидных лейкозов взрослых: результаты четырех российских многоцентровых исследований. *Терапевтический архив*. 2010; 82(7): 5–11.
5. Соколов А.Н., Паровичникова Е.Н., Куликов С.М. Долгосрочные результаты лечения острых миелоидных лейкозов у взрослых в многоцентровом клиническом исследовании ОМЛ 06.06. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2012; 5(1): 30–8.
6. Семочкин С.В., Толстых Т.Н., Архипова Н.В., Иванова А.Л., Ключева О.В., Лунин О.В. и др. Клинические и эпидемиологические характеристики острых миелоидных лейкозов у взрослых больных по результатам работы муниципальных городских гематологических отделений г. Москвы. *Терапевтический архив*. 2015; 87(7): 26–32.
10. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Афанасьев Б.В., Грицаев С.В., Семочкин С.В., Бондаренко С.Н., Троицкая В.В. и др. Клинические рекомендации Российских экспертов по лечению больных острыми миелоидными лейкозами в возрасте моложе 60 лет. *Терапевтический архив*. 2014; 86(7): 4–13.

Остальные источники литературы см. в References

REFERENCES

1. Löwenberg B., Pabst T., Vellenga E., van Putten W., Schouten H.C., Graux C., et al.; Dutch-Belgian Cooperative Trial Group for Hemato-Oncology (HOVON) and Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK) Collaborative Group. Cytarabine dose for acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364(11): 1027–36. doi: 10.1056/NEJMoal1010222
2. Fernandez H.F., Sun Z., Yao X., Litzow M.R., Luger S.M.,

- Paietta E.M., et al. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia *N. Engl. J. Med.* 2009; 361(13):1249–59. doi: 10.1056/NEJMoa0904544.
- Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Klyasova G.A., Kuzmina L.A., Sokolov A.N., Paramonova E.V., et al. Treating patients with acute myeloid leukemias (AML) according to the protocol of the AML-01.10 Russian multicenter randomized trial: the Coordinating Center's results. *Therapeutic archive. Russian Journal (Terapevticheskiy Arkhiv)*. 2014; 86(7):14–23. (in Russian)
 - Parovichnikova E.N., Savchenko V.G.¹, Klyasova G.A., Isayev V.G., Sokolov A.N., Kulikov S.M., et al. Toxicity of different treatment protocols for acute myeloid leukemias in adults: the results of four Russian multicenter studies. *Therapeutic archive. Russian Journal (Terapevticheskiy Arkhiv)*. 2010; 82(7): 5–11. (in Russian)
 - Sokolov A.N., Parovichnikova E.N., Kulikov S.M., Klyasova G.A., Troitskaya V.V., Kokhno A.V., et al. Long-term results of adult acute myeloid leukemia treatment in multicenter clinical trial AML 06.06. *Clinical Oncohematology. Basic Research and Clinical Practice. Russian Journal (Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2012; 5(1): 30–8. (in Russian)
 - Semochkin S.V., Tolstykh T.N., Arkhipova N.V., Ivanova V.L., Klyueva O.V., Lunin V.V., et al. Clinical and epidemiological characteristics of acute myeloid leukemias in adults according to the data of municipal hematology departments in Moscow. *Therapeutic archive. Russian Journal (Terapevticheskiy Arkhiv)*. 2015; 87(7): 26–32. (in Russian)
 - Buchner T., Schlenk R.F., Schaich M., Dohner K., Krahl R., Krauter J., et al. Acute Myeloid Leukemia (AML): different treatment strategies versus a common standard arm-combined prospective analysis by the German AML Intergroup. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30(29): 3604–10. doi: 10.1200/JCO.2012.42.2907
 - Cornelissen J.J., Gratwohl A., Schlenk R.F., Sierra J., Bornhäuser M., Juliusson G., et al. The European LeukemiaNet AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2012; 9(10): 579–90. doi:10.1038/nrclinonc.2012.150.
 - Juliusson G., Lazarevic V., Horstedt A.S., Hagberg O., Hoglund M.; Swedish Acute Leukemia Registry Group. Acute myeloid leukemia in the real world: why population-based registries are needed. *Blood*. 2012; 119(17): 3890–9. doi:10.1182/blood-2011-12-379008.
 - Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Afanasiev B.V., Gritsaev S.V., Semochkin S.V., Bondarenko S.N., Troitskaya V.V., et al. Russian experts clinical guidelines for acute myeloid leukemia treatment in patients less than 60 years of age. *Therapeutic archive. Russian Journal (Terapevticheskiy Arkhiv)*. 2014; 86(7): 4–13. (in Russian)

Поступила 14.03.16

Принята к печати 10.05.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК УДК 616.155.392.8-036.11:575.224.23]-07

Кострома И.И., Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Чубукина Ж.В., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Тиранова С.А., Потихонова Н.А., Абдулкадыров К.М.

КЛИНИКО-ГЕМАТОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ И МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ С МОНОСОМНЫМ КАРИОТИПОМ

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА России, 193024, г. Санкт-Петербург, Россия

Моносомный кариотип – крайне неблагоприятный вариант хромосомных aberrаций у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и миелодиспластическими синдромами (МДС). Для обнаружения клинических и лабораторных параметров, ассоциированных с моносомным кариотипом, проведен ретроспективный анализ данных 76 больных (43 больных ОМЛ и 33 больных МДС). Не выявлено показателей, характерных для случаев с моносомным кариотипом. Медиана общей выживаемости больных ОМЛ и МДС составила 6 и 8 мес соответственно. Вместе с тем у отдельных больных отмечено относительно благоприятное течение ОМЛ и МДС.

Ключевые слова: острые миелоидные лейкозы; миелодиспластические синдромы; моносомный кариотип.

Для цитирования: Кострома И.И., Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Чубукина Ж.В., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Тиранова С.А., Потихонова Н.А., Абдулкадыров К.М. Клинико-гематологическая гетерогенность острых миелоидных лейкозов и миелодиспластических синдромов с моносомным кариотипом. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(2): 65-72. DOI:10.18821/0234-5730-2016-61-2-65-72

Kostroma I.I., Gritsaev S.V., Martynkevich I.S., Chubukina Zh.V., Martynenko L.S., Ivanova M.P., Tiranova S.A., Potikhonova N.A., Abdulkadyrov K.M.

CLINICO-HAEMATOLOGICAL HETEROGENEITY OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA AND MYELODYSPLASTIC SYNDROMES WITH MONOSOMAL KARYOTYPE

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St.Petersburg, 193024, Russian Federation

Monosomal karyotype is the extremely poor variant of chromosomal aberrations in patients with acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndromes (MDS). Retrospective analysis of 43 AML and 33 MDS patients was performed to determine typical clinical and hematological features of chromosomal karyotype. No characteristics typical for monosomal karyotype were found. Median of overall survival of AML and MDS patients was 6 and 8 months accordingly. At the same time some patients had relatively favorable course of their disease.

Keywords: acute myeloid leukemia; myelodysplastic syndromes; monosomal karyotype.

For citation: Kostroma I.I., Gritsaev S.V., Martynkevich I.S., Chubukina Zh.V., Martynenko L.S., Ivanova M.P., Tiranova S.A., Potikhonova N.A., Abdulkadyrov K.M. Clinico-haematological heterogeneity of acute myeloid leukemias and myelodysplastic syndromes with monosomal karyotype. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2016; 61(2): 65-72. (in Russian). DOI:10.18821/0234-5730-2016-61-2-65-72

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest
Funding. The study had no sponsorship.

Received 25 May 2015
Accepted 10 May 2016

Кариотип – один из значимых прогностических факторов у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и миелодиспластическими синдромами (МДС) [1–3]. Обнаружение хромосомных aberrаций у основной части больных ОМЛ и МДС сделали цитогенетический метод исследования наиболее распространенным способом оценки биологических свойств лейкозных клеток. При этом основной целью изучения кариотипа является обнаружение поломок, ассоциированных с неблагоприятным прогнозом, т.е. с низкой эффективностью индукционных курсов, высокой частотой развития рецидивов и короткой выживаемостью.

Многообразие цитогенетических поломок у больных ОМЛ и МДС объясняет интерес к изучению прогностической ценности отдельных хромосомных aberrаций и их многочисленных комбинаций. Пример – существенное расширение списка хромосомных aberrаций и прогностических групп в новой редакции International Prognostic Scoring System (IPSS-Revised) [3]. Другой пример – выделенный в 2008 г. новый, так называемый моносомный вариант кариотипа. Согласно определению, моносомный кариотип представлен: 1) комбинацией не менее двух

аутосомных моносомий (**рис. 1**) или 2) комбинацией одной аутосомной моносомии (за исключением изолированной потери X или Y хромосомы) с одной и более структурными aberrациями (**рис. 2**) [4].

Повышенный интерес к случаям с моносомным кариотипом обусловлен низкой эффективностью лечения: 5-летняя выживаемость взрослых больных ОМЛ не превышает 5% [4–9].

Предполагается, что ухудшение результатов терапии следствие нестабильности генома лейкозных клеток из-за многочисленных хромосомных поломок, активации механизмов множественной лекарственной резистентности, повреждения гена *TP53*. Не менее важным фактором, усиливающего негативный эффект моносомного кариотипа, является возраст. Во многих исследованиях был продемонстрирован рост случаев моносомного кариотипа среди больных старше 60 лет [4, 5, 10–13].

Независимо от причин, обуславливающих неблагоприятное влияние моносомного кариотипа на эффективность лечения, следует признать, что выявление моносомного кариотипа должно быть основанием для кардинального изменения тактики лечения. Это не только ранние сроки проведения трансплантации

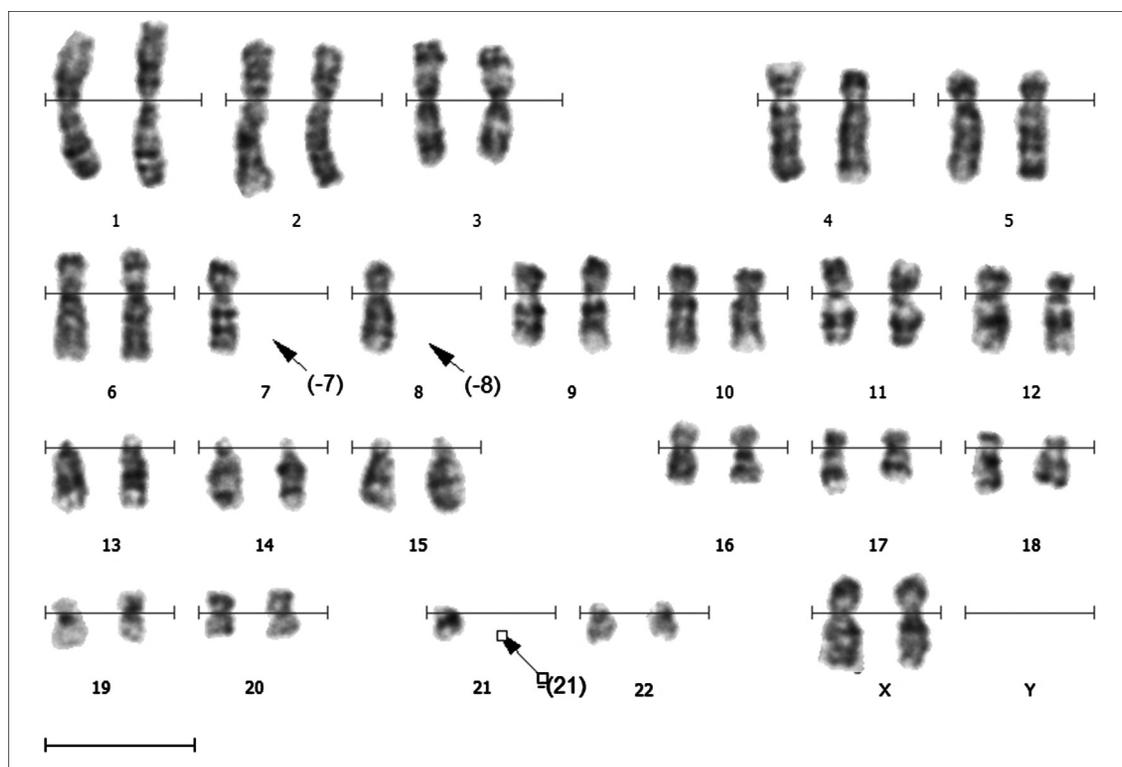


Рис. 1. Кариограмма: 43,XX,-7,-8,-21.

Для корреспонденции:

Кострома Иван Иванович, младший научный сотрудник клинического отдела «Гематология» ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА России, 193024, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: obex@rambler.ru.

For correspondence:

Kostroma Ivan I., junior researcher of the Department of Hematology of the Russian Institute of Hematology and Transfusiology, St.Petersburg, 193024, Russian Federation. E-mail: obex@rambler.ru.

Information about authors:

Kostroma I.I., <http://orcid.org/0000-0003-3768-0831>; *Gritsaev S.V.*, <http://orcid.org/0000-0001-7586-4709>; *Martynkevich I.S.*, <http://orcid.org/0000-0001-5958-0490>; *Chubukina Zh.V.*, <http://orcid.org/0000-0002-3888-7407>; *Martynenko L.S.*, <http://orcid.org/0000-0003-1428-3059>; *Ivanova M.P.*, <http://orcid.org/0000-0001-5450-2944>; *Tiranova S.A.*, <http://orcid.org/0000-0002-2919-1459>; *Potichonova N.A.*, <http://orcid.org/0000-0002-9445-7452>; *Abdulkadyrov K.M.*, <http://orcid.org/0000-0002-3771-909X>.

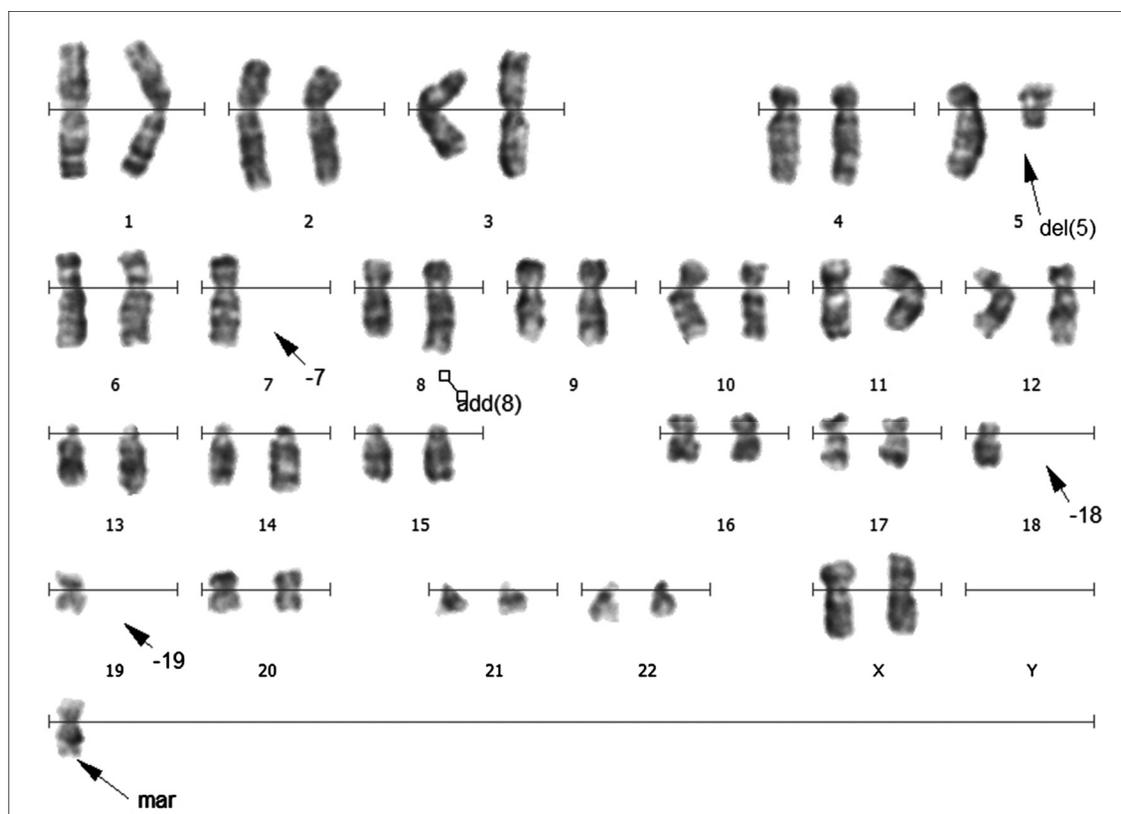


Рис. 2. Кариограмма: 44,XX,del(5)(q12q33),-7,add(8)(q24),-18,-19,+mar.

аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [14]. Необходимо применять и иные, нежели стандартные, индукционные схемы [15].

В связи с этим актуальным является поиск клинико-гематологических маркеров, обнаружение которых позволяло бы заподозрить наличие у больного моносомного кариотипа и инициировать лечение по резервным схемам еще до получения результатов цитогенетического исследования.

Цель данного исследования – обнаружение клинических и лабораторных показателей и/или их сочетаний, характерных для больных ОМЛ и МДС с моносомным кариотипом, и обоснование целесообразности разработки отдельных протоколов для лечения больных ОМЛ и МДС с моносомным кариотипом.

Материал и методы

Выполнено ретроспективное исследование по данным, находящимся в историях болезни. Критерии включения: возраст 17 лет и старше; подписанное информированное согласие на обследование и лечение; наличие в истории болезни записи о возможной предшествующей цитостатической и/или лучевой терапии; заготовка костного мозга для цитогенетического исследования до начала лечения цитостатиками или гипометилирующими препаратами.

Критерием исключения были транслокации t(8;21) и t(15;17), а также инверсия 16 хромосомы.

Диагностику ОМЛ и МДС осуществляли по критериям классификации ВОЗ [16].

Имунофенотипирование бластных клеток костного мозга (КМ) проводили в пятицветном анализе на лазерном проточном цитофлуориметре Cytomics FC 500 ("Beckman Coulter", США) с использованием панели моноклональных антител ("Beckman Coulter", США), меченных разными

флюорохромами к поверхностным и внутриклеточным дифференцировочным антигенам миеломоноцитарного и лимфоидного ряда.

Кариотип изучали стандартным GTG-методом. Комплексный кариотип устанавливали при обнаружении 3 независимых хромосомных aberrаций и более.

Эффективность терапии оценивали по критериям Рабочей международной группы [17, 18].

Статистическую обработку данных проводили посредством программ Microsoft Excel и Statistica. Общую выживаемость (ОВ) рассчитывали от момента диагностики заболевания до даты смерти или последнего контакта с больным. Для построения кривой Каплана–Майера использовали данные больных с периодом наблюдения не менее 6 мес.

Результаты

Согласно заданным критериям включения были отобраны истории болезни 76 больных, включая 43 больных ОМЛ (16 мужчин и 27 женщин) в возрасте от 17 до 84 лет (медиана возраста 64 года) и 33 больных МДС (20 мужчин и 13 женщин) в возрасте от 28 лет до 81 года (медиана возраста 63 года). В возрасте 60 лет и старше больных ОМЛ было 27 (62,8%), больных МДС – 22 (66,7%). Характеристика больных представлена в **таблице**.

Вторичный ОМЛ был верифицирован у 5 (11,6%) больных.

Распределение по морфологическим вариантам было следующим. Миелоидные варианты диагностированы у 25 больных, варианты с моноцитарной природой бластных клеток – у 10, острый эритроидный лейкоз – у 7, острый мегакариоцитарный лейкоз – у 1 больного.

Имунофенотип бластных клеток соответствовал конкретному морфологическому варианту ОМЛ.

Характеристика больных ОМЛ и МДС с моносомным кариотипом

Показатель	ОМЛ	МДС
Число больных	43	33
Мужчины	16 (37,2%)	20 (60,6%)
Медиана возраста (разброс), годы	64 (17–84)	63 (28–81)
Больные в возрасте 60 лет и старше	27 (62,8%)	22 (66,7%)
Вторичный ОМЛ и МДС	5 (11,6%)	3 (9,1%)
Морфологические варианты ОМЛ:		
миелоидный	25	
монобластный	10	
эритроидный	7	
мегалобластный	1	
Морфологические варианты МДС:		
без избытка бластных клеток		3
с избытком бластных клеток		30
Комплексный кариотип	35 (81,4%)	29 (87,9%)
Моносомия 7	12 (27,9%)	5 (15,2%)
Моносомия 5	10 (23,2%)	10 (30,3%)
Моносомия 3	9 (20,9%)	
Моносомия 17	9 (20,9%)	
Моносомия 18	9 (20,9%)	7 (21,2%)

Коэкспрессии антигенов дифференцировки других клеточных линий, часто обнаруживаемых у основной части обследованных больных, не выявлено.

Число моносомий у одного больного варьировало от 1 до 7. При этом случаи с 3 моносомиями и более чаще обнаруживались у больных старше 60 лет (44,4%) против 18,8% среди больных моложе 60 лет ($p = 0,087$).

Наиболее часто выявляли моносомии 7 – у 12 (27,9%) и 5 – у 10 (23,2%) больных. Следующими по частоте были моносомии 3, 17 и 18, каждую обнаруживали у 9 (20,9%) больных. Важно отметить, что первые четыре из указанных моносомий были более частой находкой среди больных старше 60 лет.

У 35 (81,4%) больных были выявлены множественные хромосомные aberrации, соответствующие комплексному кариотипу.

Эффективность терапии и ОВ были оценены по данным наблюдения за 37 больными ОМЛ. Общая выживаемость составила 6 мес (рис. 3).

Принимая во внимание ретроспективный характер исследования, необходимо отметить факт назначения разной по интенсивности цитостатической терапии. 21 больному с медианой возраста 53 года лечение начинали с индукционных курсов «7 + 3». Большинство из них в дальнейшем получали курсы с высокодозным цитарабином (Ара-Ц). В этой группе полная ремиссия (ПР) была констатирована у 9 больных, из них у 4 развился ранний рецидив, т.е. резистентными к стандартной химиотерапии были 16 (76,2%) больных.

Другим 16 больным назначали один из вариантов терапии низкой интенсивности, включая малые дозы Ара-Ц и гипометилирующие препараты. Медиана возраста больных в этой группе составила 71 год. Ответа на терапию не было ни у одного из больных.

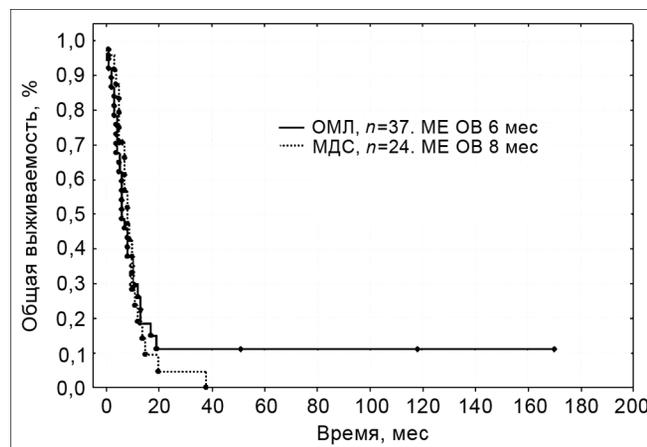


Рис. 3. Общая выживаемость больных ОМЛ и МДС с моносомным кариотипом.

Относительно благоприятное течение ОМЛ с длительностью безрецидивного периода от 10 до 170 мес констатировано только у 6 (16,2%) из 37 больных. Эти больные получали стандартные индукционные и консолидирующие курсы, включая алло-ТГСК (1 больная). При этом число aberrаций варьировало от 2 до 9. Не выявлено неслучайных хромосомных поломок, т.е. повторяющихся от больного к больному, так же как ни в одном случае не обнаружено aberrации с вовлечением региона 17p13, являющегося местом локализации гена-супрессора опухоли *TP53*.

Анализ данных больных МДС

Назначение предшествующей диагностике МДС химиотерапии и/или лучевой терапии было у 3 (9,1%) больных.

Относительно благоприятные морфологические варианты, а именно рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами и рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией, были диагностированы у 3 (9,1%) больных. У остальных 30 (90,9%) больных выявлены варианты с избыточным содержанием бластных клеток в костно-мозговом пунктате.

Число моносомий, находившееся в диапазоне от 1 до 4, не зависело от возраста больных. Наиболее частыми находками были моносомии 5 – у 10 (30,3%), 18 – у 7 (21,2%), 7 – у 5 (15,2%) больных. При этом тенденции к более частому обнаружению отдельных моносомий у больных определенных возрастных групп не отмечено. Комплексный кариотип был верифицирован у 29 (87,9%) больных.

Для вычисления ОВ были использованы данные наблюдения за 24 больными. Медиана ОВ составила 8 мес (рис. 3).

Больные МДС получали разные виды терапевтического пособия, выбор которого зависел от количества бластных клеток в миелограмме, тяжести цитопении, клеточности костного мозга, возраста и соматического статуса. Стандартная комбинация Ара-Ц с антрациклинами в качестве 1-й линии терапии была назначена 6 больным. Терапию низкой интенсивности, включая курсы децитабина, малых доз Ара-Ц и алкерана, получали 12 больных. Остальным 6 больным в качестве 1-й линии назначали иммуносупрессивные, эритропоэстимулирующие и антицитокиновые препараты.

Терапия была эффективной только у 2 больных. Морфологическая ПР у одного больного была достигнута после первого 5-дневного курса внутривенного введения децитабина [19], у другого – после индукционного курса «7 + 3», включающего митоксантрон. У обоих больных так же, как и среди больных ОМЛ с благоприятным течением (см. выше), не было делеции 17p13, но при этом имелась моносомия 17. Длительность ремиссии была кратковременной.

Более длительный период наблюдения отмечен у 2 больных (20 и 38 мес), у которых при диагностике МДС не было избытка костномозговых бластных клеток.

Обсуждение

Многообразие патобиологических механизмов, провоцирующих возникновение и развитие ОМЛ и МДС, проявляется вариабельностью морфологических, иммунофенотипических, молекулярно-генетических находок, а также разной чувствительностью лейкозных клеток к химиопрепаратам. Преодолению лекарственной резистентности способствует комбинация препаратов разного механизма действия и/или увеличение разовых и суммарных доз отдельных цитостатиков в индукционном и постремиссионном периодах до уровня, сопряженного с миелоаблативным эффектом.

В рутинной гематологической практике необходимость интенсифицировать терапию основывается на результатах стратификации. Прогнозирование низкой эффективности стандартных индукционных курсов или высокой вероятности возникновения раннего рецидива со всеми вытекающими последствиями обосновывает целесообразность проведения агрессивной терапии, несмотря на то что одновременно возрастает частота и тяжесть токсических осложнений.

Для выделения больных с неблагоприятным течением ОМЛ и МДС используют целый ряд лабораторных показателей, включая результаты цитогенетического исследования. Особенностью кариотипа как фактора риска является то, что он используется не только как составляющая часть прогностических систем, но в отличие от большинства других маркеров может быть самостоятельным фактором прогноза [1–3].

Согласно шкале IPSS-R [3], неблагоприятное течение МДС ассоциировано с моносомией 7, $inv(3)/t(3q)/del(3q)$, двойной абберацией с $-7/7q-$, тремя независимыми хромосомными абберациями. При возрастании числа аббераций до 4 и более прогноз ухудшается в большей степени и кариотип переходит в следующую группу очень плохого прогноза [3].

У больных ОМЛ неблагоприятные абберации представлены $inv(3)(q21q26.2)$ или $t(3;3)(q21;q26.2)$, $t(6;9)(p23;q34)$, $t(v;11)(v;q23)$, моносомией или делецией длинного плеча 5-й хромосомы, моносомией 7, абберацией короткого плеча 17-й хромосомы, комплексным кариотипом с 3 хромосомными абберациями и более. В последнем случае не должно быть случайных аббераций, например $t(8;21)$, $t(15;17)$ или $inv(16)$ [2].

Несмотря на значительный список, поиск цитогенетических аномалий, сопряженных с ухудшением результатов лечения больных миелоидными неоплазиями, продолжается [20]. Наиболее яркой находкой последних лет является сообщение D. Vreems и соавт. [4]. Проанализировав кариотип 1975 больных в возрасте 15–60 лет с впервые диагностированным ОМЛ, авторам удалось выделить группу из 184 больных, 4-летняя ОВ которых составила 4%. Характерной особенностью кариотипа было наличие в его составе не менее одной аутосомной моносомии, что послужило основанием для определения данного варианта кариотипа как моносомный. В последующем M. Patnaik и соавт. [8], изучая данные 127 больных МДС с комплексным кариотипом, худшую выживаемость также выявили в случаях с моносомным кариотипом ($p = 0,01$). При этом наличие или отсутствие моносомии 7 и/или 5 не имело принципиального значения на снижение показателей ОВ.

Моносомный кариотип обнаруживается у 5–15% больных ОМЛ и МДС [5, 6, 8, 10, 21]. Моносомный кариотип – более частая находка у больных старше 50 лет [4, 5, 13, 22].

Случаи МДС с моносомным кариотипом характеризуются более низкими показателями гемоглобина и тромбоцитов, большим содержанием бластных клеток в костномозговом пунктате, преимущественной ассоциацией с неблагоприятными прогностическими вариантами [23]. Для больных ОМЛ с моносомным кариотипом типичным является низкая частота мутаций генов *FLT3* и *NPM1* и, напротив, высокая частота повреждений гена *TP53*, обнаруживаемого у 80% больных [11, 12].

В большинстве опубликованных работ наглядно продемонстрировано, что моносомный кариотип у больных ОМЛ является независимым негативным предиктором, сопряженным с худшей эффективностью лечения [4, 5, 7, 10, 22–28]. При этом отмечается низкая частота ПР после стандартных индукционных курсов и высокая частота рецидивов. По данным В. Medeiros и соавт. [5], частота ПР у больных ОМЛ с моносомным кариотипом в возрастных группах моложе 30 лет, 31–40, 41–50, 51–60 и старше 60 лет достигает уровня в 50; 27; 14; 24 и 13% соответственно. В. Opan и соавт. [27] сообщили о развитии рецидива у 62% больных ОМЛ с моносомным кариотипом, которым во время первой ПР была проведена алло-ТГСК. Показатели долгосрочной выживаемости варьируют и находятся в диапазоне от 4% в течение 2 лет у больных старше 60 лет до 5% в течение 10 лет. В данном случае возраст больных не указан.

Отдельными авторами [29] высказано предположение, что ухудшение эффективности терапии является следствием аномалий короткого плеча 17-й хромосомы или аббераций $-5/5q-$. Не исключено также, что негативное влияние моносомного кариотипа обусловлено в первую очередь не характером, а количеством аббераций. Тем не менее D. Vreems и соавт. [30] в одном из своих сообщений еще раз подчеркнули принципиальную роль непосредственно моносомного характера кариотипа в ухудшении результатов лечения больных ОМЛ.

Предполагается, что алло-ТГСК является лечебным пособием, которое существенно улучшает выживаемость больных ОМЛ с моносомным кариотипом. J. Cornelissen и соавт. [14] показали значимое улучшение 5-летней ОВ после алло-ТГСК по сравнению с курсами цитостатической терапии или трансплантации аутологических гемопоэтических стволовых клеток: 19% против 9% ($p = 0,02$). Вместе с тем, по мнению M. Yanada и соавт. [28], алло-ТГСК не предоставляет возможности полностью преодолеть негативное воздействие моносомного кариотипа. В качестве примера можно привести результаты, опубликованные S. Kayser и соавт. [7], – 4-летняя ОВ больных, которым не была проведена алло-ТГСК, составила 13% и достигла уровня 15% в группе больных, кому была выполнена алло-ТГСК (от момента ее проведения).

Моносомный кариотип сопряжен с ухудшением выживаемости и больных МДС [21, 31]. Значение моносомного кариотипа как самостоятельного фактора риска, независимого от влияния других показателей [21], дает основание предположить улучшение стратификации больных МДС в случае расширения числа хромосомных aberrаций в составе IPSS-R. Y. Yang и соавт. [31] продемонстрировали значимое ухудшение выживаемости ряда больных МДС после того, как в составе плохого и очень плохого IPSS-R варианта была выделена группа с моносомным кариотипом. С помощью моносомного кариотипа удается стратифицировать больных МДС высокого риска на отдельные подгруппы и по эффективности 5-азациитидина [32, 33]. Включение моносомного кариотипа в состав анализируемых факторов способствует выделению больных МДС с высоким риском рецидива и короткой выживаемостью после алло-ТГСК [34].

Вместе с тем в ряде исследований не удалось выявить негативного влияния моносомного кариотипа на выживаемость больных МДС и эффективность 5-азациитидина [35, 36]. По мнению J. Schanz и соавт. [23], моносомный кариотип не добавляет прогностической значимости случаям с выраженной нестабильностью генома лейкозных клеток, т.е. с множественными хромосомными aberrациями. Тем самым не исключено, что первостепенное значение в неблагоприятном течении случаев МДС с моносомным кариотипом обусловлено преимущественно числом хромосомных aberrаций.

Результаты собственного исследования свидетельствуют о вариабельности ОМЛ и МДС с моносомным кариотипом. Различие больных по возрасту, характеру заболевания (*de novo* и вторичный), морфологическим находкам и цитогенетическим характеристикам (количество aberrаций, вид и число моносомий) в совокупности с отсутствием неслучайной aberrантной экспрессии антигенов дифференцировки на поверхности бластных клеток не дают оснований для объединения случаев с моносомным кариотипом в самостоятельную группу.

Тем самым спрогнозировать вероятность обнаружения у больных ОМЛ или МДС моносомного кариотипа до получения результатов цитогенетического исследования невозможно.

Данный вывод приобретает весомое значение, если принять во внимание тот факт, что основная часть больных ОМЛ и МДС, анализируемых в исследовании, не ответила на стандартные курсы цитостатической терапии.

Отсутствие ассоциации моносомного кариотипа с отдельными клиническими и лабораторными показателями и низкая частота ПР позволяют сделать следующий вывод: лечение больных ОМЛ и МДС высокого риска следует инициировать после получения результатов цитогенетического исследования. Иначе говоря, выбор протокола лечения больных ОМЛ и МДС с избыточным количеством бластных клеток должен осуществляться по результатам изучения кариотипа. Учитывая возможное негативное влияние на исход терапии удлинения интервала от момента верификации диагноза до начала введения химиопрепаратов [37, 38], авторы статьи рекомендуют придерживаться сформулированного ими положения только при условии доступности результатов цитогенетического исследования в течение 72 ч.

Инициация терапии по резервным схемам, обоснованная результатами исследования кариотипа, может способствовать преодолению негативного эффекта множественной лекарственной резистентности с повышением частоты ПР и снижением риска раннего рецидива. Возможной опцией рассматривается повышение разовой дозы даунорубицина. При медиане наблюдения до 80 мес M. Luskin и соавт. [39] показали значимое улучшение ОВ больных ОМЛ с неблагоприятным кариотипом (независимо от возраста), у которых в индукционном периоде разовая доза даунорубицина была 90 мг/м² ($p = 0,04$). В то же время в исследовании UK NCRI AML17 [40] увеличение разовой дозы даунорубицина с 60 до 90 мг/м² не сопровождалось значимым повышением эффективности.

Не менее перспективными могут оказаться и схемы, основу которых составляют средние и большие дозы Ара-Ц (FLAG-Ida, HAM) или стандартные дозы Ара-Ц с добавлением пуриновых аналогов («7 + 3 + кладрибин») [15, 41, 42]. Для больных, которые по соматическому статусу и коморбидности не являются кандидатами на интенсивную химиотерапию, терапией выбора могут быть схемы с введением 5-азациитидина [43, 44]. По результатам проведенного исследования в гематологической клинике ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России одобрено пилотное исследование по изучению клинической эффективности схемы «FLAG + Ida» как 1-й линии терапии больных ОМЛ и МДС с моносомным кариотипом.

Таким образом, результаты ретроспективного анализа 76 историй болезни в совокупности с данными литературы дают основание заключить, что больные ОМЛ и МДС с моносомным кариотипом представляют гетерогенную группу. На начальных этапах обследования больных с подозрением на ОМЛ и МДС не представляется возможным спрогнозировать вероятность обнаружения моносомного кариотипа. Течение ОМЛ и МДС с моносомным кариотипом неблагоприятное из-за низкой эффективности стандартной индукционной схемы «7 + 3». Частота

ПР может быть увеличена путем назначения резервных программ химиотерапии. Для обоснования назначения более агрессивных индукционных схем цитостатической терапии рекомендовано инициировать лечение больных ОМЛ и МДС после получения результатов цитогенетического обследования.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Афанасьев Б.В., Грицаев С.В., Семочкин С.В., Бондаренко С.Н. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению острых миелоидных лейкозов. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 1: Прил. 2.
- Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Абдулкадыров К.М., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Аксенова В.Б. и др. Возрастные особенности кариотипа больных острым миелоидным лейкозом. *Терапевтический архив*. 2011; 1: 51–5.
- Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Кострома И.И., Аксенова В.Ю., Петрова Е.В., Сергеев А.Н. и др. Децитабин: уроки, извлеченные из опыта лечения больных миелоидными неоплазиями. *Клиническая онкогематология*. 2012; 3: 225–31.
- Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Зюзгин И.С., Карягина Е.В., Мартыненко Л.С., Петрова Е.В. и др. Гетерогенность острого миелоидного лейкоза с транслокацией t(8;21)(q22;q22). *Терапевтический архив*. 2014; 7: 45–52.

Остальные источники литературы см. в References

REFERENCES

- Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Afanasiev B.V., Gritsaev S.V., Semochkin S.V., Bondarenko S.N., et al. National clinical recommendations on diagnosis and treatment of acute myeloid leukemias. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2014; 1(Suppl. 2). (in Russian)
- Dohner H., Estey E.H., Amadori S., Appelbaum F.R., Buchner T., Burnett A.K. et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2010; 115(3): 453–74.
- Greenberg P.L., Tuechler H., Schanz J., Sanz G., Garcia-Manero G., Sole F., et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012; 120(12): 2454–65.
- Breems D.A., van Putten W.L., de Greef G.E., van Zelder-Bhola S.L., Gerssen-Schoorl K.B., Mellink C.H., et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26(29): 4791–7.
- Medeiros B.C., Othus M., Fang M., Roulston D., Appelbaum F.R. Prognostic impact of monosomal karyotype in young adult and elderly acute myeloid leukemia: the Southwest Oncology Group (SWOG) experience. *Blood*. 2010; 116(13): 2224–8.
- Perrot A., Luquet I., Pigneux A., Mugneret F., Delaunay J., Harousseau J.L., et al. Dismal prognostic value of monosomal karyotype in elderly patients with acute myeloid leukemia: a GOELAMS study of 186 patients with unfavorable cytogenetic abnormalities. *Blood*. 2011; 118(3): 679–85.
- Kayser S., Zucknick M., Dohner K., Krauter J., Kohne C.H., Horst H.A., et al. Monosomal karyotype in adult acute myeloid leukemia: prognostic impact and outcome after different treatment strategies. *Blood*. 2012; 119(2): 551–8.
- Patnaik M.M., Hanson C.A., Hodnefield J.M., Knudson R., van Dyke D.L., Tefferi A. Monosomal karyotype in myelodysplastic syndromes, with or without monosomy 7 or 5, is prognostically worse than an otherwise complex karyotype. *Leukemia*. 2012; 25(2): 266–70.
- Rogers H.J., Vardiman J.W., Anastasi J., Raca G., Savage N.M., Cherry A.M., et al. Complex or monosomal karyotype and not blast percentage is associated with poor survival in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome patients with inv(3)(q21q26.2)/t(3;3)(q21;q26.2): a Bone Marrow Pathology Group study. *Haematologica*. 2014; 99(5): 821–9.
- Ahn H.K., Jang J.H., Kim K., Kim H.J., Kim S.H., Jung C.W., Kim D.H. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia predicts adverse treatment outcome and associates with high functional multidrug resistance activity. *Am. J. Hematol.* 2012; 87(1): 37–41.
- Rucker F.G., Schlenk R.F., Bullinger L., Kayser S., Teleanu V., Kett H., et al. TP53 alterations in acute myeloid leukemia with complex karyotype correlate with specific copy number alterations, monosomal karyotype, and dismal outcome. *Blood*. 2012; 119(9): 2114–21.
- Gaillard J.B., Chiesa J., Reboul D., Arnaud A., Brun S., Donadio D., et al. Monosomal karyotype routinely defines a poor prognosis subgroup in acute myeloid leukemia and is frequently associated with TP53 deletion. *Leuk. Lymphoma*. 2012; 53(2): 336–7.
- Gritsaev S.V., Martynkevich I.S., Abdulkadyrov K.M., Martynenko L.S., Ivanova M.P., Akseanova V.B., et al. Age-related karyotype features of patients with acute myeloid leukemia. *Therapeutic archive. Russian journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2011; 1: 51–5. (in Russian)
- Cornelissen J.J., Breems D., van Putten W.L.J., Gratwohl A.A., Passweg J.R., Pabst T., et al. Comparative analysis of the value of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in acute myeloid leukemia with monosomal karyotype versus other cytogenetic risk categories. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30(17): 2140–6.
- Garcia J.S., Medeiros B.C., Appelbaum F.R. Blood consult: monosomal karyotype acute myeloid leukemia. *Blood*. 2012; 119(24): 5659–60.
- Vardiman J.W., Thiele J., Arber D.A., Brunning R.D., Borowitz M.J., Porwit A., et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009; 114(5): 937–51.
- Cheson B.D., Bennett J.M., Kopecy K.J., Buchner T., Willman C.L., Estey E.H., et al. Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21(24): 4642–9.
- Cheson B.D., Greenberg P.L., Bennett J.M., Lowenberg B., Wijermans P.W., Nimer S.D., et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood*. 2006; 108(2): 419–25.
- Gritsaev S.V., Martynkevich I.S., Kostroma I.I., Akseanova V.Yu., Petrova E.V., Sergeev A.N., et al. Decitabine: lessons of clinical practice to treat the patients with myeloid neoplasms. *Clinical Oncohematology. Russian journal (Klinicheskaya onkogematologiya)*. 2012; 3: 225–31]. (in Russian)
- Gritsaev S.V., Martynkevich I.S., Zyuzgin I.S., Karyagina E.V., Martynenko L.S., Petrova E.V., et al. Heterogeneity of acute myeloid leukemia with translocation t(8;21)(q22;q22). *Therapeutic archive. Russian journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2014; 7: 45–52. (in Russian)
- Xing R., Li C., Gale R.P., Zhang Y., Xu Z., Qin T., et al. Monosomal karyotype is an independent predictor of survival in patients with higher-risk myelodysplastic syndrome. *Am. J. Hematol.* 2014; 89(10): E163–8.
- Lazarevic V., Horstedt A.S., Johansson B., Antunovic P., Billstrom R., Derolf A., et al. Incidence and prognostic significance of karyotypic subgroups in older patients with acute myeloid leukemia: the Swedish population-based experience. *Blood Cancer J.* 2014; 4: e188. doi: 10.1038/bcj.2014.10.
- Schanz J., Tuchler H., Sole F., Mallo M., Luno E., Cervera J., et al. Monosomal karyotype in MDS: explaining the poor prognosis? *Leukemia*. 2013; 27(10): 1988–95.
- Breems D.A., Lowenberg B. Acute myeloid leukemia with monosomal karyotype at the far end of the unfavorable prognostic spectrum. *Haematologica*. 2011; 96(4): 491–3.
- Lowenberg B., Pabst T., Vellenga E., van Putten W., Schouten H.C., Graux C., et al. Cytarabine dose for acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364(11): 1027–36.
- Grimwade D., Hills R.K., Moorman A.V., Walker H., Chatters S., Goldstone A.H., et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. 2010; 116(3): 354–65.
- Oran B., Dolan M., Cao Q., Brunstein C., Warlick E., Weisdorf D. Monosomal karyotype provides better prognostic prediction after allogeneic stem cell transplantation in patients with acute myelogenous leukemia. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2011; 17(3): 356–64.
- Yanada M., Kurosawa S., Yamaguchi T., Yamashita T., Moriuchi Y., Ago H., et al. Prognosis of acute myeloid leukemia harboring

- monosomal karyotype in patients treated with or without allogeneic hematopoietic cell transplantation after achieving complete remission. *Haematologica*. 2012; 97(6): 915–8.
29. Middeke J.M., Beelen D., Stadler M., Gohring G., Schlegelberger B., Baumann H., et al. Outcome of high-risk acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation: negative impact of abn(17p) and -5/5q-. *Blood*. 2012; 120(12): 2521–8.
 30. Breems D.A., van Putten W.L.J., Lowenberg B. The impact of abn(17p) and monosomy 25/del(5q) on the prognostic value of the monosomal karyotype in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013; 121(15): 3056–7.
 31. Yang Y.T., Hou H.A., Liu C.Y., Lin C.C., Chou W.C., Lee F.Y., et al. IPSS-R in 555 Taiwanese patients with primary MDS: Integration of monosomal karyotype can better risk-stratify the patients. *Am. J. Hematol.* 2014; 89(9): E142–9.
 32. Cluzeau T., Mounier N., Karsenti J.M., Richez V., Legros L., Gastaud L., et al. Monosomal karyotype improves IPSS-R stratification in MDS and AML patients treated with azacitidine. *Am. J. Hematol.* 2013; 88(9): 780–3.
 33. Pleyer L., Burgstaller S., Girschikofsky M., Linkesch W., Stauder R., Pfeilstocker M., et al. Azacitidine in 302 patients with WHO-defined acute myeloid leukemia: results from the Austrian Azacitidine Registry of the AGMT-Study Group. *Ann. Hematol.* 2014; 93(11): 1825–38.
 34. Della Porta M.G., Alessandrino E.P., Bacigalupo A., van Lint M.T., Malcovati L., Pascutto C., et al. Predictive factors for the outcome of allogeneic transplantation in patients with MDS stratified according to the revised IPSS-R. *Blood*. 2014; 123(15): 2333–42.
 35. Itzykson R., Thrept S., Eclache V., Quesnel B., Dreyfus F., Beyne-Rauzy O., et al. Prognostic significance of monosomal karyotype in higher risk myelodysplastic syndrome treated with azacitidine. *Leukemia*. 2011; 25(7): 1207–9.
 36. Valcarcel D., Adema V., Soler F., Ortega M., Nomdedeu B., Sanz G., et al. Complex, not monosomal, karyotype is the cytogenetic marker of poorest prognosis in patients with primary myelodysplastic syndrome. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31(7): 916–22.
 37. Sekeres M.A., Elson P., Kalaycio M.E., Advani A.S., Copelan E.A., Faderl S., et al. Time from diagnosis to treatment initiation predicts survival in younger, but not older, acute myeloid leukemia patients. *Blood*. 2009; 113(1): 28–36.
 38. Bertoli S., Berard E., Huguet F., Huynh A., Tavitian S., Vergez F., et al. Time from diagnosis to intensive chemotherapy initiation does not adversely impact the outcome of patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013; 121(14): 2618–26.
 39. Lusk M.R., Lee J.W., Fernandez H.F., Lazarus H.M., Rowe J.M., Tallman M.S., et al. High dose daunorubicin improves survival in AML up to age 60, across all cytogenetic risk groups including patients with unfavorable cytogenetic risk, and FLT3-ITD mutant AML: updated analyses from Eastern Cooperative Oncology trial E1900. *Blood*. 2014; 124(21): Abstr. 373.
 40. Burnett A.K., Russell N., Hills R.K., Kell J., Cavenagh J., Kjeldsen L., et al. A randomised comparison of daunorubicin 90mg/m² vs 60mg/m² in AML induction: results from the UK NCRI AML17 trial in 1206 patients. *Blood*. 2014; 124(21): Abstr. 7.
 41. Bhella S.D., Atenafu E.G., Schuh A.C., Minden M.D., Schimmer A.D., Gupta V., et al. FLAG-IDA has significant activity as frontline induction or salvage therapy for patients with high risk and/or relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood*. 2014; 124(21): Abstr. 5285.
 42. Wrzesień-Kus A., Robak T., Lech-Maranda E., Wierzbowska A., Dmoszynska A., Kowal M., et al. A multicenter, open, non-comparative, phase II study of the combination of cladribine (2-chlorodeoxyadenosine), cytarabine, and G-CSF as induction therapy in refractory acute myeloid leukemia – a report of the Polish Adult Leukemia Group (PALG). *Eur. J. Haematol.* 2003; 71(3): 155–62.
 43. Seymour J.F., Dohner H., Butrym A., Wierzbowska A., Selleslag D., Jang J.H., et al. Azacitidine versus conventional care regimens in older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia (>30% bone marrow blasts) with morphologic dysplastic changes: a subgroup analysis of the AZA-AML-001 trial. *Blood*. 2014; 124(21): Abstr. 10.
 44. Zeidan A.M., Gore S.D., Komrokji R.S. Higher-risk myelodysplastic syndromes with del(5q): is sequential azacitidine-lenalidomide combination the way to go? *Expert. Rev. Hematol.* 2013; 6(3): 251–4.

Поступила 25.05.15

Принята к печати 10.05.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.155.392.8-036.11:577.21.08

Петрова Е.В.¹, Мартынкевич И.С.¹, Полушкина Л.Б.¹, Мартыненко Л.С.¹, Иванова М.П.¹,
Цыбакова Н.Ю.^{1,2}, Клеина Е.В.¹, Шабанова Е.С.^{1,2}, Чечеткин А.В.¹, Абдулкадыров К.М.¹

КЛИНИЧЕСКИЕ, ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНАХ *FLT3*, *SKIT*, *NRAS* И *NPM1*

¹ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА России, 191024, г. Санкт-Петербург, Россия; ²ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, 191015, г. Санкт-Петербург, Россия

Современные методы лабораторной диагностики дают возможность выявить большое количество молекулярно-генетических маркеров, характерных для ОМЛ. Однако невысокая частота встречаемости некоторых повреждений и разрозненность данных литературы не позволяют определить их прогностический потенциал. Таким образом, актуальность работы обусловлена необходимостью выбора наиболее часто встречающихся и прогностически значимых молекулярно-генетических маркеров. Мы провели исследование частоты встречаемости и прогностического потенциала мутаций генов *NRAS*, *SKIT*, *FLT3* и *NPM1*. В работе проанализированы 200 больных ОМЛ. Цитогенетические и молекулярно-генетические исследования выполнены с помощью методов GTG дифференциальной окраски хромосом, метода ПЦР и секвенирования. Получены результаты о статистически значимом влиянии на прогноз заболеваемости мутаций в генах *SKIT*, *FLT3* и *NPM1*, на основании чего предложен алгоритм генетической диагностики больных ОМЛ. Подчеркнута важность детекции сочетанной встречаемости мутаций в генах, несущих разную функциональную нагрузку.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз; мутации в генах *NPM1*, *FLT3*, *SKIT*, *NRAS*; прогноз; алгоритм диагностики.

Для цитирования: Петрова Е.В., Мартынкевич И.С., Полушкина Л.Б., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Цыбакова Н.Ю., Клеина Е.В., Шабанова Е.С., Чечеткин А.В., Абдулкадыров К.М. Клинические, гематологические и молекулярно-генетические особенности острых миелоидных лейкозов с мутациями в генах *FLT3*, *SKIT*, *NRAS* и *NPM1*. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(2): 72–80. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-72-80

Petrova E.V.¹, Martynkevich I.S.¹, Polushkina L.B.¹, Martynenko L.S.¹, Ivanova M.P.¹, Tsybakova N.Yu.^{1,2}, Kleina E.V.¹, Shabanova E.S.^{1,2}, Chechetkin A.V.¹, Abdulkadyrov K.M.¹

CLINICAL, HEMATOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC FEATURES OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA WITH MUTATIONS IN FLT3, CKIT, NRAS AND NPM1

¹Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, 191024, Russian Federation; ²North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, 191015, Russian Federation

Current methods of the laboratory diagnostics permit to detect a large quantity of the molecular markers, typical for patients with acute myeloid leukemia. However, low frequency of some aberrations does not determine their prognostic value. Thus, the necessity of the selection of the most frequent and prognostically significant molecular markers specifies the actuality of the present research. We analyzed the incidence and prognostic relevance of NRAS, CKIT, FLT3 and NPM1 mutations in 200 AML patients. Cytogenetic and molecular-genetic analysis was carried out by GTG-method, PCR and sequencing. We found out, that mutations in CKIT, FLT3 and NPM1 significantly influence on the prognosis, thereby the algorithm of genetic diagnostics of AML patients was suggested. We underlined the importance of the detection of simultaneous mutations in genes with different functionality.

Key words: acute myeloid leukemia; mutations in FLT3, CKIT, NRAS and NPM1; prognosis; algorithm of diagnostics.

For citation: Petrova E.V., Martynkevich I.S., Polushkina L.B., Martynenko L.S., Ivanova M.P., Tsybakova N.Y., Kleina E.V., Shabanova E.S., Chechetkin A.V., Abdulkadyrov K.M. Clinical, hematological and molecular-genetic features of acute myeloid leukemia with mutations in FLT3, CKIT, NRAS and NPM1. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i Transfusiology)*. 2016; 61(2): 72-80. (In Russian). DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-72-80

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

Funding. The study had no sponsorship.

Received 22 Dec 2015

Accepted 10 May 2016

Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) представляют гетерогенную группу миелоидных заболеваний с разным биологическим фенотипом. В настоящее время принципиально важным прогностическим маркером риска, который используют для определения интенсивности терапии таких больных, является кариотип [1]. Рядом исследователей доказано, что выживаемость больных с несбалансированными и множественными хромосомными аномалиями статистически значимо хуже, чем больных со сбалансированными aberrациями. Наибольшие затруднения в прогнозировании выживаемости и риска развития рецидива заболевания представляет группа больных ОМЛ с нормальным кариотипом, показатели выживаемости у которых значительно варьируют при проведении стандартной химиотерапии (ХТ) [2].

Низкая частота встречаемости хромосомных aberrаций и вместе с тем вариабельность клинического течения заболеваний с однотипными цитогенетическими поломками обуславливают целесообразность поиска новых маркеров, позволяющих распределить больных на более однородные группы риска.

Современная терапия гемобластозов заключается в проведении высокодозной ХТ и/или трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Однако в существующих протоколах выбор интенсивности постремиссионной терапии осуществляется без учета прогностических факторов. Это, с одной

стороны, необоснованно увеличивает риск токсической смерти, а с другой – повышает вероятность возникновения рецидива заболевания.

Нерешенность вопросов о сроках инициации и количестве курсов высокодозной ХТ, выборе кандидатов на ТГСК и условиях прекращения лечения определяют актуальность использования в диагностике ОМЛ высокоинформативных молекулярно-генетических методов исследования с целью поиска новых прогностических маркеров заболевания. Комплексное исследование повреждений генов делает возможной разработку эффективных таргетных препаратов, которые в совокупности со стандартной цитостатической терапией способны снижать объем опухолевых клеток и значительно увеличивать выживаемость.

Цель данного исследования – оценить роль молекулярно-генетических методов исследования в диагностике и прогнозировании течения острых миелоидных лейкозов.

Материал и методы

В исследование включены 200 больных ОМЛ (93 мужчин и 107 женщин), проходившие лечение в гематологической клинике ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России и других гематологических отделениях лечебных учреждений Санкт-Петербурга и Ленинградской области. Возраст больных составил от 18 до 86 лет (медиана 55 лет). У 190 (95%) больных верифицирован *de novo* ОМЛ, у 10 (5%) – вторичный ОМЛ

Для корреспонденции:

Петрова Екатерина Вадимовна, кандидат биол. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА России, 191024, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: katterina@mail.ru.

For correspondence:

Petrova Ekaterina V., BD, PhD, research associate of laboratory of molecular genetics of Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, 191024, St. Petersburg, Russian Federation, E-mail: katterina@mail.ru.

Information about authors:

Petrova E.V., <http://orcid.org/0000-0002-6052-6472>; Martynkevich I.S., <http://orcid.org/0000-0001-5958-0490>; Polushkina L.B., <http://orcid.org/0000-0003-0051-2121>; Martynenko L.S., <http://orcid.org/0000-0003-1428-3059>; Ivanova M.P., <http://orcid.org/0000-0001-5450-2944>; Tsybakova N.Yu., <http://orcid.org/0000-0002-0107-6184>; Kleina E.V., <http://orcid.org/0000-0002-8134-7422>; Shabanova E.S., <http://orcid.org/0000-0002-8701-2754>; Chechetkin A.V., <http://orcid.org/0000-0002-7569-0697>; Abdulkadyrov K.M., <http://orcid.org/0000-0002-3771-909X>.

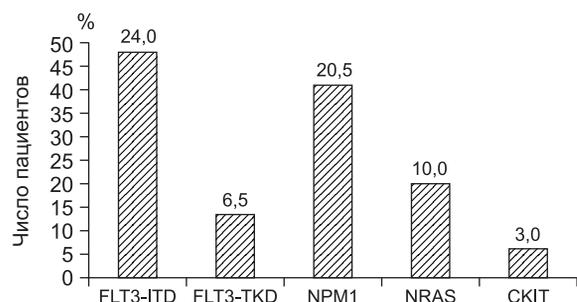


Рис. 1. Частота встречаемости мутаций (в %) в разных генах у больных ОМЛ.

из предшествующих миелодиспластических синдромов (МДС) или лимфомы. Распределение по морфологическим вариантам ОМЛ было следующим: 4 (2%) больных ОМЛ M0, 30 (15%) – M1, 66 (33%) – M2, 20 (10%) – M3, 47 (23,5%) – M4, 19 (9,5%) – M5, 1 (0,5%) – M6, у 3 (1,5%) больных вариант ОМЛ не дифференцирован. Всем больным проведены цитогенетические и молекулярно-генетические исследования.

Метод исследования хромосом. Цитогенетический анализ проводили на клетках костного мозга (КМ). Цитогенетические препараты окрашивали дифференциальным методом GTG. В каждом исследовании было проанализировано не менее 20 метафазных пластин. Интерпретацию патологии кариотипа проводили в соответствии с Международной номенклатурой дифференциально сегментированных хромосом (ISCN, 2013). По результатам цитогенетического исследования больные были разделены на четыре группы: 97 (48,5%) больных с нормальным кариотипом, 18 (9%) – с благоприятным кариотипом, 28 (14%) – с неблагоприятным кариотипом, 57 (28,5%) – с прочими хромосомными аномалиями.

Методы анализа мутационного статуса генов *CKIT*, *NRAS*, *FLT3* и *NPM1*. Материалом для проведения анализа мутационного статуса генов *CKIT*, *NRAS*, *FLT3* и *NPM1* были геномная ДНК и РНК. Выделение геномной ДНК из периферической крови (ПК) или КМ проводили с помощью метода хлороформной экстракции. Выделение РНК выполняли с использованием наборов АмплиСенс Лейкоз Квант («Интерлабсервис», Россия).

Праймеры для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) были подобраны с помощью программы Vector NTI. Анализ мутаций проводили методом ПЦР с последующей детекцией продуктов амплификации в полиакриламидном геле (6%) либо рестрикцией или секвенированием полученного фрагмента. Наличие внутренней тандемной дупликации в гене *FLT3* (*FLT3-ITD*) идентифицировали на электрофореграмме. Определение точечной мутации (замены аспарагина в 835-м положении) в гене *FLT3* (*FLT3-TKD*) проводили методом ПЦР с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов (эндонуклеаза рестрикции EcoRV).

Анализ мутаций в гене *NPM1* был выполнен с помощью ПЦР с последующим разделением продуктов электрофорезом. Также проводили анализ мутаций в 8-м и 11-м экзонах гена *CKIT*. Мутацию D816V в 17-м экзоне *CKIT* определяли с помощью ПЦР с последующим проведением гидролиза рестриктазой HinfI. Для анализа мутаций в гене *NRAS* проводили ПЦР с дальнейшим секвенированием амплифицированного фрагмента.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы Statistica 10.0. Анализ общей (ОВ) и безрецидивной выживаемости (БРВ) проводили с использованием метода Каплана–Мейера. В качестве точки отсчета для вычисления ОВ и БРВ выбрали дату постановки диагноза ОМЛ. Для сравнения различий в непрерывных данных использовали непараметрический *U*-тест Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Мутации в генах *CKIT*, *NRAS*, *FLT3* и *NPM1* были обнаружены у 105 (52,5%) из 200 обследованных пациентов. Всего выявлено 128 мутаций генов *FLT3*, *NPM1*, *NRAS* и *CKIT*: 48 (24%) – *FLT3-ITD*, 13 (6,5%) – *FLT3-TKD*, 41 (20,5%) – в гене *NPM1*, 20 (10%) – в гене *NRAS*, 6 (3%) – в гене *CKIT* (рис. 1). У 82 (41%) пациентов обнаружены одиночные мутации. У 23 (11,5%) больных мутации носили сочетанный характер: у 2 (1%) – *FLT3-ITD* и *FLT3-TKD*, у 1 (0,5%) – *FLT3-TKD* и в гене *NPM1*, у 17 (8,5%) – *FLT3-ITD* и в гене *NPM1*, у 3 (1,5%) – в генах *NPM1* и *NRAS*. Статистически значимо чаще ($p = 0,001$) мутации определялись у больных с нормальным кариотипом – у 80 (82,5%) из 97 обследованных больных и в группе промежуточного прогноза у 29 (50,9%) из 57 больных. В группе больных с неблагоприятным кариотипом мутации были выявлены только у 8 (28,6%) из 28 больных. При изучении возрастных особенностей больных ОМЛ с мутациями установлено, что наибольшее количество мутаций обнаружено у больных в возрасте от 60 до 69 лет.

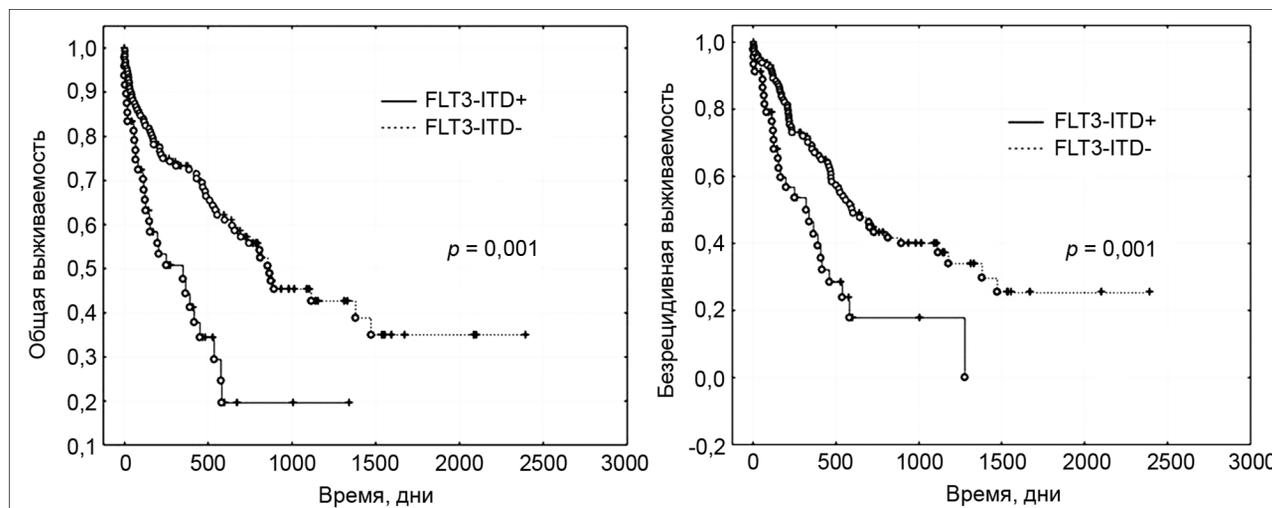
Мутации *FLT3-ITD* найдены у 48 больных, *FLT3-TKD* – у 13 из 200 больных. Больные с мутацией *FLT3-TKD* были старше больных без мутации, медиана возраста равна 61 год по сравнению с 54 годами соответственно ($p = 0,106$). Мутации в гене *FLT3* детектировались при всех морфологических вариантах (кроме M6). Мутации *FLT3-ITD* чаще обнаруживались у больных с вариантом M2 ($p = 0,040$), а мутации *FLT3-TKD* были найдены преимущественно у больных с M1-вариантом ($p = 0,001$).

Показано, что мутации в гене *FLT3* крайне редко (лишь у 5,6%) обнаруживались у больных с благоприятным кариотипом. Схожую картину наблюдали у больных с неблагоприятным кариотипом, мутации выявлены у 21,4% больных. Тем не менее мутация *FLT3-ITD* была обнаружена у 2 больных с неблагоприятной транслокацией t(6;9). Вместе с этим мутации в гене *FLT3* значительно чаще выявлялись у больных с нормальным кариотипом и промежуточным прогнозом: *FLT3-ITD* у 30 (30,9%) ($p = 0,032$) и *FLT3-TKD* у 6 (6,2%) из 97 больных.

Обнаружена высокая частота встречаемости сочетанных мутаций в генах *FLT3* и *NPM1* (у 27,9% больных; $p = 0,012$). Также у 2 больных обнаружены одновременно мутации в юкстамембранном и тирозинкиназном доменах гена *FLT3*.

В ходе нашего исследования у больных с мутациями *FLT3-ITD* и *FLT3-TKD* наблюдали статистически значимую более высокую концентрацию лейкоцитов, чем у больных без мутаций – $68,1 \times 10^9/\text{л}$ и $35,1 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,001$); $109,8 \times 10^9/\text{л}$ и $37,3 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,014$) соответственно. Однако только у больных с мутациями *FLT3-ITD* отмечали более высокое содержание бластных клеток в КМ (71,3%), чем у больных без мутации (60,2%; $p = 0,042$).

В результате проведенного исследования мы не обнаружили статистически значимого влияния мутаций *FLT3-ITD* и *FLT3-TKD* на достижение больными полной ремиссии (ПР). Медианы ОВ и БРВ

Рис. 2. ОВ и БРВ больных ОМЛ с мутацией и без мутации *FLT3-ITD*.

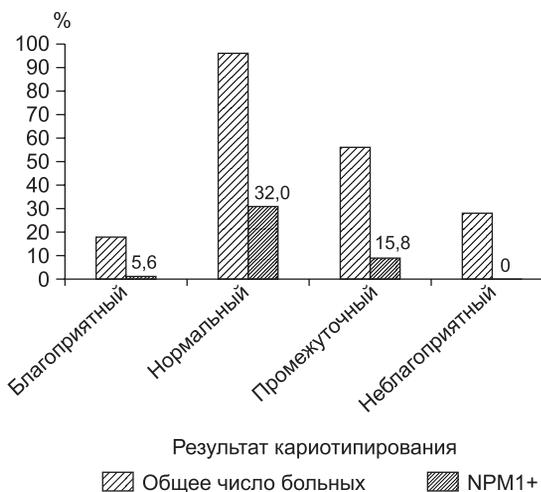
больных с *FLT3-ITD* по сравнению с больными без мутации составили: 5,4 и 12,8 мес ($p = 0,001$) и 4,9 мес и 10 мес ($p = 0,001$) соответственно (рис. 2). В случае наличия мутации *FLT3-TKD* мы не получили данные о ее влиянии на ОВ и БРВ у больных ОМЛ. Однако при сравнении ОВ и БРВ больных с мутациями *FLT3-TKD* и больных без мутации *FLT3-ITD* получены статистически значимые различия ($p = 0,037$ и $p = 0,042$ соответственно), т.е. наличие мутации *FLT3-TKD* также негативно влияло на выживаемость больных ОМЛ. При этом ОВ и БРВ больных с *FLT3-ITD* и с *FLT3-TKD* статистически значимо не различались.

Мутации в гене *NPM1* были обнаружены у 41 из 200 больных ОМЛ. При разделении больных на группы в зависимости от возраста было обнаружено, что наименьшая встречаемость мутаций в гене *NPM1* детектировали в группе больных старше 70 лет – у 2 (7,7%) из 26 больных. Чаще мутации встречались в группах 40–55 лет у 15 (23,1%) из 65 больных и 56–69 лет у 18 (27,4%) из 68 больных. Медиана возраста больных с нормальным кариотипом и мутациями в гене *NPM1* была статистически значимо ниже в сравнении с медианой возраста у больных без мутаций (55 и 59 лет соответственно; $p = 0,010$). Отмечалось увеличение количества лейкоцитов в ПК и бластных клеток в КМ у больных с мутациями в гене *NPM1* по сравнению с группой без мутаций – $50,6 \times 10^9/\text{л}$ против $40,6 \times 10^9/\text{л}$ и 66,6% против 60,5% соответственно, но различие было статистически незначимым ($p = 0,183$ и $p = 0,261$ соответственно). Мутации в гене *NPM1* встречались у больных с разными морфологическими вариантами ОМЛ кроме М3 ($p = 0,020$) и М6. Мутации часто (31,6%) детектировались у больных с М5-вариантом ОМЛ.

Наличие мутаций в гене *NPM1* было статистически значимо ассоциировано с нормальным кариотипом у больных ОМЛ ($p = 0,001$). При этом у больных с аномальным расположением нуклеофозмина не обнаружено таких хромосомных aberrаций, как $t(15;17)$ и $inv(16)$. Только у 1 больного найдена прогностически благоприятная хромосомная поломка – $t(8;21)$. Вместе с этим выявлено отсутствие мутаций

в гене *NPM1* у больных с неблагоприятным кариотипом ($p = 0,004$). У небольшого числа больных с промежуточным кариотипом с мутациями в *NPM1* в основном выявлялись одиночные aberrации (трисомии, делеции, моносомии). Данные хромосомные нарушения, возможно, имеют характер вторичных событий, возникающих в процессе развития лейкоза. Также мы обнаружили достаточно редкую встречаемость мутаций в гене *NPM1* при вторичных лейкозах – только у 1 больного (рис. 3).

Мы не обнаружили корреляции между встречаемостью мутаций в *NPM1* и *FLT3-TKD* ($p = 0,579$) и мутаций в генах *CKIT* и *NRAS* ($p = 0,521$ и $p = 0,207$ соответственно). Нами констатирована тенденция к увеличению процента больных, которые достигли ПР в группе с мутациями в *NPM1* по сравнению с остальными больными ($p = 0,186$). В группе больных старше 60 лет статистически значимо чаще ПР достигали больные с мутациями в гене *NPM1* (84,6%), чем больные без мутации (47,7%; $p = 0,019$). На рис. 4 представлены кривые ОВ и БРВ больных ОМЛ с и без мутаций в гене *NPM1*. Медиана ОВ больных с мутацией в гене *NPM1* составила 15,3 мес по сравнению с 10,1 мес у пациентов без мутации ($p = 0,002$).

Рис. 3. Распределение больных ОМЛ с мутациями в *NPM1* в зависимости от варианта кариотипа.

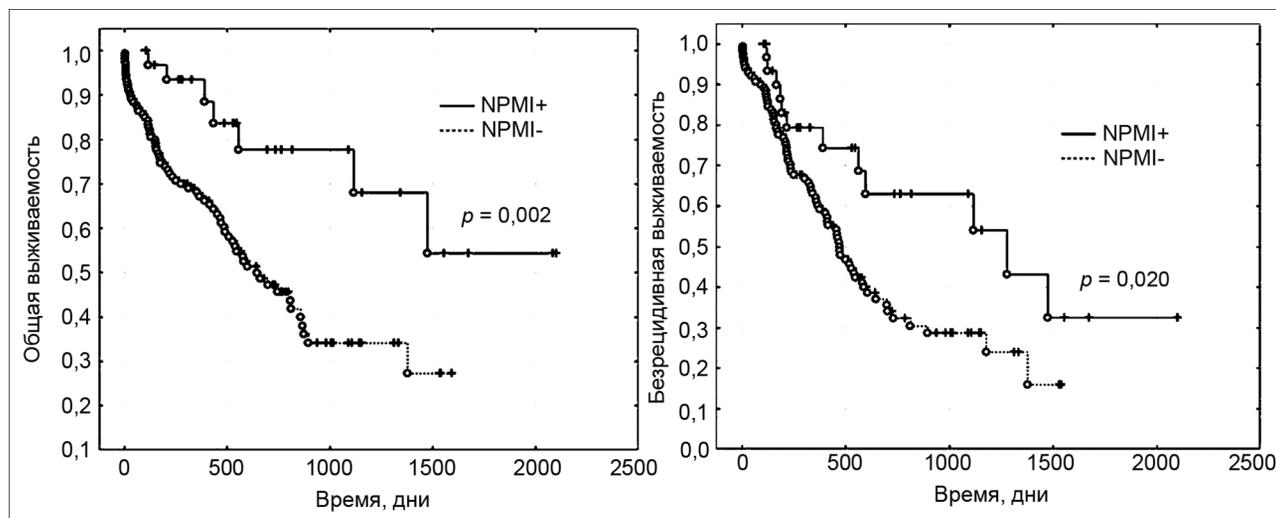


Рис. 4. ОВ и БРВ больных ОМЛ с наличием и без мутаций в гене *NPM1*.

БРВ также оказалась статистически значимо длиннее у больных с мутациями в гене *NPM1* (10,1 мес), чем у больных без мутации (8,8 мес); $p = 0,020$. Такую же закономерность наблюдали в группе больных с нормальным кариотипом.

В проведенном исследовании продемонстрирована высокая частота встречаемости сочетанных мутаций в генах *NPM1* и *FLT3* (*FLT3*-ITD). В связи с этим проанализировали ОВ и БРВ в четырех группах больных: *NPM1*⁺/*FLT3*⁻, *NPM1*⁻/*FLT3*⁻, *NPM1*⁺/*FLT3*⁺, *NPM1*⁻/*FLT3*⁺. При разделении пациентов на группы в зависимости от мутационного статуса генов *NPM1* и *FLT3* установлено, что больные с одиночными мутациями в гене *NPM1* показывали лучшую ОВ и БРВ, а с мутациями в *FLT3*-ITD – худшую ОВ и БРВ по сравнению с группой без мутаций ($p = 0,012$ и $p = 0,017$; $p = 0,001$ и $p = 0,001$ соответственно). В то же время больные, у которых детектировались сочетано *FLT3*-ITD и *NPM1*⁺, не различались по прогнозу от пациентов без мутаций ($p = 0,398$) (рис. 5).

Мутации в гене *NRAS* были обнаружены у 10% больных ОМЛ. Чаще всего мутации встречались в 12-м кодоне (G12D) – у 13 (65%) из 20 больных. В 13-м кодоне (G13D, G13V, G13C) мутации выяв-

лены у 6 (30%), в 61-м кодоне – у 1 (5%) больного (Q61R). У всех больных мутации в гене *NRAS* были обнаружены в гетерозиготе. Распределение больных ОМЛ с мутациями в гене *NRAS* в зависимости от морфологического варианта показало, что мутации чаще встречались у больных с M2, а также M4 вариантами ОМЛ. В основном мутации обнаруживались у больных с *de novo* ОМЛ – у 19 (10%) из 190 пациентов. Медиана возраста больных с мутациями в гене *NRAS* составила 53 года, в то время как медиана возраста больных без мутации в этом гене была 55 лет ($p = 0,192$). Среднее количество лейкоцитов в ПК в дебюте заболевания у больных с мутациями в гене *NRAS* было незначительно выше ($p = 0,128$), чем у больных без мутаций ($46,4 \times 10^9/\text{л}$ и $42,4 \times 10^9/\text{л}$ соответственно). Среднее количество бластных клеток в КМ в дебюте заболевания у больных с мутацией было выше ($p = 0,096$), чем у больных без мутации (72 и 60,8% соответственно).

При сравнительном анализе встречаемости мутаций в гене *NRAS* в зависимости от варианта кариотипа мы обнаружили их ассоциацию с благоприятными хромосомными поломками у больных ОМЛ – у 6 (33,3%) из 18 больных ($p = 0,001$), в частности

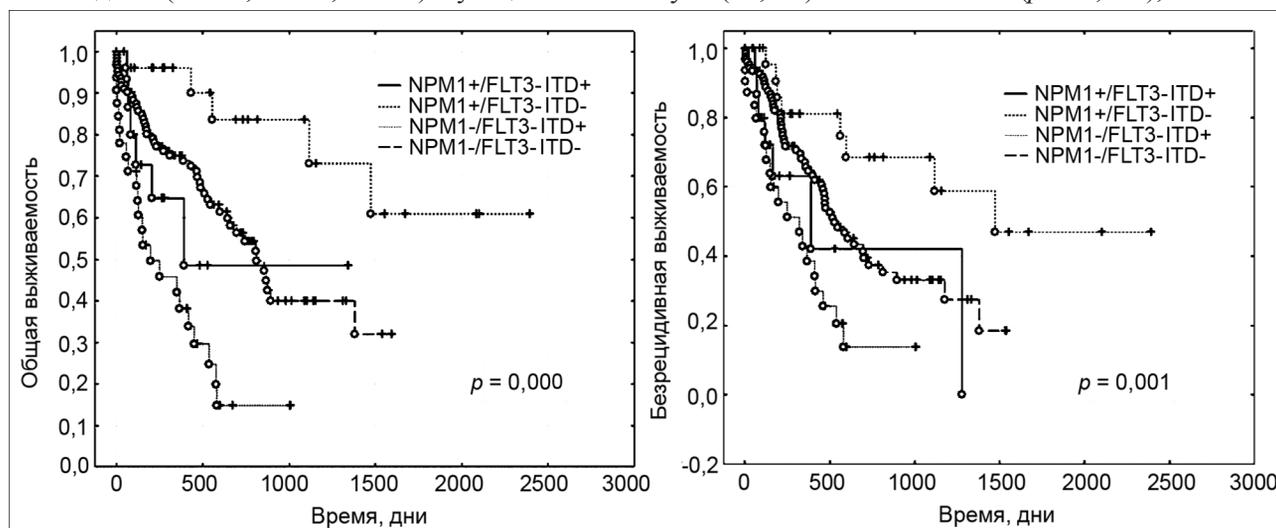
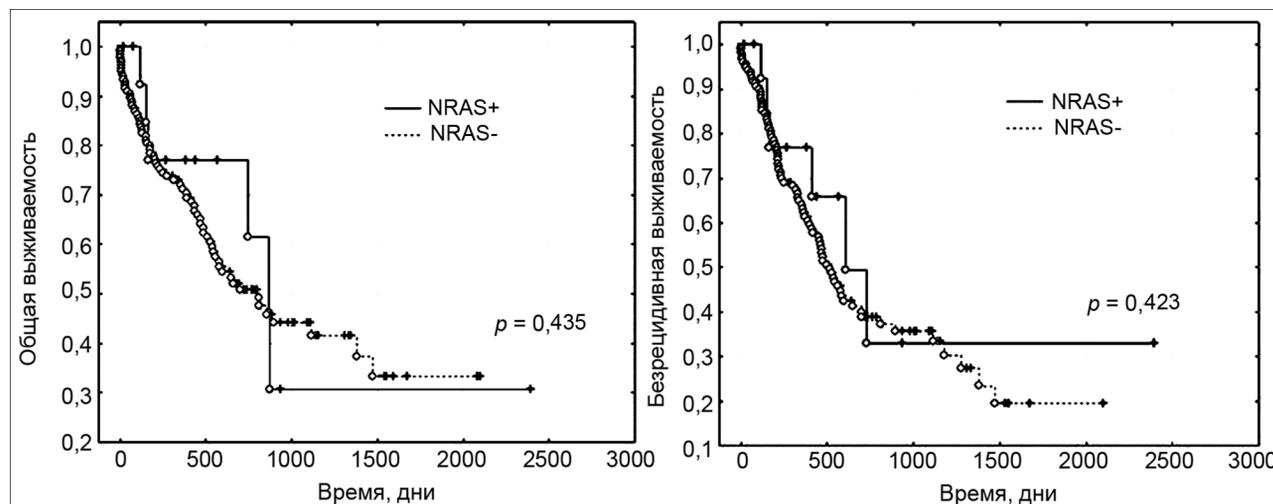


Рис. 5. ОВ и БРВ больных ОМЛ с разным мутационным статусом генов *NPM1* и *FLT3*.

Рис. 6. ОБ и БРВ больных ОМЛ с наличием и без мутаций в *NRAS*.

у больных с *inv(16)*. Половина из 20 больных с мутациями в гене *NRAS* имела нормальный кариотип. Также мутации в *NRAS* были найдены у 4 (7%) из 57 больных с промежуточным прогнозом, у которых детектировали хромосомные поломки, такие как трисомии 8-й и 21-й хромосом, а также *t(10;12)*. У больных с *t(15;17)* и неблагоприятными хромосомными aberrациями ни у одного больного не было обнаружено мутаций в гене *NRAS*, но данная закономерность не была статистически значимой ($p = 0,151$ и $p = 0,057$ соответственно), возможно из-за небольшой исследуемой группы.

Число вышедших в ПР, ОБ и БРВ больных с мутациями и без мутации в *NRAS*, значительно не различались (рис. 6). В группе больных с благоприятным кариотипом, у которых мутации в гене *NRAS* встречались статистически значимо чаще ($p = 0,001$), обнаружена тенденция к ухудшению ОБ и БРВ у больных с мутациями в *NRAS* по сравнению с остальными больными ($p = 0,214$ и $p = 0,160$ соответственно).

В нашем исследовании частота встречаемости мутаций в гене *SKIT* во всей исследуемой группе составила 3%. Мы не выявили статистически значимых различий в количестве лейкоцитов ($40,7 \times 10^9/\text{л}$ и $42,8 \times 10^9/\text{л}$ соответственно) и тромбоцитов ($86,7 \times 10^9/\text{л}$ и $70,4 \times 10^9/\text{л}$ соответственно) в ПК, а также бластных клеток (70 и 61,8% соответственно) в КМ у больных с и без мутаций в *SKIT*. Также не найдены статистически значимые различия в этих группах в отношении возраста или пола больных. Следует отметить, что статистически значимой оказалась высокая встречаемость D816V у больных со вторичными лейкозами (из МДС), чем у больных с *de novo* ОМЛ ($p = 0,001$). Также было детектировано, что мутации в гене *SKIT* значительно чаще встречаются – у 25% больных из группы благоприятного прогноза с *t(8;21)* ($p = 0,001$) (рис. 7).

Медиана ОБ больных с мутациями D816V составила 7,8 мес и 10,2 мес у больных без мутации ($p = 0,254$). При этом наличие мутации в 816-м кодоне гена *SKIT* приводит к значительно худшему показателю БРВ по сравнению с больными без мутации – 6,7 и 8,9 мес соответственно ($p = 0,041$) (рис. 8).

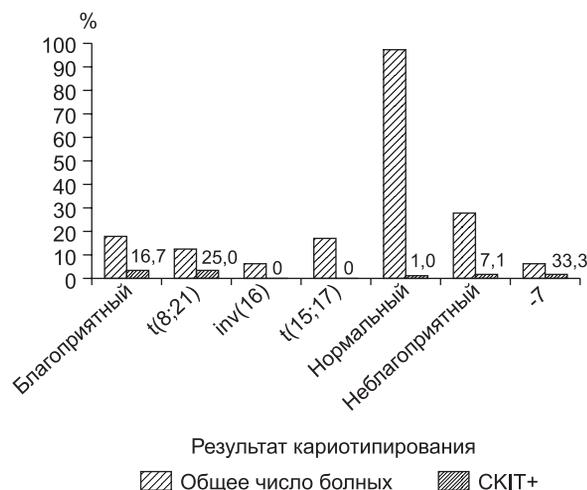
В группе больных с *t(8;21)* нами показана тенденция к уменьшению длительности ОБ и БРВ у больных с мутациями D816V по сравнению с больными без мутации ($p = 0,224$ и $p = 0,162$ соответственно).

По результатам проведенных исследований предложен алгоритм генетической диагностики больных ОМЛ (рис. 9).

Обсуждение

Современная диагностика ОМЛ определяет прогноз течения заболевания и выбор направленной терапии. Повышенный интерес в настоящее время вызывает исследование мутационного статуса генов с высокой частотой встречаемости при ОМЛ, а также со значительным прогностическим потенциалом.

FLT3 играет важную роль в формировании патогенеза острых лейкозов, а наличие мутаций и высокая экспрессия данного гена существенно влияют на прогноз заболевания. Вместе с этим показана [3–5] высокая частота встречаемости мутаций в гене *FLT3*: *FLT3*-ITD у 15–45%, *FLT3*-TKD у 5–10% больных. В результате нашего исследования мутации *FLT3*-ITD обнаружены у 24% больных, *FLT3*-TKD – у 6,5%. Наиболее значимой является ассоциация мутаций в гене *FLT3* с хромосомными перестройками

Рис. 7. Распределение больных ОМЛ с мутациями в *SKIT* в зависимости от варианта кариотипа.

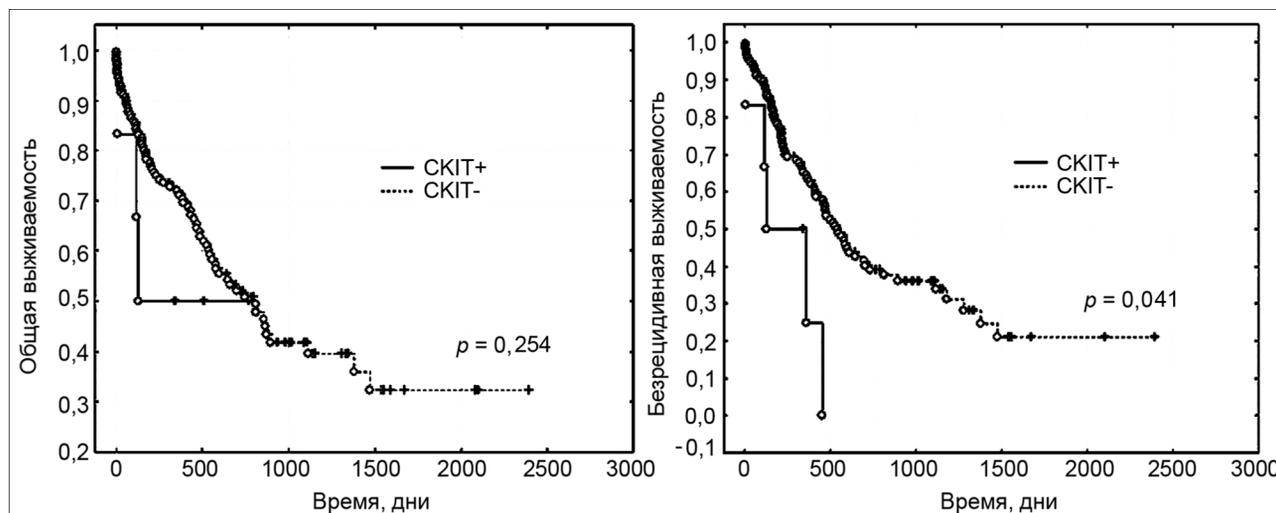


Рис. 8. ОБ и БРВ больных ОМЛ с наличием и без мутаций в *SKIT*.

и мутациями в других генах. В нашей работе мутации в гене *FLT3* чаще обнаруживались у больных с нормальным кариотипом и промежуточным прогнозом. У пациентов с *CBF*-ОМЛ данные мутации детектировались достаточно редко, как и у больных с неблагоприятным прогнозом. Была отмечена высокая частота встречаемости сочетанных мутаций в генах *FLT3* и *NPM1*. Это подтверждает теорию о том, что для запуска лейкогенеза недостаточно наличия одной аберрации. Данный процесс является многоступенчатым и затрагивает как минимум два гена. Эти мутации относятся к различным классам (I и II) и оба гена отвечают за активацию разных сигнальных путей в клетке. Исследование с использованием мышиных моделей подтверждает данный факт [6]. С другой стороны, мутации в гене *FLT3* не обнаруживались в сочетании с мутациями в генах *NRAS* и *SKIT*. Есть предположения о невозможности их сочетанного присутствия в одной клетке из-за принадлежности к мутациям одного (I) класса, так как продукты всех трех генов выполняют в клетке идентичные функции.

Мутации *FLT3*-ITD часто ассоциируют со значительным повышением концентрации лейкоцитов в ПК и высоким процентом бластных клеток в КМ у больных ОМЛ. Данные относительно мутации *FLT3*-TKD остаются противоречивыми, так как некоторые авторы не обнаруживают подобной закономерности [7, 8]. Наличие лейкоцитоза у больных с мутациями в гене *FLT3* можно объяснить тем, что мутации ведут к конститутивной активации рецептора, вызывающей бесконтрольную пролиферацию, блокирование

апоптоза и дифференцировки лейкемических клеток. Данная anomальная активация тирозинкиназы *FLT3* приводит к запуску различных сигнальных путей в клетке, включая регуляцию MAP-киназ, транскрипционного фактора STAT5, Akt-киназ, отвечающих за клеточное деление и способность к выживанию.

На сегодняшний день многие исследовательские лаборатории представили данные о высокой прогностической значимости мутаций в гене *FLT3* [7–9]. Они показали, что наличие мутации *FLT3*-ITD является неблагоприятным прогностическим фактором у больных ОМЛ, влияющим на ОБ, БРВ и бессобытийную выживаемость (БСВ), особенно у больных с промежуточным прогнозом по результатам кариотипирования [10–12]. Нами обнаружено статистически значимое негативное влияние наличия мутации *FLT3*-ITD на ОБ и БРВ по сравнению с остальными пациентами. Даже у пациентов из неблагоприятной возрастной группы старше 65 лет была детектирована тенденция к ухудшению прогноза у пациентов с мутацией. Это дает основание считать, что наличие мутации *FLT3*-ITD является независимым негативным прогностическим маркером. Что касается мутации *FLT3*-TKD, только при сравнении ОБ и БРВ больных с мутациями *FLT3*-TKD и пациентов без мутации *FLT3*-ITD, мы получили отрицательное влияние наличия данной мутации. Таким образом, высокая частота встречаемости и негативное прогностическое влияние мутаций в гене *FLT3* (как *FLT3*-ITD, так и *FLT3*-TKD) у больных ОМЛ, позволили включить их в алгоритм лабораторной диагностики больных ОМЛ.

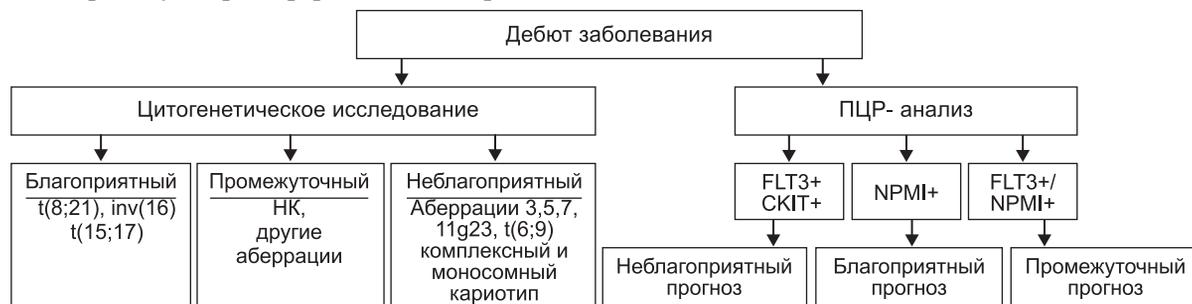


Рис. 9. Алгоритм генетической диагностики больных ОМЛ.

Нуклеофозмин (*NPM1*) вовлечен в разные хромосомные транслокации и играет важную роль в патогенезе лейкозов. Мутации в гене *NPM1* являются одними из наиболее часто встречающихся при ОМЛ [13]. В нашем исследовании доля больных с мутациями в гене *NPM1* составило 20,5%. Было показано, что инсерции в гене *NPM1* характерны для больных с *de novo* ОМЛ без хромосомных aberrаций. По данным литературы [14], значительно чаще мутации *NPM1* встречаются в сочетании с мутациями *FLT3-ITD*, что подтверждает теорию «двух событий» в развитии лейкозогенеза.

Во многих исследованиях показана ассоциация мутаций в гене *NPM1* с более высоким уровнем ПР в группе больных с нормальным кариотипом по сравнению с больными с нормальным кариотипом без мутации. Предполагают [15, 16], что присутствие в лейкозных клетках цитоплазматического *NPM1* обеспечивает повышенную чувствительность этих клеток к воздействию ХТ за счет связывания и инактивации транскрипционного фактора NF-κB. Нами также констатирована тенденция к увеличению процента больных, которые достигли ПР в группе с мутациями в *NPM1* по сравнению с остальными больными. Идентичные результаты получены и у больных с нормальным кариотипом. При анализе ОБ и БРВ в общей обследуемой группе и в группе больных с нормальным кариотипом было обнаружено, что у пациентов с мутациями в гене нуклеофозмина прогноз оказался статистически значимо лучше, чем у больных без мутации.

Полученные данные демонстрировали, что мутации в гене *NPM1* часто встречаются в группе больных с нормальным кариотипом, гетерогенной скоростью ответа на проводимую терапию и длительности ОБ и БРВ, и имеющей промежуточный прогноз течения заболевания. Таким образом, мутационный статус гена *NPM1* может служить важным прогностическим маркером для таких пациентов. В то же время наличие мутации в гене *FLT3* может негативно влиять на прогноз у пациентов с мутациями нуклеофозмина. Эти данные обуславливают целесообразность включения детекции мутационного статуса генов *NPM1* и *FLT3* в современные алгоритмы диагностики ОМЛ.

Семейство протоонкогенов *RAS* играет важную роль в регуляции таких внутриклеточных процессов, как пролиферация, дифференцировка и апоптоз [17]. Несмотря на то что мутации в гене *NRAS* у больных ОМЛ были впервые выявлены в 1987 г. [18], дискуссии о прогностическом влиянии данных мутаций продолжаются до сих пор. Полученные нами результаты не выявили значимого влияния наличия мутаций в *NRAS* на прогноз течения заболевания. Так, число больных, вышедших в ПР, ОБ и БРВ пациентов с мутациями в *NRAS* и без мутации, значительно не отличались. В исследовании U. Vacher и соавт. [19] также не найдено статистически значимых различий при оценке прогноза заболевания у больных с и без мутаций в гене *NRAS*. Однако они обнаружили тенденцию к улучшению прогноза у больных с нормальным кариотипом и мутациями в гене *NRAS* по

сравнению с остальными больными. H. Kiyoi и соавт. [20] показали негативное влияние мутаций в *NRAS* в группе больных с благоприятным кариотипом. M. Krauth и соавт. [21] выделили в своей работе группу больных с t(8;21), у которых изучали влияние мутаций в различных генах на прогноз течения заболевания. В результате они не обнаружили статистически значимых различий по длительности ОБ в группе с мутациями в *NRAS* и без них. Таким образом, основную сложность в корректной оценке прогностического потенциала мутаций в *NRAS* составляет малочисленность исследований и относительно небольшая частота встречаемости данных мутаций. Противоречивые данные о прогностическом значении мутаций в *NRAS* не позволяют на сегодняшний день включить этот маркер в стандартный алгоритм обследования больных ОМЛ.

В нашем исследовании мутация тирозинкиназного домена *CKIT* (D816V) найдена у 6 из 200 больных ОМЛ. Данная мутация является наиболее часто встречаемой по сравнению с мутациями 8-го и 11-го экзонов. В редких случаях исследователи обнаруживают вместе мутации в 8-м и 17-м экзонах *CKIT* [22]. Обнаружение мутаций в гене *CKIT* ассоциируется с благоприятным кариотипом, а именно с *CBF*-лейкозами. В большинстве исследований частота встречаемости мутаций в *CKIT* у больных *CBF*-лейкозами составляет около 25% [23]. Однако в некоторых исследованиях это значение доходит до 50% у больных с t(8;21) [24]. Этот факт дает основание предположить, что кооперация данных нарушений лежит в основе образования лейкозного клона. Данные о том, что у некоторых больных в ПР еще детектируется t(8;21), а мутации в гене *CKIT* уже не обнаруживаются, говорят, что образование *RUNX1-RUNX1T1* является первичным событием в процессе лейкозогенеза, но имеет крайне ограниченный пролиферативный потенциал *in vivo*. Поэтому требуется возникновение второго события – мутации в гене *CKIT*.

Выявление транслокации t(8;21) у больных ОМЛ ассоциируется с благоприятным прогнозом течения заболевания, высоким уровнем ремиссий и длительной медианой выживаемости. Однако присутствие в этой группе мутаций в *CKIT* может существенно изменить прогноз. В некоторых странах диагностику мутаций в *CKIT* уже внесли в стандартный алгоритм обследования больных ОМЛ и есть рекомендации по проведению ТГСК для больных с *CBF*-лейкозами и мутациями в *CKIT* в период первой ПР [25]. По данным нашего исследования, обнаружение мутаций в гене *CKIT* у больных ОМЛ с t(8;21) является частым событием. Наличие мутаций в гене *CKIT* у больных ОМЛ с t(8;21) делает ее гетерогенной в отношении длительности ремиссий и ответа на проводимую терапию. Наличие мутации D816V в гене *CKIT* ассоциируется с высоким риском развития рецидива. Это свидетельствует о важности включения данного маркера в стандартный алгоритм диагностики больных ОМЛ.

Таким образом, из четырех изученных генов, мутации чаще обнаруживали в гене *FLT3*. Мутации в

генах *FLT3* и *NPM1* чаще детектировались у больных ОМЛ с нормальным кариотипом, а в генах *SKIT* и *NRAS* – у больных с благоприятным кариотипом. Мутация *FLT3*-ITD ассоциируется с повышенным содержанием лейкоцитов в ПК и бластных клеток в КМ в дебюте ОМЛ, а также отрицательным влиянием на выживаемость больного и высоким риском развития рецидива. Мутация *FLT3*-TKD статистически значимо снижает ОВ и БРВ у больных ОМЛ по сравнению с больными с генотипом *FLT3*-ITD⁻. Инсерции в гене *NPM1* у больных ОМЛ являются благоприятным фактором, коррелирующим с длительной БРВ у всех больных, за исключением больных с генотипом *FLT3*-ITD⁺/*NPM1*⁺. Мутации в гене *SKIT* чаще встречаются у больных с t(8;21) и связаны с высоким риском рецидива заболевания у больных ОМЛ. Мутации в гене *NRAS* статистически значимо не влияют на прогноз у больных ОМЛ. Значительный прогностический потенциал генов *SKIT*, *NPM1* и *FLT3* позволяет рекомендовать проведение скрининга их мутационного статуса наряду с изучением хромосомных aberrаций у всех больных ОМЛ при первичной диагностике независимо от результатов других исследований. Поиск сочетанной встречаемости мутаций в генах, несущих разную функциональную нагрузку, необходим для установления наиболее точного прогноза течения заболевания у больных ОМЛ.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Grimwade D., Hills R.K., Moorman A.V., Walker H., Chatters S., Goldstone A.H., et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trial. *Blood*. 2010; 116(3): 354–65.
- Renneville A., Roumier C., Biggio V., Nibourel O., Boissel N., Fenaux P., et al. Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia*. 2008; 22(5): 915–31.
- Abu-Duhier F., Goodeve A., Wilson G., Care R., Peake I., Reilly J. Identification of novel FLT3 Asp835 mutations in adult acute myeloid leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2001; 113(4): 983–8.
- Chan P.M. Differential signaling of Flt3 activating mutations in acute myeloid leukemia: a working model. *Protein Cell*. 2011; 2(2): 108–15. doi:10.1007/s13238-011-1020-7.
- Georgiou G., Karali V., Zouvelou C., Kyriakou E., Dimou M., Chrisochou S., et al. Serial determination of FLT3 mutations in myelodysplastic syndrome patients at diagnosis, follow up or acute myeloid leukaemia transformation: incidence and their prognostic significance. *Br. J. Haematol.* 2006; 134(3): 302–6.
- Rau R., Magoon D., Greenblatt S., Li L., Annesley C., Duffield A., et al. NPMc+ cooperates with Flt3/ITD mutations to cause acute leukemia recapitulating human disease. *Exp. Hematol.* 2014; 42(2): 101–13.
- Fröhling S., Schlenk R., Breitnick J., Benner A., Kreitmeier S., Tobis K., et al. AML Study Group Ulm. Acute myeloid leukemia. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood*. 2002; 100(13): 4372–80.
- Stirewalt D., Kopecky K., Meshinchi S., Appelbaum F., Slovak M., Willman C., et al. FLT3, RAS, and TP53 mutations in elderly patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2001; 97(11): 3589–95.
- Port M., Böttcher M., Thol F., Ganser A., Schlenk R., Wasem J., et al. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication, nucleophosmin 1, and CEBPA gene mutations for acute myeloid leukemia patients with normal karyotype and younger than 60 years: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Hematol.* 2014; 93(8): 1279–86.
- Koh Y., Park J., Ahn K., Kim I., Bang S., Lee J., et al. Different clinical importance of FLT3 internal tandem duplications in AML according to FAB classification: possible existence of distinct leukemogenesis involving monocyte differentiation pathway. *Ann. Hematol.* 2009; 88(11): 1089–97. doi: 10.1007/s00277-009-0733-7.
- Levis M. FLT3 mutations in acute myeloid leukemia: what is the best approach in 2013? *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. 2013; 2013: 220–6. doi: 10.1182/asheducation-2013.1.220.
- Meshinchi S., Appelbaum F. Structural and functional alterations of FLT3 in acute myeloid leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15(13): 4263–9.
- Falini B., Nicoletti I., Martelli M., Mecucci C. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPMc+ AML): biologic and clinical features. *Blood*. 2007; 109(3): 874–85.
- Falini B., Martelli M.P., Bolli N., Sportoletti P., Liso A., Tiacci E., Haferlach T. Acute myeloid leukemia with mutated nucleophosmin (NPM1): is it a distinct entity? *Blood*. 2011; 117(4): 1109–20. doi: 10.1182/blood-2010-08-299990.
- Cilloni D., Messa F., Rosso V., Arruga F., Defilippi I., Carturan S., et al. Increase sensitivity to chemotherapeutic agents and cytoplasmic interaction between NPM leukemic mutant and NF-kappaB in AML carrying NPM1 mutations. *Leukemia*. 2008; 22(6): 1234–40. doi: 10.1038/leu.2008.68.
- Federici L., Falini B. Nucleophosmin mutations in acute myeloid leukemia: A tale of protein unfolding and mislocalization. *Protein Sci.* 2013; 22(5): 545–56.
- Johnson D.B., Smalley K.S., Sosman J.A. Molecular pathways: targeting NRAS in melanoma and acute myelogenous leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2014; 20(16): 4186–92.
- Bos J.L., Verlaan-de Vries M., van der Eb A.J., Janssen J.W., Delwel R., Löwenberg B., Colly L.P. Mutations in N-Ras predominate in acute myeloid leukemia. *Blood*. 1987; 69: 1237–41.
- Bacher U., Haferlach T., Schoch C., Kern W., Schnittger S. Implications of NRAS mutations in AML: a study of 2502 patients. *Blood*. 2006; 107(10): 3847–53.
- Kiyoi H., Naoe T., Nakano Y., Yokota S., Minami S., Miyawaki S., et al. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood*. 1999; 93(9): 3074–80.
- Krauth M.T., Eder C., Alpermann T., Bacher U., Nadarajah N., Kern W., et al. High number of additional genetic lesions in acute myeloid leukemia with t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1: frequency and impact on clinical outcome. *Leukemia*. 2014; 28(7): 1449–58.
- Care R.S., Valk P.J., Goodeve A.C., Abu-Duhier F.M., Geertsma-Kleinekoort W.M., Wilson G.A., et al. Incidence and prognosis of CKIT and FLT3 mutations in core binding factor (CBF) acute myeloid leukaemias. *Br. J. Haematol.* 2003; 121(5): 775–7.
- Boissel N., Leroy H., Brethon B., Philippe N., de Botton S., Auvrignon A., et al. Incidence and prognostic impact of c-kit, FLT3, and Ras gene mutations in core binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML). *Leukemia*. 2006; 20(6): 965–70.
- Wang Y.Y., Zhou G.B., Yin T., Chen B., Shi J.Y., Liang W.X., et al. AML1-ETO and C-KIT mutation overexpression in t(8;21) leukemia: Implication in stepwise leukemogenesis and response to Gleevec. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005; 102(4): 1104–9.
- Machado L.E., Pinho J.R., Sitnik R., Muto N.H., Velloso E.D., Petroni R.C., Campregher P.V. The detection of KIT mutations in acute myeloid leukemia. *Einstein (Sao Paulo)*. 2012; 10(3): 286–91.

Поступила 22.12.15

Принята к печати 10.05.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016
УДК 615.837.3.03:616.006.4.04].015.44

Воробьев А.И.^{1,2}, Горгидзе Л.А.², Захаров В.Н.³, Четчин В.Г.⁴, Кременецкая О.С.¹, Шевелев А.А.², Шкловский-Корди Н.Е.²

ВЛИЯНИЕ УДАРНО-ВОЛНОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МИКРОСЕКУНДНОГО ДИАПАЗОНА НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

¹ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, 119991, г. Москва, Россия; ²ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия; ³ФНПЦ АО «Московский радиотехнический институт» РАН, 117519, г. Москва, Россия; ⁴ФГБУН «Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша» РАН, 125047, г. Москва, Россия

Исследована возможность разрушения или структурных изменений злокачественных опухолевых клеток при воздействии на них коротких (микросекундного диапазона) ударно-волновых импульсов. Показано, что при воздействии на крупные опухолевые клетки ударно-волновых импульсов микросекундного диапазона наблюдаются изменения в структурной организации хроматина ядра, при этом удалось достигнуть эффекта повреждения именно опухолевых клеток, оставив неизменными здоровые.

Ключевые слова: злокачественные опухоли; лимфома; хроматин; ударно-волновое воздействие; ультразвук.

Для цитирования: Воробьев А.И., Горгидзе Л.А., Захаров В.Н., Четчин В.Г., Кременецкая О.С., Шевелев А.А., Шкловский-Корди Н.Е. Влияние ударно-волнового воздействия микросекундного диапазона на опухолевые клетки. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(2): 81-87. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-81-87

Vorobiev A.I.^{1,2}, Gorgidze L.A.¹, Zakharov V.N.³, Chechetkin V.G.⁴, Kremetskaya O.S.¹, Shevelev A.A.¹, Shklovskiy-Kordi N.E.¹

INFLUENCE OF THE SHOCK-WAVE PULSES OF MICROSECOND-RANGE ON TUMOR CELLS

¹Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology, Moscow, 119991, Russian Federation; ²National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation; ³Moscow Radiotechnical Institute of Russian Academy of Sciences, Moscow, 117519, Russian Federation; ⁴Keldysh Institute of Applied Mathematics of Russian Academy of Sciences, Moscow, 125047, Russian Federation

The possibility of destruction or structural changes of tumor cells exposed to short (microsecond range) shock-wave pulses was investigated. It was shown that changes in the structural organization of the nuclear chromatin were observed under the influence of shock-wave pulses of microsecond range on large tumor cells. The effect of tumor cells damage was achieved, normal cells remained to be intact.

Key words: malignant tumors; lymphoma; chromatin; shock-wave influence; ultrasound.

For citation: Vorobiev A.I., Gorgidze L.A., Zakharov V.N., Chechetkin V.G., Kremetskaya O.S., Shevelev A.A., Shklovskiy-Kordi N.E. Influence of the shock-wave pulses of microsecond-range on tumor cells. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2016; 61(2): 81-87. (in Russian). DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-81-87

Acknowledgments. The authors thank for fruitful discussions Vera A. Khokhlova.

Funding. The study was supported by Grant of the President of Russian Federation (НИИ 96-15-98100) and RFBR 13-07-00967, 13-07-00847, 14-07-00904, 16-29-12998, 16-07-01140, 16-07-01047A.

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

Received 30 Jan 2016
Accepted 10 May 2016

Истоки этой работы восходят к середине 1950-х годов, когда в лаборатории, руководимой Андреем Константиновичем Буровым, были поставлены первые опыты по исследованию воздействия мощных ультразвуковых (УЗ) волн на злокачественные опухоли животных, а позднее и человека. В работе принимал участие коллектив онкологов, возглавляемый акад. Н.Н. Блохиным. В лаборатории разрабатывали мощные УЗ-излучатели и с повышением мощности ярче проявлялись биологические эффекты ультразвука. Одновременно были сделаны пионерские работы в области, позднее

получившей название нелинейной акустики [1, 2].

В 1960-х годах при изучении морфологии клеток острого лейкоза было обращено внимание на опухолевую прогрессию [3–5]: в рецидивах опухолевые клетки увеличивают свою площадь и наращивают искажения геометрии формы [6, 7]. Ясно, что форма, размеры клеток в препарате представляют собой артефакт, но артефакт абсолютно закономерный. Когда были измерены площади лейкозных клеток в начале болезни и в рецидиве, всегда обнаруживалось увеличение периметра, т.е. степень искажений формы и при этом оказалось,

Для корреспонденции:

Шкловский-Корди Никита Ефимович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, Москва, Россия. E-mail: nikitashk@gmail.com.

For correspondence:

Shklovskiy-Kordi Nikita E., BD, PhD, senior researcher Hematological Research Center, 125167, Moscow, Russia. E-mail: nikitashk@gmail.com.

Information about authors:

Vorobiev A.I., <http://orcid.org/0000-0003-2531-1561>, Researcher ID: L-2684-2013; Gorgidze L.A., <http://orcid.org/0000-0001-5235-2356>, Researcher ID: P-8181-2014; Zakharov V.N., <http://orcid.org/0000-0002-2720-5327>; Chechetkin V.G., <http://orcid.org/0000-0002-9534-0475>; Kremetskaya O.S., <http://orcid.org/0000-0002-9849-6416>, Researcher ID: N-6388-2014; Shevelev A.A., <http://orcid.org/0000-0001-5480-6374>; Shklovskiy-Kordi N.T., <http://orcid.org/0000-0002-1413-1154>, ResearcherID is: F-7980-2016.

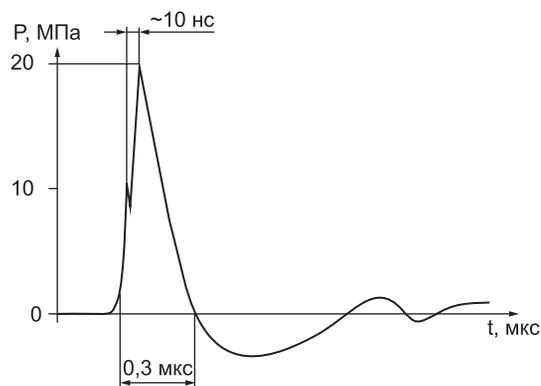


Рис. 1. Вид типичного ударно-волнового импульса со ступенькой на фронте.

что таким образом можно наблюдать связь между формой клетки и ее опухолевой сущностью. Было обращено внимание на то, что клетки опухоли сплошь и рядом разрушаются при приготовлении препаратов (мазков). Количество разрушенных клеток в диагностических препаратах возрастает по мере прогрессии опухоли. Это не обязательное, но нередкое свойство. Тогда возникла морфологически обоснованная идея попытки механического воздействия на эти клетки, тем более раз они опухолевые, то несут отличный от нормального геном, что может означать большую чувствительность к различным цитотоксическим воздействиям по сравнению с нормальными клетками. Когда исходное повреждение дополняется повреждением лечебными препаратами (цитостатиками), есть основания ожидать, что такая клетка будет менее устойчива и к механическому воздействию [8–12].

Таким образом, возникла идея воздействовать на клетки опухолей ударно-волновыми полями. При этом предполагалось, что вследствие малых размеров клеток реальное воздействие на них будет осуществляться именно на фронте волны, а конкретнее – на искажениях (пикообразных «скачках» – ступеньках) фронта, образующихся при фокусировке (рис. 1). При длительности положительной фазы импульса $\sim 0,5$ – 1 мкс длительность таких «скачков» составляет доли наносекунд (нс), что наглядно показано на рис. 1: типичный вид ударно-волнового импульса со ступенькой на фронте аппарата Медолит-Т.

Ударно-волновое возмущение представляет собой нечто среднее между ультразвуком и ударной волной. При ударной волне угол наклона фронта много больше угла наклона хвоста, при ультразвуке угол наклона фронта равен углу наклона хвоста, при ударно-волновом импульсе угол наклона фронта немного больше угла наклона хвоста, пачки импульсов в отличие от ультразвука не используются. Длительность пика возмущения единичного ударно-волнового комплекса соответствует длительности УЗ-волны.

УЗ-волны в медицине применяют в диагностических системах с рабочим диапазоном частот

от 1 до 30 МГц и мощностью не более $0,05$ Вт/см², что минимизирует возможность биологического действия на облучаемые ткани.

В физиотерапии используют ненаправленное УЗ-облучение с частотой $0,8$ – 3 МГц и интенсивностью у поверхности излучающей головки $0,25$ – 3 Вт/см².

Сравнительно новая технология HIFU (фокусированный ультразвук высокой интенсивности) использует частоты 500 КГц – 2 МГц, перепады давления выше 50 МПа и высокую интенсивность в зоне фокусировки (до 2000 Вт/см²) при низкой интенсивности у поверхности трансдьюсера (5 – 8 Вт/см²). Метод HIFU прошел клинические испытания при лечении различных доброкачественных и злокачественных опухолей (фиброиды матки, доброкачественная гиперплазия предстательной железы, опухоли печени и почек, костные метастазы и др.). В последние годы разработаны модификации HIFU, названные УЗ-гистотрипсией [13], позволяющие осуществлять эмульсификацию тканей на глубине в заданном объеме за счет формирования кавитационного облака (короткие пучки ударно-волновых комплексов длительностью 1 – 20 мкс) или за счет быстрого локального вскипания ткани и взаимодействия ударных фронтов с образующейся паро-газовой полостью (пучки миллисекундной длительности).

Использованное в настоящей работе экстракорпоральное ударно-волновое воздействие отличается от HIFU низкой частотой подачи импульсов и преобладанием механических эффектов (в том числе кавитационного) над тепловым. Форма одиночной воздействующей волны и уровни перепадов давлений похожи на используемые при гистотрипсии.

Краткий обзор работ по воздействию ударно-волновыми импульсами на опухолевые клетки

Вполне естественно, что после внедрения в клиническую практику литотриптерных методов экстракорпорального воздействия, исследователями был проявлен интерес в использовании такого воздействия для лечения других видов заболеваний, в частности опухолей [14–16].

В США и Японии опубликованы результаты по дезинтеграции опухолей и подавлению роста опухолей при использовании литотриптерного воздействия совместно с противоопухолевыми препаратами [15, 17–19]. Вследствие того, что амплитуды воздействия были достаточно большими (для литотрипсии характерны амплитуды воздействия в 60 – 110 МПа при длительностях $\sim 0,5$ – $1,2$ мкс), воздействие сказывалось, в том числе негативно, и для здоровых клеток [20–22].

Первые в нашей стране работы, проведенные на белых лабораторных крысах в 7-м Центральном военном клиническом авиационном госпитале (ныне Филиал 1 ФГКУ «Главный военный

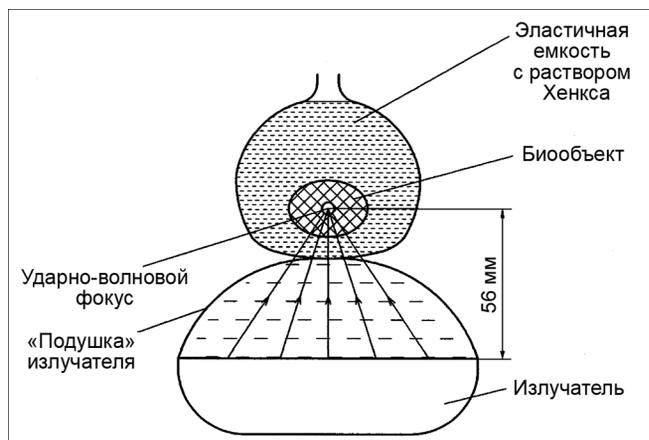


Рис. 2. Схема ударно-волнового воздействия на опытный образец ткани лимфатического узла.

клинический госпиталь им. акад. Н.Н. Бурденко» Минобороны России), в целом подтвердили ранее опубликованные результаты. Более подробные исследования были проведены в Новосибирске в институте гидродинамики им. М.А. Лаврентьева Сибирского отделения РАН [23, 24].

Использовали амплитуды в 25–45 МПа с длительностью импульсов ~0,5–1,0 мкс, создаваемых короткофокусной (60 мм) линзой с электромагнитным способом инициирования пучка. Работы по ударно-волновому воздействию (УВВ) проводили на клетках асцитной опухоли Кребс-2. Базовая идея работы – понизить количество опухолевых клеток, которые «ускользнули» от химиотерапии. Были сделаны следующие выводы:

- УВВ оказывает повреждающее действие на опухолевые клетки, которое может приводить к их гибели; количество погибших клеток в период УВВ находится в прямой зависимости от количества поданных импульсов;

- УВВ практически не влияет на функциональную активность оставшихся жизнеспособных опухолевых клеток, о чем свидетельствует прогрессивный рост опухоли при последующей прививке этих клеток мышам;

- УВВ существенно повышает чувствительность опухолевых клеток к противоопухолевому препарату циклофосфану, в результате чего противоопухолевый эффект химиопрепарата в значительной степени усиливается;

- относительно длительный интервал времени между УВВ и введением химиопрепарата (30 мин) позволяет говорить об устойчивых изменениях функциональных свойств мембраны;

- УВВ приводит к существенным изменениям мембранной проницаемости клеток, что доказывается прямыми измерениями методом рентгенофлуоресцентного анализа;

- обнаружение свободных радикалов после УВВ допускает возможность свободно-радикального механизма изменения мембранной проницаемости; предполагается, что образуются свобод-



Рис. 3. Внешний вид аппарата Медолит-Т.

ные радикалы, прежде всего из перекиси водорода, которая всегда имеется внутри клетки в сравнительно больших количествах.

Кроме того, в этих работах предполагается, что основной механизм воздействия – кавитационный.

Основной целью настоящего исследования является определение возможности разрушения опухолевых клеток человека за счет воздействия на них короткими и сверхкороткими ударно-волновыми импульсами, создаваемыми в водной среде и фокусируемыми на зону интереса.

Задачи данного исследования:

- определение возможности разрушения или структурных изменений опухолевых клеток при воздействии на них коротких (микросекундного диапазона) ударно-волновых импульсов;
- определение характера воздействия на опухолевые и нормальные клетки.

Материал и методы

Исследования проводили *in vitro*. В качестве исследуемых образцов были выбраны лимфатические узлы (ЛУ) больных с двумя принципиально разными опухолями – диффузной В-крупноклеточной лимфомой (В-ККЛ) и раком с метастазами в ЛУ. В обоих случаях нормальная ткань ЛУ замещается крупными атипичными опухолевыми клетками, однако в небольшом количестве остаются также мелкие и средние реактивные лимфоидные клетки зрелого вида.

Биопсированный материал (фрагмент ЛУ) помещали в раствор Хенкса сразу же после операции, при поддерживаемой температуре ~35°C. Через 1–1,5 ч (после транспортировки материала от места забора проб к месту обработки) делали отпечатки с ткани ЛУ («нулевая точка» эксперимента) с целью установления факта сохранения морфологической картины материала при транспортировке. Далее материал делили на две порции, одну из которых считали контрольной (без УВВ), а вторую – опытной.

Предназначенную для исследований пробу опытного образца объемом ~1 см³ размещали в эластичной

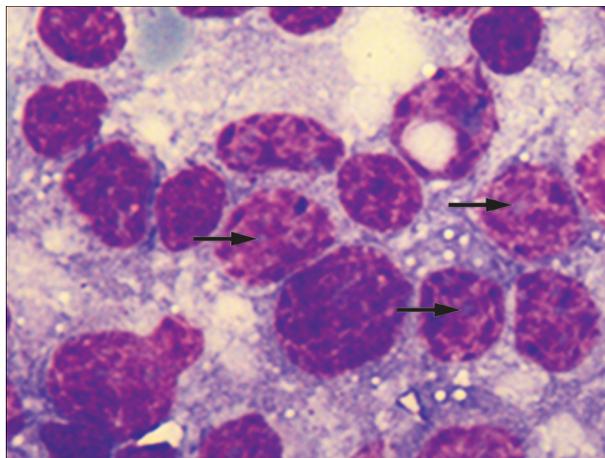


Рис. 4. Контрольная проба непосредственно после транспортировки.

мембране с толщиной стенки $\sim 0,2$ мм, в которую добавляли $\sim 8-10$ см³ раствора Хенкса.

Эластичную мембрану закрепляли на подушке (см. схему воздействия на **рис. 2**) излучателя аппарата Медолит-Т (**рис. 3**) (регистрационное удостоверение № ФС 02262004/1379-05). Между подушкой и эластичной емкостью помещали слой УЗ-геля для прохождения ударно-волнового пучка к биообъекту без потерь. Ткань ЛУ совмещали с ударно-волновым фокусом излучателя аппарата Медолит-Т.

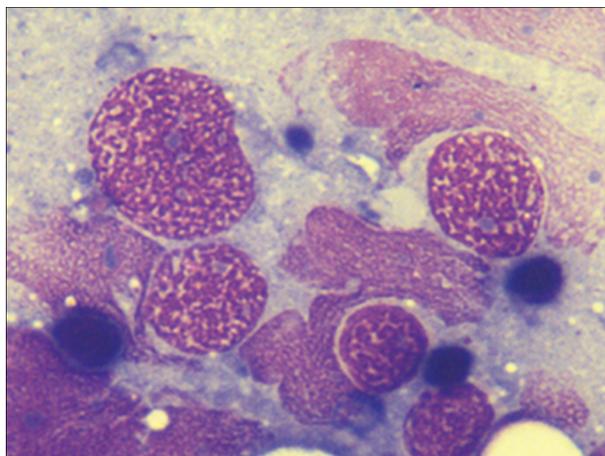


Рис. 5. Отпечаток опытной пробы непосредственно после ударно-волнового воздействия.

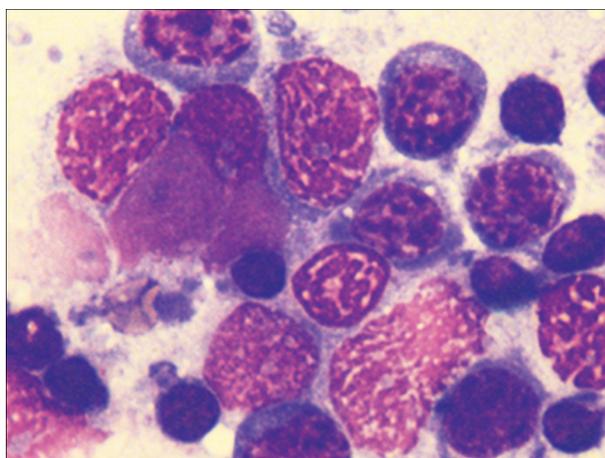


Рис. 6. Состояние опытной пробы через 1,5 ч после ударно-волнового воздействия.

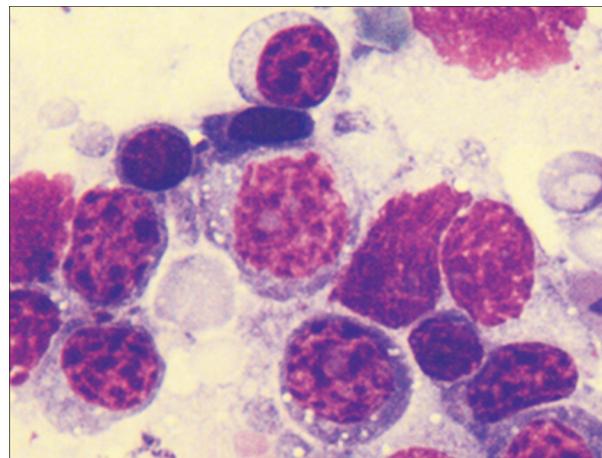


Рис. 7. Состояние контрольной (необработанной) пробы в то же время, что и проба на **рис. 6**.

Подавали 2000 ударно-волновых импульсов с частотой 4 Гц (полное время обработки не более 8,5 мин) с перепадом давления от 20 до 40 МПа, длительностью ударно-волнового импульса от 0,8 до 1,3 мкс с крутизной его фронта от 0,3 до 0,4 мкс. Объемный размер ударно-волнового фокуса с величиной амплитуды не менее 0,5 от максимума составлял ~ 2 см³. Непосредственно после ударно-волновой обработки с опытного материала делали отпечатки. Затем обработанный и контрольный материалы помещали в транспортную тару, и следующий контроль проводили после его доставки (через 1,5 ч) к месту забора проб.

Спустя 1,5–5 ч после УВВ делали следующие отпечатки с ткани ЛУ в контрольной и опытной пробах.

Затем проводили анализ всего объема контрольных и обработанных проб.

Результаты

Описание эксперимента

Исследование влияния УВВ на клетки ЛУ с поражением диффузной В-ККЛ.

На **рис. 4** показано состояние контрольной пробы после транспортирования материала от места забора к месту обработки.

На **рис. 5** показано состояние опытной пробы непосредственно после УВВ. В отличие от контрольной пробы (см. **рис. 4**) ядра опухолевых кле-

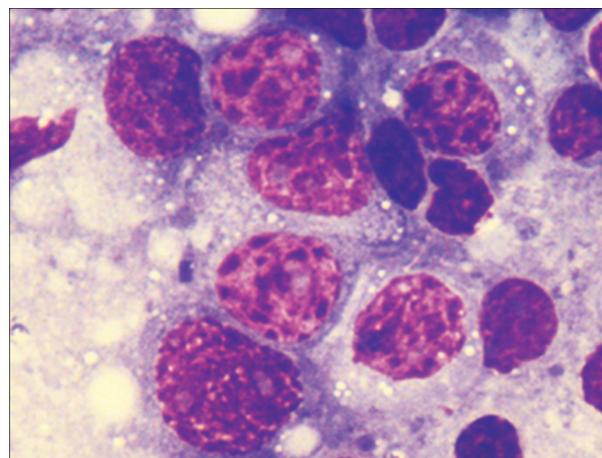


Рис. 8. Состояние обработанной пробы через 3 ч после ударно-волнового воздействия.

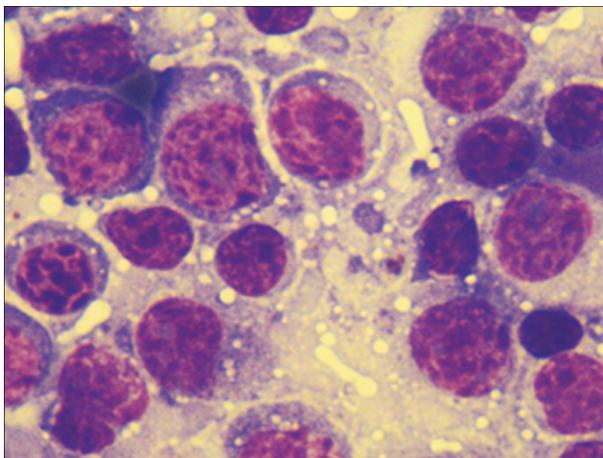


Рис. 9. Состояние контрольной (необработанной) пробы через 3 ч после ударно-волнового воздействия на опытную пробу.

ток стали значительно светлее из-за видимых изменений, произошедших в структуре хроматина: хроматин представляет собой хаотично расположенные тонкие нити, напоминающие хромонемы в профазе митоза.

На **рис. 6** показано состояние пробы спустя 1,5 ч после ударно-волнового воздействия (или непосредственно в месте забора проб после обратной транспортировки). Хроматин крупных опухолевых клеток, также как и после непосредственного ударно-волнового воздействия (см. **рис. 5**), нитчатый, однако нити примерно в 2 раза толще. Как видно из **рис. 5** и **рис. 6**, воздействию подвергаются только крупные опухолевые клетки, хроматин малых лимфоцитов остается интактным.

На **рис. 7** показано состояние контрольной (необработанной) пробы в то же время, что и проба на **рис. 6**. Крупные опухолевые клетки содержат хроматин в виде множественных глыбок, как и в «нулевой точке» эксперимента.

На **рис. 8** показано состояние опытной пробы через 3 ч после УВВ. Хроматин ядер ничем не отличается от хроматина в контрольных (не подвергшихся ударным воздействиям) клетках.

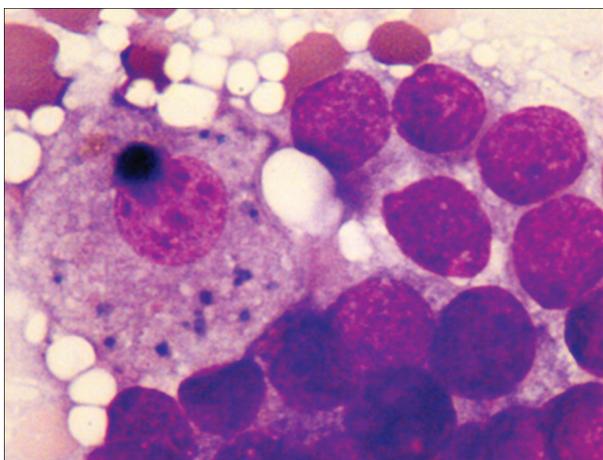


Рис. 10. Состояние контрольной необработанной пробы («нулевая точка»).

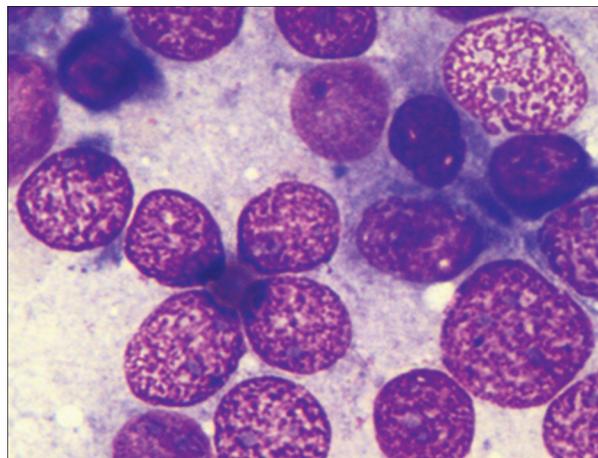


Рис. 11. Состояние обработанной пробы через 2 ч после ударно-волнового воздействия.

На **рис. 9** показано состояние контрольной (необработанной) пробы через 3 ч после ударно-волнового воздействия. Крупные опухолевые клетки содержат хроматин глыбчатого вида как и во всех отпечатках, сделанных на более ранних сроках.

Исследования влияния ударно-волнового воздействия на пробы ЛУ с метастазами рака.

На **рис. 10** показано состояние контрольной пробы («нулевая точка» эксперимента) непосредственно перед УВВ. Хроматин ядер – мелкозернистый, зерна тесно прилегают друг к другу, ядра клеток темные.

На **рис. 11** показано состояние пробы через 2 ч после УВВ. Видно, что произошли изменения в организации хроматина – из мелкозернистого хроматин стал нитчатым, хроматиновые нити четко отделены одна от другой, в результате чего ядра клеток стали более светлыми.

На **рис. 12** показано состояние контрольной (необработанной) пробы в то же время, при которой осуществлялся контроль обработанной пробы на **рис. 11**. Клетки ничем не отличаются от первого контроля.

На **рис. 13** показано состояние обработанной пробы через 4 ч после УВВ. Хроматиновые нити

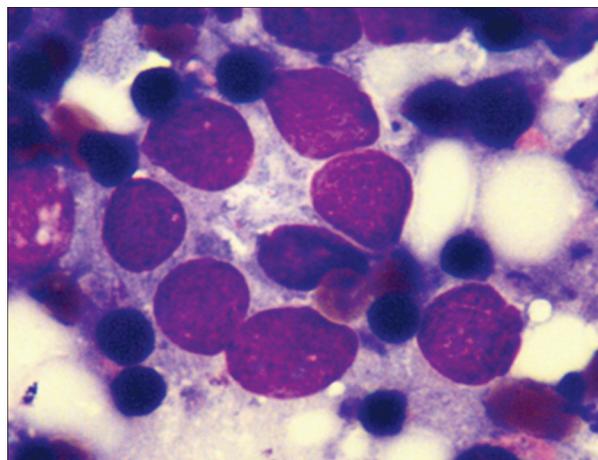


Рис. 12. Состояние контрольной (необработанной) пробы через 2 ч. Клетки ничем не отличаются от первого контроля.

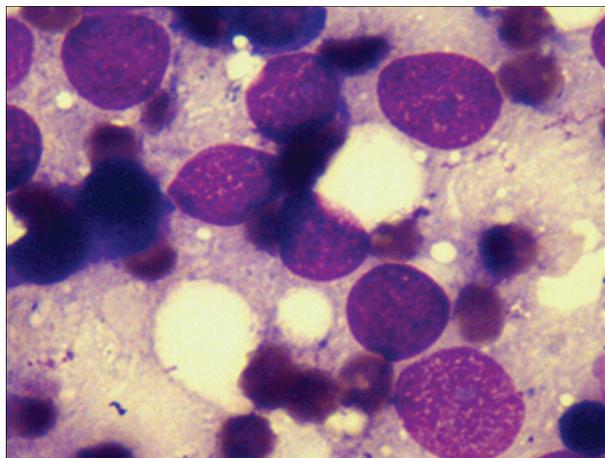


Рис. 13. Состояние обработанной пробы через 4 ч после ударно-волнового воздействия.

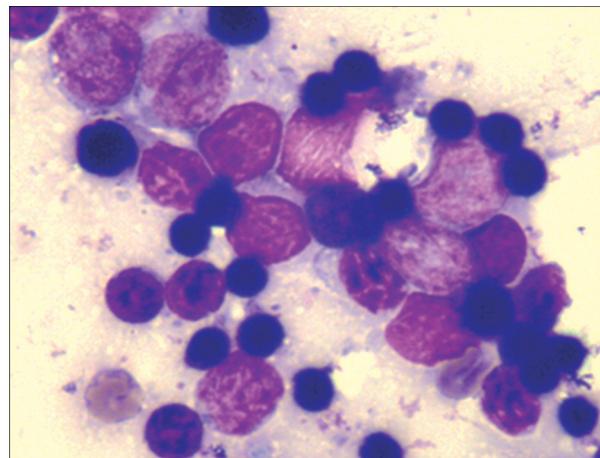


Рис. 14. Состояние контрольной пробы через 4 ч.

плотнее расположены друг к другу, чем через 2 ч после УВВ.

На рис. 14 показано состояние контрольной (необработанной) пробы в то же время (через 4 ч), при которой осуществлялся контроль обработанной пробы на рис. 13. Крупные клетки со светлыми ядрами – раковые клетки, мелкие клетки с темным и плотными ядрами – лимфоциты.

Выводы

1. При воздействии на крупные опухолевые клетки ударно-волновых импульсов микросекундного диапазона наблюдаются изменения в структурной организации хроматина ядра. Хроматин из мелко-глыбчатого становится нитчатым, напоминающая хромонемы в митотических (профазных клетках).

2. Максимальное разрыхление хроматина наблюдается сразу после УВВ и через 1,5 ч после него. Через 3 ч хроматин начинает возвращаться в исходное состояние, через 5 ч обработанные клетки ничем не отличаются от клеток в контроле.

3. Воздействию подвергаются только крупные опухолевые клетки, организация хроматина в мелких зрелых лимфоцитах, присутствующих на срезе одновременно с опухолевыми клетками, не меняется.

4. Проведенная работа подтверждает результаты новосибирских исследователей. Существенным отличием является то, что в настоящей работе удалось достигнуть эффекта дезорганизации ядерного аппарата именно опухолевых клеток, оставив неизменными здоровые клетки. Раньше достичь этого результата не удавалось.

Таким образом, в дальнейшем переход в изучении влияния на опухолевую клетку с ударно-волнового воздействия на УЗ-излучение терапевтической мощности, возможно, с меньшими, чем при гистотрипсии, перепадами давления, но в сочетании с лекарственными препаратами, позволит дополнительно проявиться таким тканевым эффектам, как тепловой и сонодинамический,

и лучше дифференцировать границы чувствительности опухолевой и здоровой клетки.

Благодарности. Авторы выражают благодарность за плодотворное обсуждение Вере Александровне Хохловой.

Финансирование. Исследование было поддержано грантом Президента Российской Федерации (НШ 96-15-98100) и грантами Российского фонда фундаментальных исследований №13-07-00967, 13-07-00847, 14-07-00904, 16-29-12998, 16-07-01140, 16-07-01047А.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буров А.К., Андреевская Г.Д. Воздействие ультра-акустических колебаний высокой интенсивности на злокачественные опухоли у животных и человека. *Доклады академии наук СССР*. 1956; 106(3): 445–448.
2. Буров В.А., Дмитриева Н.П., Руденко О.В. Нелинейный ультразвук: разрушение микроскопических биокомплексов и нетепловое воздействие на злокачественную опухоль. *Доклады академии наук*. 2002; 383(3): 401–4.
3. Воробьев А.И., Пяткин Е.К. Опухолевая прогрессия при лейкозах и ретикулезах. В кн.: И.А. Кассирский, ред. *Генетика в гематологии*. М.: Медицина; 1967: 316–27.
4. Воробьев А.И. Опухолевая прогрессия и некоторые вопросы патогенеза лейкозов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 1968.
5. Воробьев А.И. Опухолевая прогрессия в патогенезе лейкозов. *Клиническая медицина*. 1970; 4: 62–9.
6. Воробьев А.И., Бриллиант М.Д. Изменение размеров ядер патологических клеток. Материалы научно-практических работ 6-й клинической больницы Минздрава СССР. М.; 1968.
7. Воробьев А.И., Бриллиант М.Д. Связь изменений ядер патологических клеток с некоторыми особенностями патогенеза хронического лимфолейкоза. Материалы краевой конференции терапевтов и гематологов «Современные проблемы хронического лимфолейкоза». Сочи; 1972.
23. Мастихин И.В., Николин В.П., Чесленко В.С., Зеленцов Е.Л., Майер В.А., Дикалов С.И. Повышение чувствительности опухолевых клеток к циклофосфану в результате ударно-волнового воздействия. *Доклады академии наук*. 1995; 342(2): 262–4.
24. Тесленко В.С. Воздействие ударных волн и цитостатиков на опухолевые клетки. В сборнике научных трудов 3-го научно-го семинара СНГ по акустике неоднородных сред Института гидродинамики им. М.А. Лаврентьева Сибирского отделения РАН. 1995; Вып. 110. Акустика неоднородных сред: 170–6.

REFERENCES

1. Burov A.K., Andreevskaya G.D. Exposure to ultrahigh intensity acoustic waves on malignant tumors in animals and humans. *Reports of the Academy of Sciences of the USSR. Russian journal (Doklady akademii nauk SSSR)* 1956; 106(3): 445–8. (in Russian)

2. Burov V.A., Dmitrieva N.P., Rudenko O.V. The non-linear ultrasound: the destruction of microscopic biological complexes and non-thermal effects on malignant tumor. *Reports of the Academy of Sciences. Russian journal (Doklady akademii nauk)*. 2002; 383(3): 401–4. (in Russian)
3. Vorobiev A.I., Pyatkin E.K. Tumor progression in leukemia and reticulosis. In: I.A.Kassirskiy, ed. *Genetics in hematology*. Moscow: Medicina; 1967: 316–27. (in Russian)
4. Vorobiev A.I. Tumor progression and pathogenesis of leukemia a few questions. Dis. Moscow; 1968. (in Russian)
5. Vorobiev A.I. Tumor progression in the pathogenesis of leukemia. *Clinical Medicine. Russian journal (Klinicheskaya meditsina)*. 1970; 4: 62–9. (in Russian)
6. Vorobiev A.I., Brilliant M.D. Changing the nuclei pathological cell size. *Materials of scientific-practical works of the 6th Clinical Hospital of the Ministry of Health SSSR*. Moscow; 1968. (in Russian)
7. Vorobiev A.I., Brilliant M.D. Communication changes nuclei abnormal cells with some features of the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. In: *Modern problems of chronic lymphocytic leukemia: Proceedings of the: regional physicians and hematologists conference*. Sochi; 1972. (in Russian)
8. Kremkau F.W., Kaufmann J.S., Walker M.M., Burch P.G., Spurr C.L. Ultrasonic enhancement of nitrogen mustard cytotoxicity in mouse leukemia. *Cancer*. 1976; 37(4): 1643–7.
9. Rosenthal I., Sostaric J.Z., Riesz P. Sonodynamic therapy – a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound. *Ultrason Sonochem*. 2004; 11(6): 349–63.
10. Yang S., Wang P., Wang X., Zhang K., Zhang X., Liu Q. Efficacy of combined therapy with paclitaxel and low-level ultrasound in human chronic myelogenous leukemia cell line K562. *J. Drug. Target*. 2013; 21(9): 874–84. doi: 10.3109/1061186X.2013.830309.
11. He H., Yu T., Zhang Y. The interaction between a drug and ultrasound in sonochemotherapy against ovarian cancers. *Ultraschall Med*. 2012; 33(3): 275–82. doi: 10.1055/s-0029-1245876.
12. Espinosa S., Asproulis N., Drikakis D. Chemotherapy efficiency increase via shock wave interaction with biological membranes: a molecular dynamics study. *Microfluidics and nanofluidics*. 2014; 16(4): 613–22. ISSN 1613-4982
13. Khokhlova V.A., Fowlkes J.B., Roberts W.W., Schade G.R., Xu Z., Khokhlova T.D., et al. Histotripsy methods in mechanical disintegration of tissue: Towards clinical applications. *Int. J. Hyperthermia*. 2015; 31(2): 145–62. doi: 10.3109/02656736.2015.1007538.
14. Randazzo R.F., Chaussy C.G., Fuchs G.J., Bhuta S.M., Lovrekovich H., deKernion J.B. The in vitro and in vivo effects of extracorporeal shock waves on malignant cells. *Urol. Res*. 1988; 16(6): 419–26.
15. Delius M. Biological effect of shock waves—more than “just” lithotripsy? *Zentralbl Chir*. 1995; 120(4): 259–73.
16. Lukes P., Fernández F., Gutiérrez-Aceves J., Fernández E., Alvarez U.M., Sunka P., et al. Tandem shock waves in medicine and biology: a review of potential applications and successes. *Shock Waves*. 2015; 26(1): 1–23. doi: 10.1007/s00193-015-0577-0
17. Benes J., Pouckova P., Zeman J., Zadinova M., Sunka P., Lukes P., Kolarova H. Effects of tandem shock waves combined with photosan and cytostatics on the growth of tumours. *Folia Biol. (Praha)*. 2011; 57(6): 255–60.
18. Clayman R.V., Long S., Marcus M. High-energy shock waves: in vitro effects. *Am. J. Kidney Dis*. 1991; 17(4): 436–44.
19. Hoshi S., Orikasa S., Suzuki K., Saitoh T., Takahashi T., Yoshikawa K., et al. High-energy underwater shock wave treatment for internal iliac muscle metastasis of prostatic cancer: a first clinical trial. *Jpn. J. Cancer Res*. 1995; 86(5): 424–8.
20. Marano F., Argenziano M., Frairia R., Adamini A., Bosco O., Rinella L., et al. Doxorubicin-loaded nanobubbles combined with extracorporeal shock waves: basis for a new drug delivery tool in anaplastic thyroid cancer. *Thyroid*. 2016: http://www.amedeo.com/medicine/thy/thy2.htm
21. Stephenson T.J. Extracorporeal gall bladder lithotripsy – a review of tissue and cellular effects. *J. Pathol*. 1996; 179(1): 4–9.
22. Plaisier P.W., van der Hul R.L., Terpstra O.T., Bruining H.A. Current role of extracorporeal shockwave therapy in surgery. *Br. J. Surg*. 1994; 81(2): 174–81.
23. Mastikhin I.V., Nikolin V.P., Cheslenko V.S., Zelentsov E.L., Mayer V.A., Dikalov C.I. Increasing the sensitivity of tumor cells to cyclophosphamide in the results, those shock-wave action. *Reports of the Academy of Sciences. Russian journal (Doklady akademii nauk)*. 1995; 342(2): 262–4. (in Russian)
24. Teslenko V.S. The effect of the shock waves and cytostatic drugs on tumor cells. Proceedings of the 3rd CIS scientific seminar on the acoustics of inhomogeneous media, Institute of Hydrodynamics n.a. M.A. Lavrentieva of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. 1995; Issue 110: 170–6. (in Russian)

Поступила 30.01.16

Принята к печати 10.05.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.38:614.2

Парамонов И.В.^{1,2}, Попцов А.Л.², Рылов А.В.¹

ОПЫТ ВНЕДРЕНИЯ СИСТЕМЫ УТВЕРЖДЕНИЯ ДОНОРОВ ПЛАЗМЫ ДЛЯ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ

¹ФГБУН Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России, 610027, г. Киров, Россия; ²ФГБУ Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» ФМБА России, 610002, г. Киров, Россия

Оценивали частоту выявления маркеров вируса гепатита В (ВГВ), вируса гепатита С (ВГС) и вируса иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1/ВИЧ-2) среди доноров плазмы для фракционирования за период 2012–2013 гг. Частота встречаемости маркеров гемотрансмиссивных инфекций (ГТИ) среди доноров плазмы для фракционирования составила для ВИЧ-1/ВИЧ-2 0,03–0,07%, для ВГВ 0,15–0,21% и для ВГС 0,35–0,37%. Эти показатели в 1,5–2 раза ниже, чем общероссийские показатели, полученные по результатам деятельности службы крови в 2012 и 2013 гг. В группе «утвержденных» доноров маркеры ВИЧ-1/ВИЧ-2, ВГВ и ВГС выявлялись существенно реже (более чем в 10, 20 и 23 раза соответственно), чем среди потенциальных доноров плазмы. Проведена эпидемиологическая оценка популяции доноров плазмы для фракционирования в соответствии со стандартами Ассоциации по лечебным белкам плазмы (Plasma Protein Therapeutics Association – PPTA). Полученные данные свидетельствуют об эффективности внедренной системы допуска доноров к донорам плазмы для фракционирования. Внедренная система обеспечила уровень инфекционной безопасности заготавливаемой плазмы, соответствующий требованиям международных отраслевых стандартов качества PPTA.

К л ю ч е в ы е с л о в а: плазма для фракционирования; доноры.

Для цитирования: Парамонов И.В., Попцов А.Л., Рылов А.В. Опыт внедрения системы утверждения доноров плазмы для фракционирования. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(2): 87–91. DOI:10.18821/0234-5730-2016-61-2-87-91

Paramonov I.V.^{1,2}, Poptsov A.L.², Rylov A.V.¹

EXPERIENCE OF IMPLEMENTATION OF THE SYSTEM OF QUALIFICATION OF DONORS OF PLASMA FOR FRACTIONATION

¹Kirov Scientific-Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, 610027, Russian Federation; ²Russian Medical Research and Production Center "Rosplazma", Kirov, 610002, Russian Federation

The rate of the detection of the markers of the Hepatitis B virus (HBV), Hepatitis C virus (HCV) and Human Immunodeficiency Virus 1 and 2 types (HIV-1/HIV-2) among donors of plasma for fractionation over the period of 2012–2013 was evaluated. The incidence rate of markers of hemotransmissible infections (HTI) among donors of plasma for fractionation amounted for HIV-1/HIV-2: 0.03–0.07%, for HBV: 0.15–0.21% and for HCV: 0.35–0.37%. These indices are 1.5–2 times lower than the all-Russian indices, obtained from the results of activity of the blood service in 2012 and 2013. In the group of "approved donors" markers of HIV-1/HIV-2, HBV and HCV were detected significantly less often (more than 10, 20 and 23 times, respectively) than among potential plasma donors. There was performed an epidemiological evaluation of the population of donors of plasma for fractionation in conformity with the standards of Plasma Protein Therapeutics Association (PPTA). The data obtained testify to the efficiency of the introduced system of qualification of donors of plasma for fractionation. The introduced system provided a level of infectious safety of stored plasma complying with international industry standards of quality – PPTA.

Key words: plasma for fractionation; donors.

For citation: Paramonov I.V., Poptsov A.L., Rylov A.V. Experience of implementing a system of qualification plasma for fractionation donors. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiology)*. 2016; 61(2): 87-91. (in Russian). DOI:10.18821/0234-5730-2016-61-2-87-91

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

Funding. The study had no sponsorship.

Received 27 Nov 2015

Accepted 10 May 2016

Организация крупномасштабного производства препаратов крови из донорской плазмы методом фракционирования неразрывно связана с решением проблемы обеспечения предприятия качественным сырьем – плазмой для фракционирования. Важнейшим критерием качества плазмы для фракционирования является ее инфекционная безопасность. Международный опыт по обеспечению инфекционной безопасности плазмы для фракционирования обобщен в «Рекомендациях ВОЗ по производству, контролю плазмы и регулированию человеческой плазмы, предназначенной для фракционирования» [1]. Изложенная в указанных рекомендациях стратегия обеспечения качества направлена на то, чтобы максимально снизить вероятность попадания в производственный пул инфицированной плазмы, и включает следующие действия: отбор доноров, тестирование крови/плазмы доноров на наличие маркеров гемотрансмиссивных инфекций (ГТИ), эпидемиологическое наблюдение за популяцией доноров, соблюдение требований надлежащей практики производства (GMP). Правильный отбор доноров плазмы для фракционирования является одним из ключевых факторов, обеспечивающих безопасность продуктов фракционирования плазмы, и позволяет снизить остаточный риск для ВИЧ, гепатитов В и С более чем в 100 раз [1]. В Российской Федерации отбор доноров плазмы для фракционирования осуществляется в соответствии с национальными требованиями [2]. Эти требования в полной мере гармонизированы с указанными выше рекомендациями ВОЗ.

Анализ опыта зарубежных заготовителей плазмы свидетельствует о том, что кроме выполнения национальных требований к отбору доноров крови и ее компонентов, заготовители, осуществляющие массовую заготовку сырья для фракционирования, внедряют в своих пунктах заготовки так называемую систему «утверждения доноров» и осуществляют заготовку плазмы для фракционирования исключительно от «утвержденных» доноров (qualified donors) [3].

«Утвержденный» донор – тот, кто дважды успешно прошел медицинское обследование и тестирование на ГТИ. Минимальный

Для корреспонденции:

Попцов Александр Леонидович, заведующий лабораторией контроля качества ФГБУ Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» ФМБА России, 610002, г. Киров, Россия. E-mail: popcov@rosplasma.ru.

For correspondence:

Poptsov Aleksandr L., head of the laboratory quality control Russian medical research and production center "Rosplazma", 610002, Kirov, Russia. E-mail: popcov@rosplasma.ru.

Information about authors:

Paramonov I.V., <http://orcid.org/0000-0002-7205-912X>.

интервал между обследованиями должен быть равен или больше, чем минимально возможный промежуток времени между донорскими плазмами, установленный регулирующими органами, но не должен превышать 6 мес [3]. Доноры, не имеющие донаций на протяжении более чем 6 мес, теряют статус «утвержденных» и должны заново пройти процедуру утверждения по результатам двукратного обследования. Соответственно, заготовку плазмы для фракционирования нельзя проводить при первом обращении донора и в случае утраты им статуса «утвержденного донора». Систему заготовки от «утвержденных» доноров используют многие зарубежные заготовители плазмы, а для организаций, участвующих в международной программе по обеспечению качества плазмы (IQPP), реализуемой Ассоциацией по лечебным белкам плазмы (Plasma Protein Therapeutics Association – PPTA), внедрение указанной системы является обязательным.

В ФГБУ РМНПЦ Росплазма ФМБА России также разработан и внедрена собственная система «утверждения доноров» плазмы для фракционирования. Указанная система разработана на основе стандарта PPTA [3] и предусматривает допуск потенциального донора к донации плазмы для фракционирования только по результатам двух клинико-лабораторных обследований, включая выполнение исследований на маркеры ГТИ. Интервал между обследованиями должен быть не менее 2 нед, но не более 6 мес. Если интервал между донациями составляет более 6 мес, то донор теряет статус «утвержденного донора», рассматривается как впервые обратившийся и для допуска к донациям должен вновь пройти два клинико-лабораторных обследования. Внедрение системы «утверждения доноров» должно максимально повысить результативность решения двух взаимосвязанных задач: во-первых, обеспечить снижение риска инфицирования плазмы для фракционирования ГТИ, а во-вторых, должно позволить оперативно корректировать работу по рекрутированию здоровых доноров плазмы. Последняя из этих задач особенно существенна для ФГБУ РМНПЦ Росплазма ФМБА России, которое осуществляет заготовку плазмы на базе 14 филиалов в шести субъектах Российской Федерации.

Цель настоящего исследования состояла в изучении эффективности функционирования внедренной в учреждении системы «утверждения доноров» плазмы для фракционирования по результатам деятельности в 2012 и 2013 гг. и эпидемиологической оценке популяции «утвержденных» доноров в соответствии с критериями, изложенными в стандартах качества PPTA [3, 4].

Материал и методы

В исследование включены результаты лабораторного обследования доноров плазмы для фракционирования ФГБУ РМНПЦ Росплазма ФМБА России на маркеры вируса гепатита В (ВГВ),

Таблица 1

Результаты обследования потенциальных и «утвержденных» доноров плазмы для фракционирования на маркеры ГТИ							
Год	Число обследованных доноров, абс.	Выявлены маркеры					
		ВИЧ		ВГВ		ВГС	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Лица, пожелавшие стать донорами (впервые обратившиеся)</i>							
2012	4578	3	0,07	29	0,63	46	1,0
2013	5738	9	0,16	19	0,33	48	0,84
<i>Лица, прошедшие два клинико-лабораторных обследования</i>							
2012	3378	0	-	0	-	1	0,03
2013	4149	0	-	1	0,02	1	0,02
<i>«Утвержденные» доноры</i>							
2012	9348	1	0,01	0	-	4	0,04
2013	10 836	1	0,01	2	0,02	4	0,04

вируса гепатита С (ВГС) и вируса иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1/ВИЧ-2) в 2012 и 2013 гг. Частоту выявления маркеров определяли в двух группах доноров: «потенциальные доноры» и «утвержденные доноры». Первая группа была дополнительно разделена на две подгруппы. В 1-ю подгруппу были включены лица, впервые обратившиеся в пункты заготовки плазмы и пожелавшие стать донорами плазмы для фракционирования, к этой же группе были отнесены и доноры, потерявшие статус «утвержденных» из-за перерыва между донациями более 6 мес. Во 2-ю подгруппу были включены доноры, прошедшие два клинико-лабораторных обследования и осуществившие первую плазмадачу (так называемые «первичные доноры»). Вторая группа – «утвержденные доноры» – доноры, соответствующие критериям стандарта РРТА [2], т.е. выдержавшие два клинико-лабораторных обследования, и имеющие интервал между донациями не более 6 мес. Объем клинико-лабораторных исследований и критерии допуска к донорству плазмы определяли в соответствии с действующими российскими требованиями [2, 5].

Для выполнения лабораторных исследований на маркеры гемотрансмиссивных инфекций (ГТИ) использовали следующие диагностикумы: HBsAg Qualitative II Reagent, Anti-HCV Reagent, HIV Combo Reagent («Abbott Diagnostics», Германия). Для подтверждения наличия поверхностного антигена ВГВ (HBsAg) использовали тест-систему HBsAg Qualitative II Confirmatory Reagent («Abbott Diagnostics», Германия). Подтверждение полученных положительных результатов на маркеры ВИЧ-инфекции (антитела к ВИЧ-1/ВИЧ-2 + антиген к ВИЧ-1) и ВГС (антитела к ВГС) проводили в лаборатории Кировского областного СПИД-центра методом иммуноблоттинга. Образцы донорской плазмы, в которых не обнаружены серологические маркеры ГТИ, подвергали анализу на наличие вирусных нуклеиновых кислот с использованием тест-системы Cobas TaqScreen MPX Test v1.0 («Roche Diagnostics», Германия). Для подтверждения наличия в пробе нуклеиновых кислот ВГВ, ВГС и ВИЧ-1 применяли дискриминаторное исследование с использованием тест-системы Procleix Ultrio Assays («Novartis», Ирландия).

Для оценки эффективности внедренной системы «утверждения доноров» использовали критерии эпидемиологической оценки популяции «утвержденных» доноров, рекомендованные стандартом РРТА [4]. Указанный стандарт определяет предельно допустимую частоту встречаемости (тревожный уровень) подтвержденных случаев выявления маркеров ГТИ (суммарную и по каждому возбудителю отдельно) в популяции «утвержденных» доноров в зависимости от мощности учреждения, осуществляющего заготовку плазмы для фракционирования. Анализ следует проводить каждые 6 мес и с учетом только подтвержденных положительных результатов серологических и NAT-тестов. Допустимые уровни частоты выявления маркеров ГТИ в популяции «утвержденных» доноров плазмы устанавливаются экспертами РРТА, исходя из средних частот встречаемости маркеров в отрасли. По состоянию на 2013 г. для маркеров ВИЧ-1/ВИЧ-2 этот показатель составлял 1, для маркеров ВГВ – 3, маркеров ВГС – 4 на 100 000 донаций, заготовленных от «утвержденных доноров» в течение 6 мес. Суммарный показатель по выявлению маркеров ГТИ за 6 мес составлял 8 случаев выявления ГТИ на 100 000 донаций. Для оценки конкретного учреждения-заготовителя плазмы используют референсные значения, представленные в стандарте РРТА и рассчитанные с учетом вероятностного распределения Пуассона для различного количества донаций плазмы.

Таблица 2

Результаты обследования доноров плазмы для фракционирования ФГБУ РМНПЦ «Росплазма» ФМБА России на маркеры ГТИ в 2012–2013 гг.							
Год	Число доноров	Выявлены маркеры					
		ВИЧ		ВГВ		ВГС	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
2012	13 926	4	0,03	29	0,21	51	0,37
2013	14 985	10	0,07	22	0,15	53	0,35

Указанные референсные значения рассчитаны исходя из вероятности 0,01 для суммарного показателя и 0,005 для показателей по каждому возбудителю. Соответственно, если в учреждении количество подтвержденных случаев выявления маркеров ГТИ превысит эти значения, то оно с вероятностью 99% или 99,5% превысит приемлемые среднеотраслевые показатели [4].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel 2007.

Результаты

Результаты скрининга потенциальных и «утвержденных» доноров плазмы для фракционирования на маркеры ГТИ в 2012 и 2013 гг. представлены в табл. 1. Частота встречаемости маркеров ГТИ в подгруппе «впервые обратившихся» составила для ВИЧ 0,07–0,16%, для ВГВ 0,33–0,63% и для ВГС 0,84–1%. Суммарная встречаемость маркеров ГТИ в этой подгруппе составила 1,7% в 2012 г. и 1,33% в 2013 г. Соответственно, при заготовке плазмы в момент первого обращения донора в плазмотцентр без учета данных скрининговых тестов на ГТИ как минимум 1,33–1,7% доз плазмы будут забракованы из-за наличия в них маркеров ГТИ. При повторном обследовании через 2 нед лиц, выдержавших первое клинико-лабораторное обследование, суммарная выявляемость маркеров ГТИ составила 0,03–0,05%, что в 30–40 раз меньше, чем в группе впервые обратившихся доноров. Это свидетельствует о высокой эффективности двухэтапного отбора доноров. В группе «утвержденных» доноров маркеры ВИЧ, ВГВ и ВГС встречаются существенно реже (более чем в 10, 20 и 23 раза соответственно), чем среди «впервые обратившихся» доноров, и находятся практически на том же уровне, что и в подгруппе лиц, впервые допускаемых к донациям плазмы по результатам второго клинико-лабораторного обследования.

Данные частоты выявления маркеров ГТИ среди всех доноров учреждения (потенциальные + «утвержденные») представлены в табл. 2.

Частота встречаемости маркеров ГТИ среди доноров плазмы для фракционирования ФГБУ РМНПЦ Росплазма ФМБА России составила для ВИЧ 0,03–0,07%, для ВГВ – 0,15–0,21% и для ВГС 0,35–0,37%. Эти показатели в 1,5–2 раза ниже, чем общероссийские показатели, полученные по результатам деятельности службы крови в 2012 и 2013 гг. [6, 7].

Таблица 3

Частота выявления маркеров ГТИ среди «утвержденных» доноров плазмы для фракционирования

Период	Количество донаций	Количество случаев выявления маркеров				Предельно допустимые уровни выявления маркеров, установленные стандартом РРТА [4]*			
		ВИЧ	ВГВ	ВГС	всего	ВИЧ	ВГВ	ВГС	всего
январь–июнь 2012	36 040	0	0	2	2	3	5	5	7
июль–декабрь 2012	60 094	1	0	2	3	3	6	7	11
январь–июнь 2013	22 782	0	1	1	1	2	4	4	6
июль–декабрь 2013	72 616	1	1	3	5	4	7	8	12

Примечание. Здесь и в табл. 4–7: * – приведены показатели, установленные стандартом РРТА для соответствующих количеств донаций плазмы [4].

Таблица 4

Частота выявления маркеров ГТИ среди «утвержденных» доноров плазмы для фракционирования в плазмоцентрах в первом полугодии 2012 г.

Место расположения плазмоцентра	Количество донаций	Количество случаев выявления маркеров				Предельно допустимые уровни выявления маркеров, установленные стандартом РРТА [4]			
		ВИЧ	ВГВ	ВГС	ГТИ	ВИЧ	ВГВ	ВГС	ГТИ
Кирово-Чепецк	4104	0	0	0	0	1	2	2	2
Омутнинск	2107	0	0	0	0	1	1	1	2
Котельнич	2248	0	0	0	0	1	1	1	2
Советск	2212	0	0	0	0	1	1	1	2
Вятские Поляны	2887	0	0	0	0	1	1	2	2
Слободской	2171	0	0	0	0	1	1	1	2
Яранск	2248	0	0	1	1	1	1	1	2
Киров	2805	0	0	0	0	1	1	2	2
Волжск	2378	0	0	0	0	1	1	1	2
Казань	6485	0	0	1	1	1	2	2	3
Шемордан	1221	0	0	0	0	1	1	1	1
Кострома	1482	0	0	0	0	1	1	1	1
Чебоксары	1226	0	0	1	1	1	1	1	1
Н. Новгород	2466	0	0	0	0	1	1	1	2

Данные о количестве донаций плазмы, осуществленных в 2012 и 2013 гг. «утвержденными» донорами, и о количестве подтвержденных случаев выявления маркеров ГТИ представлены в табл. 3. Анализ данных свидетельствует, что в 2012 и 2013 гг. показатели выявления маркеров ГТИ среди «утвержденных» доноров учреждения были ниже предельно допустимых уровней безопасности, рекомендованных стандартом качества РРТА [4], в том числе и в разрезе отдельных филиалов учреждения (табл. 4–7). Данные свидетельствуют, что за весь период наблюдения ни в одном из плазмоцентров учреждения не зарегистрировано случаев превышения максимально допустимых уровней выявления маркеров ГТИ среди «утвержденных» доноров плазмы

Таблица 5

Частота выявления маркеров ГТИ среди «утвержденных» доноров плазмы для фракционирования в плазмоцентрах во втором полугодии 2012 г.

Место расположения плазмоцентра	Количество донаций	Количество положительных подтвержденных образцов, содержащих маркеры				Максимально допустимое число положительных подтвержденных случаев [4]*			
		ВИЧ	ВГВ	ВГС	ГТИ	ВИЧ	ВГВ	ВГС	ГТИ
Кирово-Чепецк	6912	0	0	0	0	1	2	2	3
Омутнинск	3791	0	0	0	0	1	2	2	2
Котельнич	3871	0	0	0	0	1	2	2	2
Советск	3400	0	0	0	0	1	1	2	2
Вятские Поляны	4945	0	0	0	0	1	2	2	2
Слободской	3514	0	0	1	1	1	2	2	2
Яранск	4070	0	0	0	0	1	2	2	2
Киров	4556	0	0	0	0	1	2	2	2
Волжск	3938	0	0	0	0	1	2	2	2
Казань	11 036	0	0	1	1	2	2	3	4
Шемордан	1838	0	0	0	0	1	1	1	1
Кострома	2028	1	0	0	1	1	1	1	2
Чебоксары	2184	0	0	0	0	1	1	1	2
Н. Новгород	4011	0	0	0	0	1	2	2	2

Таблица 6

Частота выявления маркеров ГТИ среди «утвержденных» доноров плазмы для фракционирования в плазмоцентрах в первом полугодии 2013 г.

Место расположения плазмоцентра	Количество донаций	Количество положительных подтвержденных образцов, содержащих маркеры				Максимально допустимое число положительных подтвержденных случаев [4]*			
		ВИЧ	ВГВ	ВГС	ГТИ	ВИЧ	ВГВ	ВГС	ГТИ
Кирово-Чепецк	2212	0	1	0	1	1	1	1	2
Омутнинск	1407	0	0	0	0	1	1	1	1
Котельнич	1635	0	0	0	0	1	1	1	1
Советск	1530	0	0	1	1	1	1	1	1
Вятские Поляны	1926	0	0	0	0	1	1	1	2
Слободской	1335	0	0	0	0	1	1	1	1
Яранск	1686	0	0	0	0	1	1	1	1
Киров	1437	0	0	0	0	1	1	1	1
Волжск	1423	0	0	0	0	1	1	1	1
Казань	3553	0	0	0	0	1	2	2	2
Шемордан	898	0	0	0	0	1	1	1	1
Кострома	1276	0	0	0	0	1	1	1	1
Чебоксары	874	0	0	0	0	1	1	1	1
Н. Новгород	1590	0	0	0	0	1	1	1	1

для фракционирования как по суммарному показателю, так и по каждой гемотрансмиссивной инфекции отдельно.

Обсуждение

Данные мониторинга уровня выявления маркеров ГТИ при донорстве плазмы для фракционирования согласно действующей нормативной документации стран Евросоюза [8] являются важной и обязательной составляющей досье на плазму для фракционирования («plasma master file»). Без их наличия учреждению-заготовителю невозможно получить разрешение на производство плазмы для фракционирования. С учетом недавно принятого решения [9] о гармонизации нормативных требований

Таблица 7

Частота выявления маркеров ГТИ среди «утвержденных» доноров плазмы для фракционирования в плазмоцентрах во втором полугодии 2013 г.

Место расположения плазмоцентра	Количество донаций	Количество положительных подтвержденных образцов, содержащих маркеры				Максимально допустимое число положительных подтвержденных случаев [4]*			
		ВИЧ	ВГВ	ВГС	ГТИ	ВИЧ	ВГВ	ВГС	ГТИ
Кирово-Чепецк	8298	0	0	0	0	1	2	2	3
Омутнинск	5010	0	0	0	0	1	2	2	2
Котельнич	4565	0	0	0	0	1	2	2	2
Советск	4755	0	0	1	1	1	1	2	2
Вятские Поляны	5544	1	0	0	1	1	2	2	3
Слободской	4822	0	0	0	0	1	2	2	2
Яранск	4710	0	0	0	0	1	1	2	2
Киров	5291	0	0	0	0	1	2	2	2
Волжск	3727	0	0	0	0	1	2	2	2
Казань	11 243	0	0	1	0	1	2	3	4
Шемордан	2721	0	0	0	0	1	1	2	2
Кострома	4375	0	0	1	0	1	2	2	2
Чебоксары	2252	0	0	0	0	1	1	1	2
Н. Новгород	5303	0	1	1	2	1	1	2	2

государств–участников Евразийского экономического союза в сфере регулирования производства лекарственных средств мониторинг данных показателей представляется актуальным.

Полученные данные свидетельствуют, что внедренная в учреждении система допуска (утверждения) доноров к донорам плазмы для фракционирования по результатам двух клинико-лабораторных исследований позволяет существенно снизить (в 10–20 раз) объем выбраковки донорской плазмы, заготавливаемой от первичных доноров, по показателю «наличие маркеров гемотрансмиссивных инфекций» и избежать связанных с этим материальных затрат, независимо от эпидемической обстановки по заболеваемости ГТИ в регионе заготовки. Как ранее было отмечено, учреждение осуществляет заготовку плазмы для фракционирования на базе плазмоцентров, операционные зоны которых (в данном случае – места проживания доноров) существенно отличаются по эпидемической обстановке, в том числе по показателям заболеваемости населения ГТИ. По данным Кировского областного центра СПИД и регионального центра Роспотребнадзора [10, 11] за 2012 и 2013 гг. в операционной зоне Кирово-Чепецкого и Котельничского филиалов учреждения наблюдался значительный рост заболеваемости ВИЧ-инфекцией (в 2013, по сравнению с 2012 г. темп прироста составил 2,9 и 3,1 раза соответственно), а заболеваемость ВИЧ-инфекцией в операционной зоне Вятскополянского, Кирово-Чепецкого, Котельничского и Яранского филиалов существенно (более чем в 2 раза) превышала среднеобластные (по Кировской области) показатели. В операционной зоне Омутнинского филиала показатели заболеваемости хроническими вирусными гепатитами в 2012 г. значительно (на 80%) превышали областные показатели. Внедренная система «утверждения доноров» позволяет избежать влияния данного фактора на обеспечение инфекционной безопасности плазмы для фракционирования. Кроме того, уровень выявления маркеров ГТИ среди доноров плазмы для фракционирования в 2012–2013 гг. в 1,5–2 раза ниже общероссийских показателей за аналогичный период [6, 7], что также свидетельствует об эффективности функционирования данной системы.

Таким образом, использование системы «утверждения доноров» в ФГБУ РМНПЦ Росплазма ФМБА России в условиях массовой заготовки плазмы для фракционирования позволило обеспечить уровень инфекционной безопасности готовой продукции, соответствующий требованиям, предъявляемым международными отраслевыми стандартами ПРТА как в учреждении в целом, так и в отдельных плазмоцентрах независимо от эпидемиологической ситуации, складывающейся в конкретной операционной зоне.

Полученные результаты позволяют рекомендовать распространение указанного опыта по использованию системы «утверждения доноров» для внедрения в других учреждениях, осуществляющих массовую заготовку плазмы для фракционирования.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов: приказ Минздрава России № 364 от 14.09.2001. Доступен на: <http://www.consultant.ru>
- Об утверждении правил и методов исследований и правил отбора донорской крови, необходимых для применения и исполнения технического регламента «О требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии»: постановление Правительства РФ №1230 от 31.12.10. Доступен на: <http://www.consultant.ru>
- Чечеткин А.В., Григорьян М.Ш., Макеев А.Б., Воробей Л.Г., Данильченко В.В. Служба крови Российской Федерации в 2012 году. *Трансфузиология*. 2013; 3: 4–14.

- Чечеткин А.В., Григорьян М.Ш., Макеев А.Б., Воробей Л.Г., Данильченко В.В. Деятельность учреждений службы крови Российской Федерации в 2013 году. *Трансфузиология*. 2014; 3: 4–13.
- Соглашение о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза: соглашение ЕАЭС от 23.12.14. Доступен на: <http://www.consultant.ru>
- Белюсова Е.А., ред. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия в Кировской области в 2012 г.: государственный доклад. 2013. Доступен на: <http://www.43.rospotrebnadzor.ru/documents/gosregdoklad/publications/svoddokl2012.pdf>
- О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия в Кировской области в 2013 г.: государственный доклад. 2014. Доступен на: <http://www.43.rospotrebnadzor.ru/documents/gosregdoklad/publications/svoddokl2013.pdf>

Остальные источники литературы см. в References

REFERENCES

- WHO. Recommendation for the production, control and regulation of human plasma for fractionation. 2005. Available at: <http://www.who.int/bloodproducts/05-2019%20Human%20plasma%20fraction.pdf>.
- On approval of the medical examination of the blood and its components donor: order Ministry of Health of Russia № 364 on 14.09.2001. (in Russian) Available at: <http://www.consultant.ru>
- PPTA. International Quality Program Plasma Qualified Donor Standard. v.4.0. 2014. Available at: <http://www.pptaglobal.org/images/IQPP/QualifiedDonorStdFinal1.pdf>.
- PPTA. International Quality Program Plasma Viral Marker Standard ver.4.1. 2009. Available at: http://www.pptaglobal.org/images/IQPP_ViralMarker_V4_1.pdf.
- On approval of rules and methods research and selection rules of donor blood required for the application and implementation of technical regulations on the requirements for the safety of blood and its products, blood-substituting solutions and equipment used in transfusion, infusion therapy: resolution of the Russian Government №1230 on 31.12.10. (in Russian). Available at: <http://www.consultant.ru>
- Chechetkin A.V., Grigoriyan M.Sh., Makeev A.B., Vorobey L.G., Danilchenko V.V. Blood Service of the Russian Federation in 2012. *Transfuziologiya. Russian journal (Transfuziologiya)*. 2013; 3: 4–14. (in Russian)
- Chechetkin A.V., Grigoriyan M.Sh., Makeev A.B., Vorobey L.G., Danilchenko V.V. Activities of institutions blood service of the Russian Federation in 2013. *Transfuziologiya. Russian journal (Transfuziologiya)*. 2014; 3: 4–13. (in Russian)
- EMA. Guideline on epidemiological data on blood transmissible infections. EMA/CHMP/BWP/548524/2008. 2010. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/10/WC500097728.pdf.
- Agreement on common principles and rules of circulation of drugs in the framework of the Eurasian Economic Union: the agreement EEU on 23.12.14. (in Russian). Available at: <http://www.consultant.ru>
- Belousova E.A., ed. On the state sanitary and epidemiological welfare in the Kirov region in 2012: state report. 2013. (in Russian). Available at: <http://www.43.rospotrebnadzor.ru/documents/gosregdoklad/publications/svoddokl2012.pdf>
- On the state sanitary and epidemiological welfare in the Kirov region in 2013: state report. 2014. (in Russian). Available at: <http://www.43.rospotrebnadzor.ru/documents/gosregdoklad/publications/svoddokl2013.pdf>

Поступила 27.11.15
Received 10.05.16

Самигулина Г.Р.¹, Спиридонова Е.А.^{2,3}, Ройтман Е.В.^{2,4}, Самсонова Н.Н.⁵, Климович Л.Г.⁵,
Варнавин О.А.¹, Пасько В.Г.^{6,7}, Макаров Р.В.^{6,7}

РАЗЛИЧИЯ В СОСТОЯНИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ВЫЖИВШИХ И УМЕРШИХ ОТ ОСТРОГО ДЕСТРУКТИВНОГО ПАНКРЕАТИТА НА РАННЕЙ СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

¹Городская клиническая больница им. Ф.И. Иноземцева Департамента здравоохранения города Москвы, 105318, г. Москва, Россия; ²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия; ³ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, 127473, г. Москва, Россия; ⁴ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия; ⁵ФГБУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева», 121552, г. Москва, Россия; ⁶ФГБУ «Учебно-научный медицинский центр» Управления делами Президента РФ, 103132, г. Москва, Россия; ⁷ФГБУ Клиническая больница №1 Управления делами Президента РФ, 121352, г. Москва, Россия

Цель исследования – анализ различий в функционировании механизмов гемостаза у больных острым деструктивным панкреатитом

Материал и методы. Обследованы 25 пациентов (средний возраст 46,2 ± 6,74 года). Оценивали активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновое время (результаты выражались как международное нормализованное отношение), тромбиновое время, концентрацию фибриногена, концентрацию D-димера, протеина С, протеина S, ингибитора плазмина, плазминогена и фактора Виллебранда, активность антитромбина III, концентрацию гемоглобина, величину гематокрита, количество эритроцитов, средний объем эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците, среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците, ширину распределения эритроцитов по объему, количество тромбоцитов, величину тромбокриты, средний объем тромбоцитов, ширину распределения тромбоцитов по объему. Статистическую обработку проводили с помощью точного одностороннего критерия Манна–Уитни, критерия знаков и критерия знаковых рангов Вилкоксона.

Результаты. Выявлены существенные изменения в тромбоцитарном, коагуляционном, фибринолитическом и антикоагулянтном механизмах у больных острым деструктивным панкреатитом. Установлено снижение активности антитромбина, плазминогена и протеина С в группе умерших больных.

Ключевые слова: острый деструктивный панкреатит; гемостаз; летальность при панкреатите; ранняя стадия деструктивного панкреатита; коагуляция; кровотечение; тромбоз.

Для цитирования: Самигулина Г.Р., Спиридонова Е.А., Ройтман Е.В., Самсонова Н.Н., Климович Л.Г., Варнавин О.А., Пасько В.Г., Макаров Р.В. Различия в состоянии системы гемостаза у выживших и умерших от острого деструктивного панкреатита на ранней стадии заболевания. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(2): 92-96. DOI:10.18821/0234-5730-2016-61-2-92-96

Samigulina G.R.¹, Spiridonova E.A.^{2,3}, Roitman E.V.^{2,4}, Samsonova N.N.⁵, Klimovich L.G.⁵,
Varnavin O.A.¹, Pasko V.G.^{6,7}, Makarov R.V.^{6,7}

DIFFERENCES IN THE HEMOSTASIS IN SURVIVED AND DIED PATIENTS WITH ACUTE NECROTIZING PANCREATITIS

¹Municipal Clinical Hospital n.a. F.I. Inozemtsev, Moscow, 105187, Russian Federation; ²Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology n.a. Dmitry Rogachev, Moscow, 117997, Russian Federation; ³Moscow State University of Medicine and Dentistry n.a. A.I. Evdokimov, Moscow, 127473, Russian Federation; ⁴N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation; ⁵A.N. Bakulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery, Moscow, 121552, Russian Federation; ⁶Educational-Scientific Medical Center of the Administration of the President of Russian Federation, Moscow, 103132, Russian Federation; ⁷Clinical Hospital No1 of the Administration of the President of Russian Federation, Moscow, 121352, Russian Federation

Objective. To analyze the differences in the hemostasis at patients with acute pancreatitis

Materials and methods. In 25 patients (mean age: 46,2 ± 6,74 years); partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (results expressed as INR), thrombin time, fibrinogen concentration, the concentration of D-dimer, protein C, protein S, plasmin inhibitor, plasminogen and von Willebrand factor (vWF), the activity of antithrombin III, hemoglobin concentration (Hb), hematocrit (Ht), number of erythrocytes (RBC), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin content (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), the width of the distribution by volume of erythrocytes (RDW), platelet count (PLT) value trombocrit (PCT), mean platelet volume (MPV), platelet distribution width by volume (PDW) were evaluated. Statistical processing. The data were treated with the use of the exact one-sided Mann–Whitney test, sign test and Wilcoxon rank sign test.

Results. In patients with acute pancreatitis there were identified significant changes in platelet, coagulation, fibrinolytic and anticoagulant mechanisms.

Conclusion. The reduction in the activity of antithrombin, protein C and plasminogen was noted in the group of died patients.

Key words: acute destructive pancreatitis; hemostasis; lethal cases with acute severe pancreatitis; early stage of acute severe pancreatitis; coagulation; hemorrhage; thrombosis.

For citation: Samigulina G.R., Spiridonova E.A., Roitman E.V., Samsonova N.N., Klimovich L.G., Varnavin O.A., Pasko V.G., Makarov R.V. Early stage hemostasis differences in survivor and lethal cases with acute necrotizing pancreatitis. *Hematology and Transfusiology, Russian journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2016; 61(2): 92-96. (in Russian). DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-92-96

Acknowledgments. The authors thanks M.B. Legating for his help with the statistical processing of data when writing the article and Municipal Clinical Hospital n.a. F.I. Inozemtsev for their assistance in data collection and processing for the article.

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

Funding. The study had no sponsorship.

Received 11 Dec 2015

Accepted 20 Jan 2016

Острый деструктивный панкреатит (ОДП) – полиэтиологическое заболевание, которое развивается в результате прогрессирования острого панкреатита (15–20% случаев) с последующим некрозом тканей поджелудочной железы. Апоптоз железистых клеток, высвобождение цитокинов, активация коагуляции, ишемия тканей и некроз железы – ключевые факторы, приводящие к развитию системных осложнений и летальному исходу [1–3].

По данным литературы [1, 4, 5], показатели летальности при ОДП составляют от 25 до 80%; при этом 50% смертей происходит на ранней стадии заболевания (первые 7 дней).

Доказано, что гемостазиологические нарушения являются одними из главных патофизиологических звеньев при некротических процессах [6–8]. Тромбоэмболические осложнения встречаются часто, причем риск развития тромбозов зависит от степени выраженности патологического процесса. По некоторым данным, тромбозы спланхических вен встречались примерно у 18,9% больных ОДП [9]. По данным Н.А. Кузнецова [10], около 10% больных имели признаки стойкой гиперкоагуляции и тромбоцитоза, приводящие к развитию летальных осложнений (тромбоэмболия легочной артерии – ТЭЛА, тромбоз селезеночной или мезентериальных вен) [10, 11]. Своевременная диагностика указанных осложнений в ургентной клинической практике имеет определенные ограничения [12–15].

Тромбогеморрагические осложнения у умерших от ОДП больных встречаются достаточно часто (до 30%), в то время как при благоприятном исходе эти виды осложнений практически не наблюдаются; у 25% больных ОДП уже на этапе госпитализации отмечается гипокоагуляция и тромбоцитопения, что, безусловно, можно трактовать как развернутую фазу синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома) [10].

Анализ данных литературы показал, что факторы риска развития геморрагических осложнений выявлены у 80% больных с летальным исходом ОДП, гипокоагуляция – у 50%, тромбоцитопения – у 72% больных. У умерших от деструктивного панкреатита геморрагические осложнения отмечены в виде профузных кровотечений из острых язв пищеварительного тракта или артериальных сосудов брюшинного пространства. Отсроченная диагностика коагулопатий при ОДП способствует развитию внепанкреатических осложнений: острого респираторного дистресс-синдрома, почечной и печеночной недостаточности [16–18].

Исследований, посвященных анализу особенностей нарушений свертывающей и противосвертывающей систем у выживших и умерших вследствие ОДП, недостаточно. В то же время широко применяемые в ургентной клинической практике лабораторные методы (общий анализ крови, исследование коагулограммы с определением активированного частичного тромбопластинного времени (АЧТВ), нормализованного международного отношения (МНО) и концентрации фибриногена) не способны выявить повреждения основных звеньев механизма гемостаза.

Цель исследования – изучение и выявление различий в функционировании прокоагулянтного, антикоагулянтного и фибринолитического механизмов гемостаза у выживших и умерших от ОДП на ранней стадии заболевания.

Материал и методы

Гемостазиологическое обследование выполнено у 25 больных (16 мужчин и 9 женщин), средний возраст $46,2 \pm 6,74$ года, из отделения анестезиологии и реанимации хирургического профиля

Для корреспонденции:

Самигулина Гульнара Ринадовна, врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации для больных с острым нарушением мозгового кровообращения Городской клинической больницы им. Ф.И. Иноземцева Департамента здравоохранения города Москвы, 105318, г. Москва, Россия. E-mail: samigulinagulya@mail.ru.

For correspondence:

Samigulina Gulnara S., MD, anesthesiologist-reanimatologist of Department of Anaesthesiology and Reanimatology for patients with acute cerebrovascular accident, Municipal Clinical Hospital n.a. F.I. Inozemtsev, Moscow, 105318, Russian Federation. E-mail: samigulinagulya@mail.ru.

Information about authors:

Samigulina G.R., <http://orcid.org/0000-0002-1202-0899>;
Spiridoniova E.A., <http://orcid.org/0000-0002-5230-5725>.

городской клинической больницы им. Ф.И. Иноземцева (Москва). Были сформированы две подгруппы: реконвалесценты – 17 больных (средний возраст $43,12 \pm 3,87$ года) и умершие – 8 больных (средний возраст $52,25 \pm 16,9$ года) [19]. Диагноз ОДП был установлен согласно классификации, принятой на IX Всероссийском съезде хирургов в 2000 г. [20]. Все больные получали консервативное лечение, которое включало: назначение ингибиторов секреции поджелудочной железы, обезболивание (в том числе методами продленной перидуральной анестезии и нейровегетативной блокады), коррекцию нарушений водно-электролитного, кислотно-основного и осмотического баланса, дезинтоксикационную терапию, в том числе экстракорпоральную, методом низкотоочной вено-венозной гемофильтрации или гемодиализации на аппарате «Призма», антибактериальную терапию, кардиотропную и респираторную поддержку, профилактику стрессовых язв, кандидоза, нутритивную поддержку. Гепарин в лечебных дозах применяли при выявлении тромботических осложнений. С целью профилактики тромбозов гепарин использовали только при наличии показаний [21]. При развитии кровотечений выполняли трансфузии компонентов крови (свежезамороженной плазмы, эритроцитарной массы, отмытых эритроцитов, тромбоцитной массы).

Исследование показателей системы свертывания крови проводили в течение первых 7 суток пребывания больного в отделении реанимации дважды: на 1–3-е и на 4–7-е сутки от начала заболевания. Материалом исследования служила цельная венозная кровь, полученная из кубитальной вены и стабилизированная раствором цитрата натрия 3,2% в соотношении 9:1. Обедненную тромбоцитами плазму получали методом центрифугирования (4000 об/мин, 15 мин). Клоттинговые, хромогенные и иммунологические исследования выполнены на автоматических коагулометрах ACL-7000 и ACL-9000 (“Instrumentation Laboratory”, США) с использованием оригинальных тест-наборов того же производителя. В каждом исследовании оценивали следующие показатели: АЧТВ, протромбиновое время (результаты выражались как МНО), тромбиновое время, концентрацию фибриногена, концентрацию D-димера, протеина С, протеина S, ингибитора плазмина, плазминогена и фактора Виллебранда (vWF), активность антитромбина III (АТIII).

Одновременно исследовали концентрации гемоглобина (Hb), гематокрита (Ht), эритроцитов (RBC), средний объем эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците (MCHC), ширину распределения эритроцитов по объему (RDW), количество тромбоцитов (PLT), величину тромбокрита (PCT), средний объем тромбоцитов (MPV), ширину распределения тромбоцитов по объему (PDW).

Статистическую обработку полученных результатов представляли в виде средних значений параметров и значений стандартной ошибки, вычисленные параметрическим и непараметрическим методами. Сравнительные данные статистически обработаны при помощи точного одностороннего критерия Манна–Уитни, критерия знаков и критерия знаковых рангов Вилкоксона. Выявленные закономерности изучаемых параметров между группами считали значимыми при вероятности безошибочного прогноза $p = 95\%$ и более ($p < 0,05$).

Результаты

При поступлении в реанимацию у реконвалесцентов выявлено: увеличение МСН (табл. 1); концентрации D-димера, активности протеина S и VWF; у умерших обнаружено увеличение концентрации фибриногена, D-димера и активности vWF. В обеих подгруппах наблюдалось снижение активности плазминогена, протеина С, АТIII. Остальные параметры оставались в пределах референсных значений (табл. 2).

Несмотря на существенные изменения показателей крови, статистически значимых различий между подгруппами умерших и выживших больных на этом этапе не выявлено. При этом показатели МНО и АЧТВ у всех больных находились в референсном интервале, однако АЧТВ и МНО у умерших оказались статистически выше.

После проведенной интенсивной терапии ОДП у реконвалесцентов выявлено статистически значимое снижение в динамике уровня Hb, RBC, Ht и увеличение активности ингибитора плазмина (см. табл. 1, 2), в то время как у умерших обнаружено статистически значимое снижение PLT и PCT (см. табл. 1). Остальные показатели значимых изменений в динамике не продемонстрировали.

Однако при сравнительном анализе полученных результатов в летальной подгруппе зафиксированы статистически более низкая концентрация Hb, RBC, PLT, PCT, активность АТIII, плазминогена и протеина С, а также удлинение АЧТВ и увеличение МНО на фоне проводимой интенсивной терапии (см. табл. 1, 2).

Таблица 1

Различия в состоянии эритроцитарного и тромбоцитарного звена у выживших и умерших от острого деструктивного панкреатита больных

Исследуемый параметр	Норма	При поступлении		После интенсивной терапии	
		реконвалесценты	умершие	реконвалесценты	умершие
Количество эритроцитов (RBC), $\times 10^{12}/л$	4,3–5,7	4,88 \pm 0,20	4,24 \pm 0,39	3,97 \pm 0,26**	3,43 \pm 0,3
Гемоглобин (Hb), г/л*	120–160	149 \pm 4,1	134 \pm 11	123 \pm 4,82**	102 \pm 8
Гематокрит (Ht), %	35–54	43,9 \pm 1,33	39, \pm 3,2	35,0 \pm 1,579**	30 \pm 2,6
Количество тромбоцитов (PLT), $\times 10^9/л$ *	180–360	235,6 \pm 18,0	234 \pm 37,4**	236,3 \pm 26,499	141,3 \pm 24,2**
Тромбокрит (PCT), %*	0,108–0,282	0,19 \pm 0,016	0,18 \pm 0,03***	0,19 \pm 0,023	0,12 \pm 0,02***
Средний объем эритроцитов (MCV), фл	76–96	91 \pm 2,561	89,86 \pm 2,663	90,68 \pm 3,599	87,74 \pm 1,715
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг	27–33	46,43 \pm 15,32	30,87 \pm 0,804	31,87 \pm 1,257	31,24 \pm 0,573
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	32–36	34,1 \pm 0,41	34,08 \pm 0,49	35,1 \pm 0,57	35,598 \pm 0,53
Ширина распределения эритроцитов по объему (RBW), %	12–15	15,34 \pm 0,478	15,94 \pm 0,91	15,18 \pm 0,383	15,47 \pm 0,64
Средний объем тромбоцитов (MPV), фл	7–10	8,088 \pm 0,175	7,912 \pm 0,193	8,052 \pm 0,185	8,953 \pm 0,357
Ширина распределения тромбоцитов по объемам (PCW), %	10–20	14 \pm 0,57	13,18 \pm 0,889	14,07 \pm 0,585	13,65 \pm 0,504

Примечание. При поступлении статистически значимые различия: * – между выжившими и умершими больными по точному одностороннему критерию Манна–Уитни после терапии; ** – в динамике у умерших больных между 1–3-ми и 4–7-ми сутками по критерию знаков и критерию Вилкоксона; *** – в динамике у умерших больных между 1–3-ми и 4–7-ми сутками только по критерию Вилкоксона; ** – у выживших больных между 1–3-ми и 4–7-ми сутками по критерию знаков и критерию Вилкоксона.

Обсуждение

Развитие нарушений гемостаза при ОДП основано на определенных патофизиологических факторах. Нужно отметить тесную связь между воспалительной реакцией и гемостазом, так как медиаторы воспаления (цитокины, фактор некроза опухоли, фактор активации тромбоцитов, интерлейкины и др.) служат катализаторами гиперкоагуляции [2, 22, 23]. С учетом существования тонкого баланса в регуляции системы гемостаза нетрудно понять, что в ответ на запущенный коагуляционный каскад

начинается активация антикоагулянтного и фибринолитического механизмов крови. У здорового человека таким образом поддерживается нормальная вязкость и текучесть крови в сосудистом русле, причем антикоагулянтные факторы несколько преобладают [24, 25]. При развитии тяжелого воспаления, к которому относится деструктивный панкреатит, баланс в системе гемостаза нарушается.

Выявленные в нашей работе повышение активности vWF (проагреганта и провоспалительного белка) и концентрации фибриногена (являющегося субстратом для образования фибрина и формирования тромба и поддерживающего воспалительный процесс в организме) у больных, как выживших, так и умерших вследствие ОДП, свидетельствуют о превалировании процессов гиперкоагуляции в ранней фазе заболевания. Возникающая при этом компенсаторная активация антикоагулянтной и фибринолитической систем лабораторно проявляется коагулопатией потребления (снижение активности протеина С, плазминогена, АТIII) и увеличением содержания D-димера. D-димер отражает гиперактивность системы коагуляционного гемостаза, а повышение его плазменной концентрации выше определенного уровня – показатель тромботического состояния [26].

В то же время отсутствие статистически значимых различий между реконвалесцентами и умершими больными для большинства показателей гемостаза (фибриногена, vWF, D-димера, протеина С, плазминогена и АТIII, Hb, Ht, RBC, PLT, PCT) на этапе госпитализации указывают на наличие в обеих подгруппах больных одинакового типа нарушений гемостаза: гиперкоагуляции. Однако статистически значимое более удлиненное АЧТВ и повышенное МНО у умерших может служить триггером усиленного напряжения антикоагулянтного звена в этой подгруппе.

В дальнейшем на фоне интенсивной терапии, выявленные более низкие значения Hb, PLT и PCT у умерших, чем у реконвалесцентов, а также

Таблица 2

Различия в состоянии системы свертывания крови у выживших и умерших от острого деструктивного панкреатита больных

Исследуемый параметр	Норма	При поступлении		После интенсивной терапии	
		реконвалесценты	умершие	реконвалесценты	умершие
АЧТВ, с***	24–35	27,92 \pm 0,99	37,49 \pm 6,47	30,5 \pm 0,9	42 \pm 6,54
МНО***	1–1,4	1,0 \pm 0,018	1,174 \pm 0,066	1,119 \pm 0,037	1,526 \pm 0,314
Фибриноген, г/л	1,8–3,5	4,43 \pm 0,41	4,31 \pm 0,69	6,11 \pm 0,40***	5,24 \pm 0,53
Тромбиновое время, с	12–16	14,9 \pm 0,83	13,8 \pm 1,40	15 \pm 0,8	13,4 \pm 0,35
Антитромбин III, %**	80–120	58,9 \pm 4,89	49,3 \pm 5,94	68,5 \pm 4,85	50,2 \pm 6,07
D-димер, нг/мл	250–500	1084,7 \pm 126,2	1004,1 \pm 140,2	1079,4 \pm 98	1115,2 \pm 190,3
Ингибитор плазмينا, %	80–120	95,3 \pm 5,62	86,2 \pm 12,23	108,2 \pm 5,99***	109,3 \pm 9,02
Плазминоген, %**	80–120	82,6 \pm 5,33	68,8 \pm 13,88	90,9 \pm 6,3	51,5 \pm 6,7
Протеин S, %	60–140	133,3 \pm 20,43	116,5 \pm 20,87	124,9 \pm 19,4	160,5 \pm 25,9
Протеин C, %**	70–130	71,6 \pm 6,52	61,4 \pm 14,79	64,9 \pm 7,24	26,8 \pm 4,67
Фактор Виллебранда, %	65–166	148,9 \pm 4,95	135,4 \pm 6,65	150,3 \pm 4,9	149,9 \pm 5,6

Примечание. Статистически значимые различия: * – между выжившими и умершими больными по точному одностороннему критерию Манна–Уитни при поступлении; ** – между выжившими и умершими больными по точному одностороннему критерию Манна–Уитни после проведения терапии; *** – у выживших больных между 1–3-ми и 4–7-ми сутками по критерию Вилкоксона. Референсные данные приведены по [28].

значимое снижение PLT и PCT у них в динамике, обусловлены наличием скрытых и активных кровотечений на фоне тромбоцитопении потребления и ДВС-синдрома вследствие декомпенсации антикоагулянтной и фибринолитической систем.

Соответственно отсутствие статистически значимого снижения PLT и PCT у реконвалесцентов в динамике свидетельствует об эффективной компенсации или коррекции тромбоцитопении потребления в этой подгруппе в процессе лечения. Значимое уменьшение RBC, Hb, Ht у выживших, вероятно всего, вызвано агрессивной гемодилуцией, которая является одним из методов стандартного лечения больных ОДП.

Эритроцитарные индексы не продемонстрировали изменений ни на одном из этапов исследования в обеих подгруппах, что можно объяснить повышенной стойкостью эритроцитов к изменениям в системе гемостаза.

Течение деструктивного панкреатита на фоне проводимой интенсивной терапии характеризовалось увеличе-

нием концентрации фибриногена и vWF. Однако статистически значимых различий между умершими и реконвалесцентами не выявлено, поскольку фибриноген и vWF являются медиаторами воспаления и указывают на продолжающийся воспалительный процесс в поджелудочной железе (см. табл. 2).

Удлинение АЧТВ и повышение МНО после интенсивной терапии ОДП в подгруппе с летальным исходом параллельно с крайне низкой активностью антикоагулянтных факторов (особенно в сочетании с клинической картиной кровотечений) может свидетельствовать о прогрессировании ДВС-синдрома.

Отсутствие статистически значимых различий в динамике по МНО и АЧТВ в отдельно взятой подгруппе делает невозможным использование этих показателей в качестве критериев оценки тяжести течения и прогноза заболевания.

Максимальная нагрузка антикоагулянтных и фибринолитических механизмов подтверждается статистически более низкими показателями активности АПШ, плазминогена и протеина С в летальной подгруппе. Полученные результаты могут также свидетельствовать о декомпенсации работы системы гемостаза уже на самой ранней стадии ОДП.

Исходная декомпенсация гемостаза также объясняет отсутствие статистически значимых различий антикоагулянтных и фибринолитических факторов в летальной подгруппе в процессе динамического наблюдения.

Хотя мы не выявили значимых изменений ингибитора плазмина у больных ОДП, но в динамике обнаружили статистически значимое увеличение активности ингибитора плазмина у реконвалесцентов, что свидетельствует о положительном сдвиге в системе гемостаза в процессе лечения, поскольку ингибитор плазмина – один из основных факторов, который принимает активное участие в координации фибринолиза. Он блокирует плазмин тремя путями: образуя комплексы с плазмином, подавляя адсорбцию плазминогена фибрином, повышая резистентность фибрина к плазмину путем связывания с фактором XIIIa [27].

Таким образом, ингибитор плазмина может предотвращать образование плазмина из плазминогена, блокировать сам плазмин и увеличивать стойкость фибрина к фибринолизу. Стабильно высокое содержание D-димера подтверждает персистирование фибринолиза на фоне проведения интенсивной терапии. Несмотря на исследования, которые указывают на связь уровня D-димера с тяжестью острого панкреатита [23], отсутствие статистически значимых различий между выжившими и умершими нивелирует возможность использования этого параметра для точной оценки тяжести патологического процесса и прогнозирования вариантов течения ОДП.

Выводы

- У больных, умерших от ОДП, начальная фаза гиперкоагуляции кратковременна и сопровождается стремительной декомпенсацией антикоагулянтных и фибринолитических механизмов гемостаза на ранней стадии заболевания.

- Изменения активности АПШ, плазминогена и протеина С можно применять в оценке степени тяжести деструктивного панкреатита.

- Концентрация D-димера у больных деструктивным панкреатитом оставалась высокой как на этапе поступления, так и в течение последующих 7 суток терапии независимо от исхода заболевания и статистически не различалась.

Благодарности. Авторы благодарят Михаила Борисовича Лагутина, ассистента кафедры математической статистики и случайных процессов Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова и коллектив Государственной клинической больницы им. Ф.И. Иноземцева за оказанное содействие в сборе и обработке данных для статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Власов А.П., Кормишкин А.Е., Рубцов О.Ю., Полозова Э.И., Болотских В.А., Муратова Т.А. Состояние гуморального компонента системы гемостаза на начальных этапах острого панкреатита. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 5: 51. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21651>
2. Ковалева О. В., Шитова М. С., Зборовская И. Б. Аутофагия: клеточная гибель или способ выживания? *Клиническая онкогематология*. 2014; 7(2): 103–13.
3. Пельц В.А. Современное состояние диагностики и хирургического лечения острого панкреатита. *Сибирский медицинский журнал (Томск)*. 2010; 25(4-1): 27–32.
4. Кузник Б.И., Левин Ю.М. Свертываемость и фибринолитическая активность лимфы. *Гематология и трансфузиология*. 2012; 57(5): 42–7.
5. Пантелеев М.А., Свешникова А.Н. Тромбоциты и гемостаз. *Онкогематология*. 2014; 9(2): 65–73. doi:10.17650/1818-8346-2014-9-2-65-73
6. Мануйлов А.М., Синькова О.А. Характер нарушений гемостаза при различных формах острого панкреатита. *Вестник интенсивной терапии*. 2007; 5: 167–8.
7. Кузнецов Н.А., Родоман Г.В., Шалаева Т.И., Наливайский А.А. Пути улучшения результатов лечения больных панкреонекрозом. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2008; 5: 40–45.
8. Бокерия Л.А., Климович Л.Г., Потехина А.В., Путятю Н.А., Самсонова Н.Н. Механизмы вовлечения ингибиторов свертывания в развитие воспалительной реакции и перспективные направления антикоагулянтной терапии. *Клиническая физиология кровообращения*. 2004; 1: 46–55.
9. Ермолаев А.А., Плавун Н.Ф., Спиридонова Е.А., Стажадзе Л.Л., Бараташвили В.Л. Острейший период тромбоэмболии легочной артерии: проблемы диагностики на госпитальном этапе. *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. 2012; 1: 13–9.
10. Ройтман Е.В., Андрианова М.Ю., Колесникова И.М., Спиридонова Е.А., Румянцев С.А. Фармакопрофилактика венозного тромбоза сегодня: нужен ли лабораторный контроль? *Клиническая патофизиология*. 2013; 4: 28–33.
11. Багненко С.Ф., Гольцов В.Р., Андреев М.И., Лапшин В.Н., Афончиков В., Палей Д.А., Реутская И.А. Полиорганный недостаток при остром деструктивном панкреатите (патогенез, клиника, диагностика, профилактика и лечение). *Пособие для врачей*. СПб.: НИИ СП им. И.И.Джанелидзе; 2010.
12. Савельев В.С., Филимонов М.И., Гельфанд Б.Р., Бурневич С.З. Деструктивный панкреатит. Стандарты диагностики и лечения. *Анналы хирургической гепатологии*. 2001; 6(2): 115–22.
13. Мелкумян А. Л., Берковский А. Л., Кишицев Р. С., Козлов А. А. Мониторинг эффективности применения прямых антикоагулянтов. *Гематология и трансфузиология*. 2013; 58(1): 32–38.
14. Васильев С.А., Виноградов В.Л., Берковский А.Л., Маркова М.Л. D-димер – диагностический и прогностический маркер тромботических заболеваний. *Геморрагические диатезы, тромбозы, тромбофилии*. 2014; 1: 15–27.
15. Кишкун А.А. *Руководство по лабораторным методам диагностики*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007.

Остальные источники литературы см. в References

REFERENCES

1. Vlasov A.P., Kormishkin A.E., Rubtsov O.Yu., Polozova E.I., Bolotskikh V.A., Muratova T.A. The state of the humoral component of the hemostatic system in the initial stages of acute pancreatitis. *Modern problems of science and education. Russian scientific journal (Sovremeniye problemy nauki i obrazovaniya)*. 2015; 5: 51. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21651/> (Accessed 15 September 2015). (in Russian)
2. Pandol S.J., Saluja A.K., Imrie C.W., Banks P.A. Acute pancreatitis: bench to the bedside. *Gastroenterology*. 2007; 132(3): 1127–51. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2007.01.055>
3. Kovaleva O.V., Shitova M.S., Zborovskaya I.B. Autophagy: cell death or a way to survive? *Clinical oncohematology (Klinicheskaya onkogematologiya)*. 2014; 7(2): 103–13. (in Russian)
4. Peltz V.A. Modern condition of diagnostics and surgical treatment of acute pancreatitis. *Siberian Medical Journal (Tomsk). Russian journal (Sibirskiy meditsinskiy zhurnal)*. 2010; 25(4-1): 27–32. (in Russian)
5. Andersson E. *Crosstalk between inflammation and coagulation in acute pancreatitis*. Dis. Lund. Dis. Bulletin No.138. Sweden: Lund University; 2010: 79. Available at: <https://lup.lub.lu.se/search/publication/1645799>
6. Kuznik B.I. Levin Yu.M. Coagulation and fibrinolytic activity of lymph. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2012; 57(5): 42–7. (in Russian)
7. Panteleev M.A., Sveshnikova A.N. Platelets and hemostasis. *Oncohematology. Russian journal (Onkogematologiya)*. 2014; 9(2): 65–73. doi:10.17650/1818-8346-2014-9-2-65-73. (in Russian)
8. Manuylov A.M., Sinkova O.A. Nature of hemostasis disorders in various forms of acute pancreatitis. *Journal of Intensive Care. Russian journal (Vestnik intensivnoy terapii)*. 2007; 5: 167–8. (in Russian)
9. Gonzalez H.J., Sahay S.J., Samadi B., Davidson B.R., Rahman S.H. Splanchnic vein thrombosis in severe acute pancreatitis: a 2-year, single-institution experience. *HPB(Oxford)*. 2011; 13(12): 860–4. doi:10.1111/j.1477-2574.2011.00392.x.
10. Kuznetsov N.A., Rodoman G.V., Shalaeva T.I., Nalivayskiy A.A. Ways to improve the results of treatment of patients with pancreatic necrosis. *Surgery. Journal named after N.I. Pirogov. Russian journal (Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova)*. 2008; 5: 40–5. (in Russian)
11. Bokeriya L.A., Klimovich L.G., Potekhina A.V., Putyato N.A., Samsonova N.N. Mechanisms of involving coagulation inhibitors in the development of inflammatory reactions and perspective directions of anticoagulant therapy. *Clinical Physiology of Circulation. Russian journal (Klinicheskaya fiziologiya krovoobrashcheniya)*. 2004; 1: 46–55. (in Russian)

12. Ermolaev A.A., Plavunov N.F., Spiridonova E.A., Stazhadze L.L., Baratashvili V.L. Acute pulmonary embolism: problems of diagnosis in prehospital setting. *Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care. Russian journal (Zhurnal im. N.V. Sklifosovskogo. Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch)*. 2012; 1: 13–9. (in Russian)
13. Roytman E.V., Andrianova M.Yu., Kolesnikova I.M., Spiridonova E.A., Rumyantsev S.A. Pharmacoprophylaxis VTE today: do laboratory testing? *Clinical pathophysiology. Russian journal (Klinicheskaya patofiziologiya)*. 2013; 4: 28–33. (in Russian)
14. Besselink M.G. Splanchnic vein thrombosis complicating severe acute pancreatitis. *HPB(Oxford)*. 2011; 13(12): 831–2. doi:10.1111/j.1477-2574.2011.00411.x.
15. Zhang Q., Zhang Q.X., Tan X.P., Wang W.Z., He C.H., Xu L., Huang X.X. Pulmonary embolism with acute pancreatitis: A case report and literature review. *World J. Gastroenterol.* 2012; 18(6): 583–6. doi: 10.3748/wjg.v18.i6.583.
16. Bagnenko S.F., Goltsov V.R., Andreev M.I., Lapshin V.N., Afonchikov V., Paley D.A., Reutskaya I.A. *Multiorgan failure in acute destructive pancreatitis: pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, prevention and treatment.* Manual for physicians. St.Peterburg: St. Petersburg Research Institute of Emergency Care prof. I. Dzhanelidze; 2010. (in Russian)
17. Zhou M.T., Chen C.S., Chen B.C., Zhang Q.Y., Andersson R. Acute lung injury and ARDS in acute pancreatitis: Mechanisms and potential intervention. *World J. Gastroenterol.* 2010; 16(17): 2094–9. doi:10.3748/wjg.v16.i17.2094.
18. Pezzilli R., Bellacosa L., Felicani C. Lung injury in acute pancreatitis. *J. Pancreas.* 2009; 10(5): 481–4.
19. Zagaria M.E. Acute pancreatitis: risks, causes, and mortality in older adults. *U.S. Pharmacist.* 2011; 36(1): 20–4.
20. Saveliev V.S., Filimonov M.I., Gelfand B.R., Burnevich S.Z. The destructive pancreatitis. Standards for the diagnosis and treatment. *Annals of Surgical Hepatology. Russian journal (Annaly hirurgicheskoy gepatologii)*. 2001; 6(2): 115–22. (in Russian)
21. Melkumyan A.L., Berkovsky A.L., Kishinets R.S., Kozlov A.A. Monitoring of the efficiency of direct anticoagulants. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2013; 58(1): 32–8. (in Russian)
22. Kylänpää M.L., Repo H., Puolakkainen P.A. Inflammation and immunosuppression in severe acute pancreatitis. *World J. Gastroenterol.* 2010; 16(23): 2867–72. doi: 10.3748/wjg.v16.i23.2867.
23. Shankar-Hari M., Wyncoll D. Activated protein C in severe acute pancreatitis without sepsis? Not just yet... *Crit. Care.* 2010; 14(4): 188. doi:10.1186/cc9190.
24. Chapin J.C., Hajjar K.A. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev.* 2015; 29(1): 17–24. doi:10.1016/j.blre.2014.09.003.
25. Vasiliev S.A., Vinogradov V.L., Berkovsky A.L., Markova M.L. D-dimer – a diagnostic and prognostic marker of the thrombotic disorders. *Hemorrhagic diathesis, thrombosis, thrombophilia. Russian journal (Gemorragicheskie diatezy, trombozy, trombofilii)*. 2014; 1: 15–27. (in Russian)
26. Carpenter S.L., Mathew P. Alpha2-antiplasmin and its deficiency: fibrinolysis out of balance. *Haemophilia.* 2008; 14(6): 1250–4. doi: 10.1111/j.1365-2516.2008.01766.x.
27. Badhal S.S., Sharma S., Saraya A., Mukhopadhyay A.K. Prognostic significance of D-dimer, natural anticoagulants and routine coagulation parameters in acute pancreatitis. *Trop. Gastroenterol.* 2012; 33(3): 193–9. <http://dx.doi.org/10.7869/tg.2012.48>.
28. Kishkun A.A. *Guidance on the laboratory methods of the diagnosis.* Moscow: GEOTAR-Media; 2007. (in Russian)

Поступила 11.12.15

Принята к печати 20.01.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 612.6.02.017.1:575.11.2.08

Логинова М.А.^{1,2}, Парамонов И.В.², Татаева З.М.³, Кабардиева А.И.⁴

НОВЫЙ АЛЛЕЛЬ ЛОКУСА HLA-A, A*24:314, ВЫЯВЛЕННЫЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ СЕВЕРНОГО КAVКАЗА

¹ФГБУ Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» ФМБА России, 610002, г. Киров, Россия; ²ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России, 610027, г. Киров, Россия; ³ГБУ Республиканская станция переливания крови Минздрава Чеченской Республики, 364037, г. Грозный, Россия; ⁴ГБУ Республиканская станция переливания крови Минздрава Республики Дагестан, 367008, г. Махачкала, Россия

Проведено HLA-типирование 2444 потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, проживающих в Чеченской Республике и Республике Дагестан, по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1. В ходе проведенных исследований в изучаемой популяции выявлен новый аллель, который ранее не был зарегистрирован Международным комитетом по номенклатуре факторов HLA-системы ВОЗ. При изучении частот распределения аллелей локуса HLA-A выявлен 51 аллель из 19 аллельных групп. Частотой встречаемости более 10% обладают следующие аллели – HLA-A*02:01 (32,28%), 01:01 (11,54%), 24:02 (10,84%). Вновь выявленный аллель A*24:314 (0,31%) занимает второе место по частоте встречаемости среди аллелей аллельной группы A*24, после аллеля A*24:02.

Ключевые слова: человеческие лейкоцитарные антигены; HLA-типирование; новые аллели; частота встречаемости.

Для цитирования: Логинова М.А., Парамонов И.В., Татаева З.М., Кабардиева А.И. Новый аллель локуса HLA-A, A*24:314, выявленный в популяциях Северного Кавказа. *Гематология и трансфузиология.* 2016; 61(2): 96-100. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-96-100

Loginova M.A.^{1,2}, Paramonov I.V.², Tataeva Z.M.³, Kabardieva A.I.⁴

NEW ALLELE A*24:314 FOR THE LOCI HLA-A IDENTIFIED IN POPULATIONS OF THE NORTHERN CAUCASUS

¹Russian Medical Research and Production Center "Rosplazma"; Kirov, 610002, Russian Federation; ²Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, 610027, Russian Federation; ³Republican Blood Transfusion Station of the Ministry of Health of the Chechen Republic, Grozny, 364037, Russian Federation; ⁴Republican Blood Transfusion Station of the Ministry of Health of the Republic of Dagestan, Makhachkala, 367008, Russian Federation

Sequence based typing was used to identify human leukocyte antigen HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 alleles from 2444 donors residing in the Chechen Republic and the Republic of Dagestan, Russia, for unrelated hematopoietic stem cell registry. During the performance of the research in the study population there was identified new allele, which was not previously registered on The WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System. In this population, 51 HLA-A alleles from 19 groups of alleles were detected. Alleles occurred with the frequency more than 10% included HLA-A*02:01 (32.28%), 01:01 (11.54%), 24:02 (10.84%). New identified allele HLA-A*24:314 (0.31%) ranks second in the frequency of alleles among the allelic group A*24, after allele A*24:02.

Key words: Human Leucocyte Antigens; HLA-typing; new alleles; allele frequency.

For citation: Loginova M.A., Paramonov I.V., Tataeva Z.M., Kabardieva A.I. A new HLA-A allele, A*24:314, identified in the populations of the North Caucasus. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologia i transfusiologya)*. 2016; 61(2): 96-100. (in Russian). DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-96-100

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

Funding. The study had no sponsorship.

Received 11 Feb 2016

Accepted 10 May 2016

Человеческие лейкоцитарные антигены (Human leucocyte antigens – HLA) являются наиболее полиморфными локусами в геноме человека. По данным Комитета по номенклатуре факторов HLA-системы ВОЗ (the WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System), на январь 2016 г. локусы I класса представлены 10 574 аллелями, II класса – 3658 [1]. За последние 5 лет количество известных аллелей HLA-локусов увеличилось почти в 2 раза, что связано не только с расширением числа изученных мировых популяций, но и с развитием методов HLA-типирования, позволяющих выявлять единичные нуклеотидные замены в различных структурных элементах HLA-генов. При этом Российская Федерация (РФ) до 30.09.14 оставалась «зеленой» на карте мира (обозначение председателя Комитета по номенклатуре факторов HLA-системы ВОЗ проф. Стивена Марша), т.е. не имела ни одного зарегистрированного нового HLA-аллеля. Комитет по номенклатуре факторов HLA-системы ВОЗ 30.09.14 зарегистрировал сразу два новых аллеля, выявленных в российских популяциях [2, 3].

Такая ситуация объясняется не только относительно небольшим количеством потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в российском регистре (по состоянию на 22.01.16 зарегистрировано 44 180 доноров [4]), но и тем, что большая часть лабораторий HLA-типирования использует в своей работе технологии SSP (Sequence-Specific Primers) и SSO (Sequence-Specific Oligonucleotides). Указанные технологии позволяют идентифицировать новый аллель только в случае, если нуклеотидная замена произошла в месте связывания праймера, но позволяют быстро наполнить регистр. Однако в отличие от секвенирования в малоизученных популяциях, к которым относятся большую часть российских популяций, методы SSP и SSO могут привести к неправильной интерпретации аллелей [2].

Цель настоящего исследования – идентификация нового аллеля локуса HLA-A, изучение генетического разнообразия аллелей локуса HLA-A в популяциях Северного Кавказа.

Материал и методы

В исследование были включены 2444 образца цельной крови, полученные от потенциальных доноров ГСК, проживающих на

территории Чеченской Республики и Республики Дагестан. Все доноры были привлечены из числа кадровых доноров крови и ее компонентов Республиканскими станциями переливания крови в 2014–2015 гг.

Препараты ДНК для проведения HLA-типирования были получены из замороженных образцов цельной крови (антикоагулянт ЭДТА) методом сепарации на магнитных частицах с помощью прибора MagNA Pure Compact с использованием наборов реагентов MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I (“Roche”, Швейцария). Концентрация препаратов ДНК составляла в среднем 25–40 нг/мкл при соотношении A_{260}/A_{280} 1,75–1,95.

HLA-типирование по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 проводили по технологии SBT (Sequencing Based Typing) с использованием базовых наборов реагентов AlleleSEQR HLA Sequencing (“Abbott”, США). Для разрешения неоднозначностей типирования использовали реагенты для уточнения гетерозиготных неоднозначностей с использованием амплификатов, полученных на стадии амплификации при постановке HLA-типирования с базовыми наборами реагентов.

Капиллярный электрофорез осуществляли с использованием генетического анализатора $3500 \times I$ (“Applied Biosystems”, США), полученные сиквенсы просматривали в программном обеспечении Sequencing Analysis v.5.2, анализировали в программном обеспечении SBT Engine с использованием библиотек HLA-аллелей – IMGT/HLA 3.18.0–3.21.0.

Реагенты для уточнения гетерозиготных неоднозначностей выбирали с использованием программного обеспечения HARP’s Finder, доступного в режиме on-line в глобальной сети Интернет [5].

Для подтверждения и описания новых аллелей использовали набор реагентов PROTRANS HLA-A S4 (“Protrans”, Германия), основанный на технологии моноаллельного секвенирования. Анализ полученных сиквенсов проводили с помощью программного обеспечения SeqPilot.

Частоты аллелей локуса HLA-A были определены методом максимального правдоподобия с помощью алгоритма максимизации ожидания для данных с неизвестной гаметической фазой [6, 7], реализованным в программном обеспечении Arlequin v.3.1. Стандартные отклонения рассчитывали при начальном значении итераций равном 100. В случае определения одного аллеля индивидуума считали гомозиготным по данному аллелю.

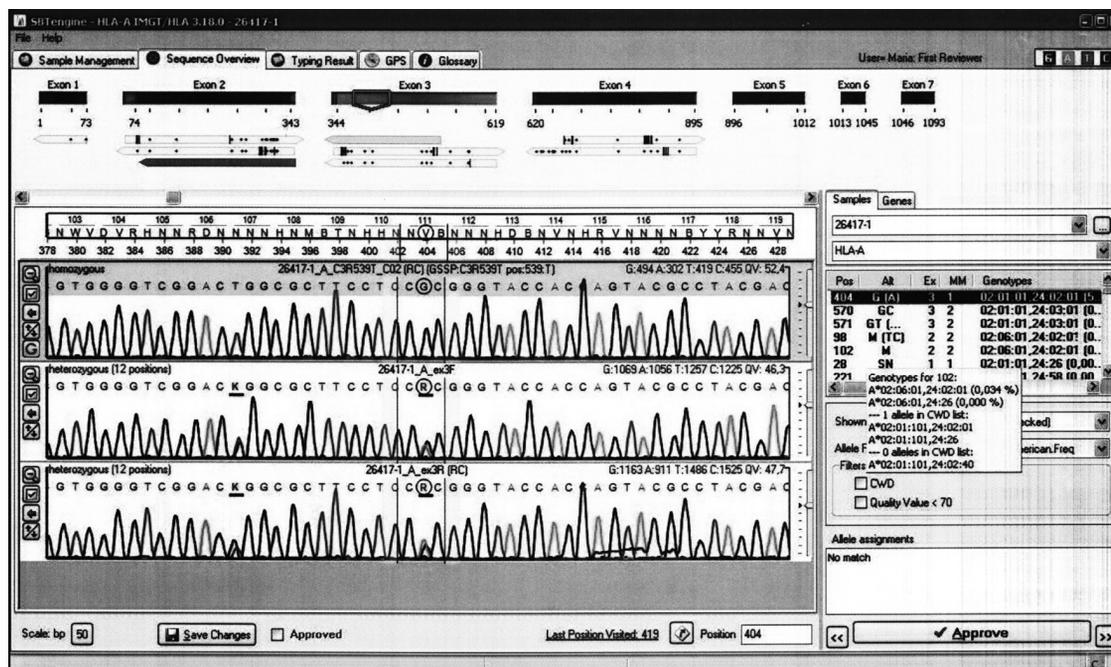


Рис. 1. Результат анализа образца №26 417 по локусу А в программном обеспечении SBT Engine v.3.6.1.

Для корреспонденции:

Логинава Мария Александровна, кандидат биол. наук, начальник отдела донорства гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ РМНПЦ «Росплазма» ФМБА России, 610002, г. Киров, Россия. E-mail: loginova-ma@rosplasma.ru.

For correspondence:

Loginova Mariya A., BD, PhD, head of the Department of donor of hematopoietic stem cells “Rosplasma”, 610002, Kirov, Russia. E-mail: loginova-ma@rosplasma.ru.

Information about authors:

Loginova M.A., <http://orcid.org/0000-0001-7088-3986>; Paramonov I.V., <http://orcid.org/0000-0002-7205-912X>; Tataeva Z.M. <http://orcid.org/0000-0002-7330-6145>; Kabardieva A.I., <http://orcid.org/0000-0002-7025-4554>.

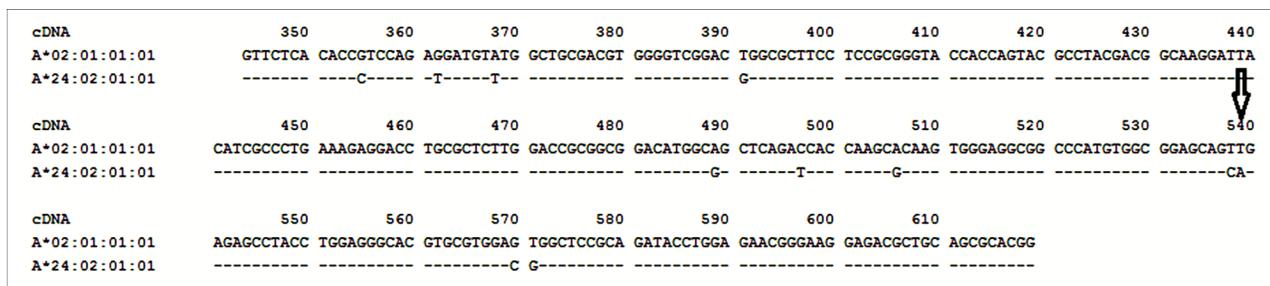


Рис. 2. Сравнение последовательностей 3-го экзона аллелей A*02:01:01:01 и A*24:02:01:01 (в нуклеотидах).

Результаты

В октябре 2014 г. в ходе проведения исследования 192 образцов ДНК, полученных от доноров, проживающих на территории Северного Кавказа, для одного образца не было найдено полного соответствия с библиотекой HLA-аллелей IMGT/HLA 3.18.0 по локусу HLA-A – №26417.

В ходе проведения высококорреляющего HLA-типирования образца № 26417 был определен следующий генотип B*18:01/18:17N, 44:AMUT, C*05:01, 12:03, DRB1*04:03, 11:04, DQB1*03:01, 03:02, A*02, 24 с одним несоответствием базе данных HLA-аллелей – в позиции 404 3-го экзона вместо G стоит R, четкий двойной пик выявлен в прямом и обратном направлении (рис. 1).

Для определения того, какой из пары аллельных вариантов является уже известным, а какой новым, провели сравнение последовательностей с помощью инструмента Sequence Alignment, доступного в режиме on-line в глобальной сети Интернет [8]. Результаты сравнения последовательностей представлены на рис. 2, из которых видно, что использование постановки одной дополнительной сиквенсовой реакции с применением реагента для уточнения гетерозиготных неоднозначностей – С3R539T, позволит определить, какой из аллельных вариантов является новым. Результат постановки сиквенсовой реакции с указанным реагентом для уточнения гетерозиготных неоднозначностей (см. рис. 1) показывает, что реагент для уточнения гетерозиготных неоднозначностей С3R539T, отжигающийся только на последовательность аллеля A*02:01:01:01, дает в позиции 404 3-го экзона G. На основании этого сделан вывод о том, что образец №26 417 содержит новый аллель в локусе A и его генотип может быть обозначен как A*02, 24:новый. При этом 111-й кодон аллеля A*24:новый меняется с CGC на CAC, что приводит к изменению аминокислоты с аргинина на гистидин. Необходимо отметить, что в декабре 2014 г., когда пул образцов был расширен до 672, описанный выше аллель был выявлен еще у 2 доноров изучаемой популяции – № 29201 и № 29247.

Таблица 1

HLA-генотипы образцов, содержащих аллель HLA-A*24:314, половая и национальная принадлежность доноров

№ п/п	№ образца	Генотип по локусу					Пол	Национальная принадлежность
		A	B	C	DRB1	DQB1		
1	26 417	02:01/02:01L, 24:314	18:01/18:17N , 44:AMUT	05:01, 12:03	04:03, 11:04	03:01, 03:02	м	Чеченец
2	29 201	03:01, 24:314	18:01/18:17N , 51:01	03:03, 12:03	13:01, 16:02	05:02/05:05, 06:03/06:28	м	Кумык
3	29 248	02:06, 24:314	18:01/18:17N	07:AAGAJ, 12:03	04:04, 11:04	03:01, 03:02	м	Даргинец
4	2049	02:01/02:01L, 24:314	18:01/18:17N , 51:01	12:03 , 16:02	10:01, 11:04	03:01, 05:01	м	Аварец
5	25 682	02:01/02:01L, 24:314	18:01/18:17N , 52:01	12:02, 12:03	11:04, 15:02	03:01/03:10, 06:01/06:53	м	Чеченец
6	29 243	02:01/02:01L, 24:314	07:TDVB , 49:01	07:ABXZJ , 07:WCP	15:01	05:02/05:05, 06:02/06:79	м	Лезгин
7	29 455	02:01/02:01L, 24:314	18:01/18:17N , 44:AMUT	05:01, 12:03	03:01, 04:05	02:01, 04:01	м	Балкарец
8	29 136	02:01/02:01L, 24:314	13:02, 18:01/18:17N	06:02, 12:03	11:01/11:97, 11:04	03:01	м	Лакец
9	2057	24:314 , 68:01	07:02 , 44:02/44:19N	05:01, 07:ABSED	13:ADPGE, 15:01	05:03, 06:03	м	Аварец
10	29 117	23:AFCTD, 24:314	18:01/18:17N , 55:01	03:03, 12:03	04:03, 11:04	03:01, 03:02	ж	Аварка
11	31 650	24:02, 24:314	08:01, 18:01/18:17N	07:ABSED, 12:03/12:143	03, 11	02:01, 03:01	м	Чеченец
12	32 959	02:01/02:01L, 24:314	14:02, 18:01/18:17N	08:02, 12:03/12:143	01, 11	03:01, 05:01	м	Чеченец
13	32 606	24:314 , 25:01	18:01/18:17N , 56:01	01:02/01:85, 12:03/12:143	01:AETTD, 11:04	03:01, 05:01	ж	Лезгинка
14	32 897	02:01/02:01L, 24:314	13:02, 18:01/18:17N	06:02, 12:03/12:143	07:01/07:34, 11:04	02:02, 03:01	м	Лакец
15	26 101	24:314, 68:01	18:01/18:17N, 44:AMUT	07:ET, 12:03	11:04, 13:03	03:01	ж	Аварка
16	25 557	03:02, 24:314	08:NWWC, 18:NWYH	07:HKGV, 12:NNNN	03, 11		ж	Лезгинка

Примечание. HLA – гаплотипы, в которые, вероятно, входит HLA-A*24:314, выделены жирным шрифтом здесь и в табл. 2.

Для подтверждения нового аллеля и его описания для последующей регистрации в международной базе данных HLA-аллелей использовали технологию моноаллельного секвенирования с применением наборов реагентов PROTRANS HLA-A S4. Полученные данные подтвердили наличие нового аллеля во всех трех образцах и позволили представить данный аллель на регистрацию (номер последовательности в базе данных EMBL LN830751). Указанному аллелю 23.06.15 был присвоен номер A*24:314 и выдано свидетельство о регистрации нового аллеля.

При проведении дальнейших исследований аллель HLA-A*24:314, был выявлен еще у 12 человек. А в сентябре 2015 г. данный аллель был обнаружен у потенциального донора ГСК, проживающего на территории Костромской области. Генотипы образцов, содержащих аллель HLA-A*24:314, а также половая и национальная принадлежность доноров, представлены в табл. 1, из данных которой видно, что в 14 случаях выявленный аллель, вероятно, ассоциирован с гаплотипом A*24:314-B*18:01/18:17N-C*12:03, и только в двух случаях – с гаплотипом A*24:314-B*07:02-C*07:02.

Аллели локусов HLA-A, частоты их встречаемости с соответствующими стандартными отклонениями представлены в табл. 2. Был выявлен 51 аллель по локусу HLA-A из 19 аллельных групп: по одному – из аллельных групп A*01, A*25, A*32, A*34, A*36, A*66, A*69, A*74, по два – из аллельных групп A*03, A*11, A*23, A*31, A*33, по три – из аллельных групп A*26, A*29, A*30,

Таблица 2

Аллели локуса HLA-A и частоты их встречаемости

№ п/п	Аллель	Частота встречаемости	Стандартное отклонение	№ п/п	Аллель	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
1	01:01	0,115385	0,004273	27	24:26	0,001841	0,000614
2	02:01	0,322831	0,007156	28	24:314	0,003069	0,000770
3	02:02	0,000614	0,000359	29	25:01	0,010229	0,001422
4	02:05	0,013912	0,001660	30	26:01	0,052373	0,003059
5	02:06	0,007979	0,001111	31	26:106 [9]	0,000409	0,000268
6	02:07	0,001637	0,000581	32	26:14	0,000205	0,000190
7	02:09	0,003478	0,000813	33	29:01	0,010229	0,001327
8	02:101	0,000205	0,000223	34	29:02	0,006342	0,001047
9	02:110	0,000205	0,000208	35	29:10	0,000614	0,000352
10	02:12	0,000205	0,000200	36	30:01	0,008388	0,001422
11	02:17	0,000614	0,000328	37	30:02	0,001841	0,000602
12	02:20	0,000409	0,000298	38	30:04	0,004705	0,000962
13	02:228	0,000614	0,000327	39	31:01	0,016571	0,001768
14	02:85	0,000205	0,000193	40	31:02	0,000205	0,000216
15	02:93	0,000205	0,000203	41	32:01	0,038052	0,002656
16	03:01	0,097177	0,003824	42	33:01	0,006751	0,001189
17	03:02	0,025573	0,002202	43	33:03	0,005524	0,001057
18	11:01	0,057488	0,003531	44	34:03	0,000205	0,000192
19	11:72	0,000614	0,000338	45	36:04	0,000205	0,000195
20	23:01	0,021686	0,002055	46	66:01	0,002250	0,000633
21	23:29	0,000205	0,000212	47	68:01	0,043985	0,003085
22	24:01	0,000205	0,000217	48	68:02	0,001023	0,000425
23	24:02	0,108429	0,004459	49	68:24	0,000409	0,000281
24	24:03	0,002046	0,000703	50	69:01	0,000614	0,000338
25	24:11N	0,000409	0,000276	51	74:03	0,000205	0,000184
26	24:23	0,001432	0,000595				

A*68. Наибольшим числом выявленных аллелей характеризовались аллельные группы A*02 (13) и A*24 (7). В ходе проведения исследований не выявлены только аллели из аллельных групп A*43 и A*80, впервые выявленные и обнаруживающиеся у представителей Африки [9, 10].

Наибольшей частотой встречаемости обладает аллель A*02:01 – 32,28%, далее следуют аллели A*01:01, A*24:02 и A*03:01 с частотами встречаемости 11,54, 10,84 и 9,72% соответственно (см. табл. 2). При этом аллель A*24:314 (0,31%) занимает второе место по частоте встречаемости среди аллелей аллельной группы A*24 после аллеля A*24:02.

Обсуждение

Число потенциальных доноров ГСК, зарегистрированных в международном регистре доноров костного мозга (BMDW), превышает 25 млн человек [11]. В международный регистр включены данные 72 регистров из 52 стран мира [11]. Крупнейшими из них являются NMDP в США, DKMS в Германии, Фонд Энтони Нолана в Великобритании и др. Такое число безвозмездных доноров позволяет трансплантационным центрам, в том числе российским, осуществлять эффективный поиск совместимых доноров ГСК для больных, нуждающихся в трансплантации аллогенных ГСК (алло-ТГСК).

Зачастую для российского больного не удается подобрать совместимого донора в международном регистре. С одной стороны, это обусловлено тем, что в этом регистре наиболее широко представлены доноры, относящиеся к европейским и североамериканским популяциям, для которых характерна относительно низкая частота встречаемости HLA-аллелей и гаплотипов, специфичных для населения РФ [10]. С другой стороны, многонациональное (более 180 народов) государство Российская Федерация с населением более чем 143 млн человек, представлено

в международной базе данных только тремя небольшими региональными регистрами потенциальных доноров ГСК, не обеспечивающими репрезентативность HLA-гаплотипов, достаточную для эффективного подбора доноров [11].

В настоящее время имеется мало данных о распространенности HLA-A, HLA-B, HLA-C и HLA-DRB1 аллелей и HLA-гаплотипов в различных российских популяциях [12–18]. Большинство исследований по распространенности аллелей класса I в российских популяциях были проведены серологическим методом [14], а имеющиеся данные молекулярно-биологических исследований содержат информацию преимущественно о частотах встречаемости аллелей локусов класса II [12, 13, 18]. Это не позволяет оценить, насколько существенно доноры, относящиеся к той или иной российской популяции, должны быть представлены в российском регистре потенциальных доноров ГСК для обеспечения его генетической репрезентативности и обеспечения высокой вероятности успешного подбора неродственного донора для российских больных.

Данное исследование позволило выявить и зарегистрировать новый аллель, выявленный в популяциях Северного Кавказа. Данный аллель, возникший в результате случайной мутации гена, «закрепился» в изученных популяциях и циркулирует в них. А существующие в РФ активные миграционные процессы населения способствуют распространению аллеля HLA-A*24:314 по территории страны (случай выявления указанного аллеля в Костромской области).

Данные по изучению частоты встречаемости аллелей локуса HLA-A в исследованных популяциях показали, что вновь выявленный аллель характеризуется довольно высокой частотой встречаемости – 0,31%, гораздо более высокой по сравнению с частотами встречаемости «редких» аллелей в других аллельных группах.

Проведенные исследования показывают актуальность дальнейшего изучения разнообразия HLA-аллелей у представителей различных российских популяций и расширения географии рекрутирования потенциальных доноров ГСК, что позволит увеличить эффективность подбора доноров ГСК для больных российских клиник, нуждающихся в алло-ТГСК.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Бидерман Б.В., Якутик И.А., Хамаганова Е.Г., Судариков А.Б., Кузьмина Л.А., Паровичникова Е.Н. и др. Новый аллель HLA-C812:138, выявленный у больной хроническим миелолейкозом в процессе поиска неродственного донора для трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология*. 2015; 60(2): 4–5.
- Счетчик регистра (2016). Доступен: <http://www.rusfond.ru/registr/009#counter> (обновление 22.01.2016).
- Болдырева М.Н., Гуськова И.А., Богатова О.В., Янкевич Т.Э., Хромова Н.А., Тегакто О.В. и др. HLA-генетическое разнообразие населения России и СНГ. II. Народы европейской части. *Иммунология*. 2006; 4: 198–202.
- Болдырева М.Н., Гуськова И.А., Богатова О.В., Янкевич Т.Э., Хромова Н.А., Кабдулова Д.Д. и др. HLA-генетическое разнообразие населения России и СНГ. III. Народы Евразии. *Иммунология*. 2006; 6: 324–29.
- Логинава М.А., Трофимова Н.П., Парамонов И.В. Генетические особенности популяции, проживающей на территории Кировской области. *Вестник службы крови России*. 2012; 1: 24–8.

Остальные источники литературы см. в References

REFERENCES

- Nomenclature for Factors of the HLA System. HLA alleles number. 2016. Available at: <http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>.
- Biderman B.V., Jakutik I.A., Hamaganova E.G., Sudarikov A.B., Kuzmina L.A., Parovichnikova E.N., et al. New allele HLA-C812: 138, identified in patients with chronic myeloid leukemia in the search for an unrelated donor allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2015; 60(2): 4–5. (in Russian)
- Loginova M., Paramonov I. Identification of a new HLA-B*27 allele, B*27:133, in a Russian individual. *Tissue Antigens*. 2015; 86(3): 211–2. doi: 10.1111/tan.12611.
- The counter register (2016). Available at: <http://www.rusfond.ru/registr/009#counter> (update 22.01.2016). (in Russian).
- HARPs Finder (2016). Available at: <http://www.harpsfinder.conexio-genomics.com/index.html>.

6. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online*. 2007; 1: 47–50.
7. Excoffier L., Slatkin M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. *Mol. Biol. Evol.* 1995; 12(5): 921–7.
8. Sequence Alignment Tool. Available at: <http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/align.html>.
9. IMGT/HLA Allele Query Form. Available at: <https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/allele.html>.
10. Allele frequency in World population (2016). Available at: <http://www.allelefrequencies.net>.
11. Bone Marrow Donor Worldwide (2015). Available at: <http://www.bmdw.org/index.php?id=home>.
12. Boldyreva M.N., Guskova I.A., Bogatova O.V., Jankevich T.E., Hromova N.A., Tegako O.V., et al. HLA-genetic diversity of the population of Russia and the CIS. II. The peoples of the European part. *Immunology. Russian journal (Immunologiya)*. 2006; 4: 198–202. (in Russian).
13. Boldyreva M.N., Gus'kova I.A., Bogatova O.V., Jankevich T.E., Hromova N.A., Kabdulova D.D., et al. HLA-genetic diversity of the population of Russia and the CIS. III. The peoples of Eurasia. *Immunology. Russian journal (Immunologiya)*. 2006; 6: 324–29. (in Russian)
14. Bubnova L.N., Zaitseva G.A., Erokhina L.V., Berkos A.S., Reutova N.V., Belyaeva E.V., et al. A comparative study of HLA-A and HLA-B antigens and haplotype distribution among donors of hematopoietic stem cells from Russia and German regions. *Cell. Ther. Transplant.* 2008; 1(1): 28–34.
15. Loginova M.A., Trofimova N.P., Paramonov I.V. The genetic characteristics of the population living on the territory of the Kirov region. *Journal of the blood service of Russia. Russian journal (Vestnik sluzhby krovi Rossii)*. 2012; 1: 24–8. (in Russian)
16. Toropovskiy A., Tyumina O., Trusova L. Estimation of HLA alleles and haplotypes frequencies distribution in population of the Samara Region. 36th Annual Meeting Abstracts. *Human Immunol.* 2010; 71 (Suppl. 1): S84.
17. Russian Ministry of Health (2002). HLA in Russian Northwest. In: The Allele Frequency Database Net. Available at: <http://www.allelefrequencies.net>.
18. Boldyreva M., Alexeev P., Khaitov R. (2005). HLA-genetic diversity among populations of Russia and FSU. I. Russians. In: The Allele Frequency Database Net. Available at: <http://www.allelefrequencies.net>.

Поступила 11.02.16

Принята к печати 10.05.16

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 612.6.02.017.1:575.174.015.3

Зайцева Г.А., Киселева А.Н., Парамонов И.В.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *MICA* И *MICB* В КОМПЛЕКСЕ МНС

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России,
610027, г. Киров, Россия

Представлены данные литературы, отражающие структуру и функцию открытых в конце XX века генов локуса *MIC*, характеризующихся высоким полиморфизмом. Показано, что они играют важную роль в процессах межклеточного взаимодействия, участвуют в реализации реакций врожденного и адаптивного иммунитета в качестве лигандов для рецепторов NKG2D, экспрессированных на различных субпопуляциях Т-лимфоцитов. Изложены известные на сегодняшний день сведения об ассоциативной связи генов локуса *MIC* с заболеваниями, их влияние на исход трансплантаций. Один из разделов статьи посвящен анализу популяционных особенностей распределения аллелей *MICA* и *MICB*. Используются 62 источника литературы, из них 3 отечественных, 47 зарубежных, представленных в следующих информационных системах: PubMed, Google Scholar, Scopus, Springer, The Cochrane Library, Wiley Online Library, РИНЦ.

Ключевые слова: генетика; гены *MICA* и *MICB*; система HLA.

Для цитирования: Зайцева Г.А., Киселева А.Н., Парамонов И.В. Полиморфизм генов *MICA* и *MICB* в комплексе МНС. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(2): 100-104. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-100-104

Zaitseva G.A., Kiseleva A.N., Paramonov I.V.

MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX CLASS I CHAIN-RELATED GENE A (*MICA*) AND B (*MICB*) POLYMORPHISM

Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, 610027, Russian Federation

There are presented data of the literature about the structure and function of the opened at the end of XX century the genes of the *MIC* locus, characterized by high polymorphism. They play an important role in cell-cell interactions involved in the implementation of responses of the innate and adaptive immunity as ligands for the NKG2D receptors expressed on different subpopulations of T-lymphocytes. There is relationship between *MIC* locus genes with diseases and their impact on the outcome of transplants. Population characteristics and distribution of *MICA* and *MICB* alleles are described.

Key words: genetics; *MICA* and *MICB* genes; HLA system.

For citation: Zaitseva G.A., Kiseleva A.N., Paramonov I.V. Major histocompatibility complex class I chain-related gene A (*MICA*) and B (*MICB*) polymorphism. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2016; 61(2): 100-104. (in Russian). DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-100-104

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

Funding. The study had no sponsorship.

Received 14 Jan 2016

Accepted 10 May 2016

Для корреспонденции:

Зайцева Галина Алексеевна, доктор мед. наук, профессор, руководитель научного направления ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России, 610027, г. Киров, Россия. E-mail: immunlab@yandex.ru.

For correspondence:

Zaitseva Galina A., MD, PhD, professor, head of the scientific direction of the Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, 610027, Russia. E-mail: immunlab@yandex.ru.

Information about authors:

Zaitseva G.A., <http://orcid.org/0000-0002-5759-0553>; Kiseleva A.N., <http://orcid.org/0000-0003-1846-8237>; Paramonov I.V., <http://orcid.org/0000-0003-3431-5273>.

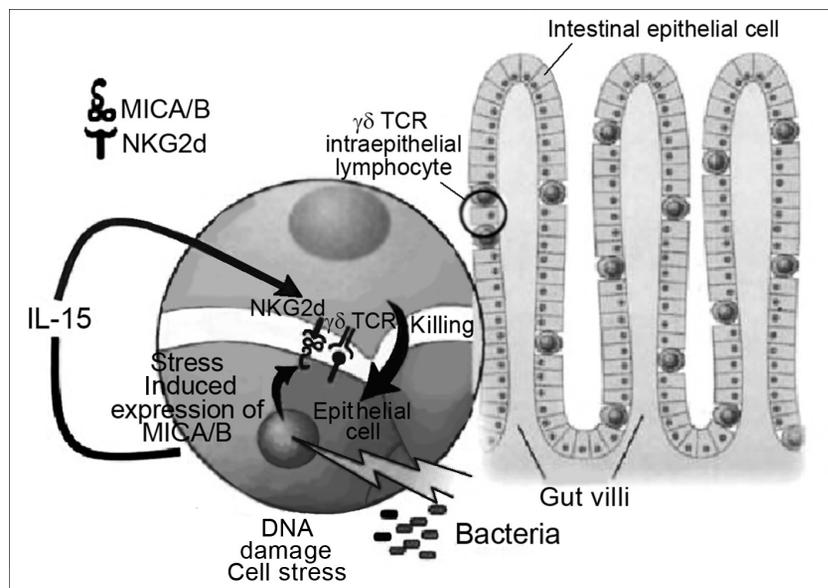


Рис. 3. Бактерии, опухоли и другие стресс-стимулы индуцируют экспрессию *MICA/B* в эпителиальных клетках человека [13].

MICA является фактором, predisполагающим к аутоиммунным заболеваниям. Полиморфизм *MICA* аллелей *MICA-A5* и *A5.1* коррелирует с сахарным диабетом 1-го типа [2, 8, 21, 24–27].

Системную красную волчанку (СКВ) относят к заболеваниям с predisполагающим генетическим фоном. Обнаружено, что *MICA* 5/5.1 положительно связан с СКВ (OR 28,9), а *MICA* 9 имеет отрицательную ассоциацию с данным заболеванием (OR 0,2). У этих пациентов оказалась повышена частота гаплотипов DR3-DQ2-*MICA*5.1 и DR3-DQ2-*MICA*5 [28].

Выявлены также положительные ассоциации *MICA*-генов с такими аутоиммунными заболеваниями, как целиакия (аллели *MICA* A5.1), очаговая алопеция (аллели *MICA* 5.1 и A6) [8].

К настоящему времени установлена связь *MICA* с онкологической патологией [2, 11, 15, 29–31], одной из которых является гепатоцеллюлярная карцинома, которая, как известно, в большинстве случаев развивается на фоне инфицирования вирусами гепатитов В и С. У этих больных отмечено высокое содержание растворимого *MICA* в сыворотке крови, что обуславливает неблагоприятный прогноз [32].

В популяции населения Южного Китая найдена связь между predisподеленностью к лейкемии и наличием в фенотипе *MICA* A5.1, особенно выраженная у гомозигот по *MICA* A5 и *MICA* 010, тогда как у гетерозигот по *MICA* 008 и *MICA* A5.1 риск развития лейкемии снижен [33].

Обнаружена ассоциация между присутствием в генотипе индивида аллелей *MICA* A9 и развитием рака полости рта в голландской популяции [1]. Показано повышение экспрессии *MICA* на опухолевых клетках тимомы [34].

Представлены данные об участии генов *MICA* в течении инфекционных заболеваний. При вирусных инфекциях наряду с увеличением продукции интерферона γ (ИНФ γ) в эпителиальных клетках увеличивается экспрессия белков *MICA*. Считают, что это является частью нормального инфекционного процесса [1, 35, 36].

Инфекция, вызванная респираторными вирусами, повышает поверхностное содержание *MICA* на клетках дыхательных путей в зависимости от времени воздействия и дозы возбудителей. При этом также повышается концентрация растворимых *MICA*. ИНФ γ ингибирует экспрессию поверхностных *MICA* и блокирует продукцию растворимого *MICA* [37].

Показана ассоциация *MICA* аллелей с туберкулезом, проказой. При реактивации ЦМВ-инфекции у больных ВИЧ-1 обнаружили связь с *MICA* A5.1 [38], а у пациентов, инфицированных вирусом гепатита С, дендритные клетки не усиливали экспрессию *MICA* после ИНФ α -стимуляции, что способствовало длительному течению заболевания [39]. Возможен также вклад *MICA*-аллелей в развитие болезни Крона, реализуемый путем индукции бактериями [1].

В последние годы ведутся работы по определению продукции *MICA* опухолевыми клетками *in vitro* и *in vivo* для создания и применения противоопухолевых вакцин [40].

Противоопухолевый ответ цитотоксических лимфоцитов в значительной степени зависит от уровня экспрессии молекул *MIC*-генов на поверхности трансформированных клеток. Следовательно,

можно рассматривать молекулы *MICA*, *MICB* в качестве клеточных маркеров, необходимых для распознавания цитотоксическими лимфоцитами. Это обосновывает положение о том, что молекулы *MICA* и *MICB* играют важную роль в противоопухолевом иммунном ответе.

Однако трансформированные клетки способны сбрасывать молекулы *MICA/B* со своей поверхности. Они могут обнаруживаться в высоких концентрациях в сыворотке крови пациентов с опухолями пищеварительного тракта и при других новообразованиях, но не у здоровых людей. Растворимые формы этих молекул *sMICA* (soluble *MICA*) блокируют активирующий рецептор NKG2D. Это приводит к угнетению цитолитической функции НК-клеток и ускользанию опухолевых элементов от иммунного надзора, что способствует прогрессированию заболевания [41–43].

Обсуждается роль *MICA*-аллелей в развитии процессов репродукции [44].

Значение *MIC* при трансплантации

Предполагают, что *MICA*-антигены способны влиять на исход трансплантаций, что, возможно, обуславливает необходимость селекции донор-реципиент с учетом совместимости по этим параметрам [1, 8, 45].

В нескольких исследованиях установлено, что высокополиморфные *MIC*-антигены экспрессируются в трансплантируемых органах и могут вызывать их раннее отторжение [46–48]. Гены *MICA* и *MICB* способны влиять на реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), поскольку они распознаются как трансплантационные антигены. При этом установлено, что совместимость по локусам *MICA* и *MICB* увеличивает выживаемость больного. По данным S. Ramag и соавт. [48], в некоторых случаях трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от подобранных по HLA-фенотипу доноров, но несовместимых по *MICA*, наблюдалось увеличение частоты РТПХ. Есть данные, что растворимый *MICA* является фактором риска для хронической РТПХ, тогда как антитела анти-*MICA* нейтрализуют растворимый *MICA* и обеспечивают защиту [42].

При анализе в группе из 236 больных миелолейкозом, из которых 73% были идентичны по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR и HLA-DQ и только 8,4% имели несовпадение по *MICA*, установлено, что более часто острая РТПХ 2–4-й степени наблюдалась у последних: 80% против 40%; $p = 0,003$ [48]. Другие исследователи [42], изучавшие влияние наличия *MICA*-антител на эффект ТГСК, обнаружили, кроме того, существенную связь между уровнем растворимого *MICA* в сыворотке крови в посттрансплантационном периоде выше 80 пг/мл и частотой развития РТПХ. Если же у реципиента перед трансплантацией были антитела к *MICA*, то частота высокого содержания растворимого *MICA* после трансплантации была ниже и число РТПХ меньше, что позволило предположить нейтрализующее действие антител на растворимый *MICA*.

Результаты исследований роли *MICA*-совместимости и антител анти-*MICA* при пересадке почки неоднозначны. Если одни исследователи [49–52] наблюдали более частое отторжение трансплантата у реципиентов с наличием анти-HLA- и анти-*MICA*-антител, то другие [53] получили отличающиеся результаты. Они не обнаружили статистической значимости в частоте выживания трансплантата на протяжении 4 лет между *MICA*-совместимыми (97%) и *MICA*-несовместимыми реципиентами (94%), а также – в темпах острого отторжения. То же касается и наличия антител анти-*MICA* у реципиента: в одних работах показано, что этот фактор коррелирует с результатами трансплантации почки, по данным других авторов, это не подтверждается [46, 51–53]. Поэтому на сегодняшний день в существующих рекомендациях не отражено требование на обязательном предтрансплантационном тестировании на не-HLA-антитела [40].

Противоречивые результаты представлены и в отношении трансплантации сердца. По данным B. Suarez-Alvarez и соавт. [54], антитела анти-*MICA* значительно чаще определяли у больных с тяжелым острым отторжением (60,7%), чем у пациентов без отторжения (14,3%), при этом наблюдалась широкая специфичность антител анти-*MICA* (против трех аллелей и более). Появление антител анти-*MICA* было зарегистрировано перед эпизодами отторжения.

Аналогичные данные были получены R. Kauke и соавт. [55]. На основании этого был сделан вывод, что мониторинг антител анти-*MICA* может быть использован в качестве маркера для раннего выявления острого отторжения при трансплантации сердца. Однако исследование, проведенное J. Smith и соавт. [56], не выявило кор-

Наиболее частые MICA-аллели в разных регионах [8]

Регион	MICA-аллели	Частота аллеля	Число исследованных образцов
Азия	A5	0,390	200
	MICA*010	0,390	41
	MICA*008	0,350	66
Восточная Европа	A5,1	0,443	108
	A6	0,407	27
	A9	0,232	108
Средний Восток	A6	0,500	18
	A5,1	0,222	18
	A5	0,167	18
Северная Африка	MICA*008:01	0,268	82
	MICA*004	0,232	82
	MICA*009:02	0,140	81
Северная Америка	MICA*008	0,550	242
	MICA*002:01	0,300	60
	MICA*004	0,292	39
Южная и Центральная Америка	MICA*002:01	0,641	174
	MICA*0027	0,352	60
	MICA*010	0,341	89
Тропическая Африка	MICA*002:01	0,424	83
	MICA*008:01	0,328	83
	MICA*004	0,270	83
Западная Европа	MICA*008:01	0,530	166
	A5,1	0,370	154
	A6	0,370	158

реляции между наличием антител анти-MICA и выживаемостью трансплантированного сердца. Авторы сделали заключение, что одни MICA-антитела незначительно влияют на результаты трансплантации сердца, в отличие от антител анти-HLA, чье влияние на приживляемость трансплантата и частоту случаев отторжения хорошо подтверждено.

Несмотря на неоднозначные результаты этих исследований, клиническое значение полиморфизмов гена MICA и антител анти-MICA в трансплантации органов и стволовых клеток на сегодняшний день можно считать установленным.

Популяционные особенности

Распределение аллелей MICA и MICB в различных этносах мира имеет свои особенности [57]. В таблице показана частота встречаемости наиболее распространенных аллелей MICA в различных регионах.

MICA A6 выявлялся с наибольшей частотой, варьируя от 25 до 50% в 13 из 25 обследованных популяций. Напротив, MICA A4 встречался с наименьшей частотой: 5–15% в 20 из 25 изученных популяций. Данные о распределении генов MICB в литературе очень ограничены.

В результате исследований, проведенных в нашей стране, установлены статистически значимые различия в распределении аллелей MICB в популяции русских и башкир Челябинской области. Установлено, что у татар Челябинской области по сравнению с русскими данного региона значимо ниже частота аллеля MICB*005:3 [58], а по сравнению с башкирами – частота MICB*009N и MICB*014 [59].

Методы определения генов MICA и антител анти-MICA

Генотипирование осуществляется методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью аллельспецифических праймеров (SSP-ПЦР). Используется также иммунохимический метод. Определение антител анти-MICA выполняют в иммуноферментном анализе, методом проточной цитометрии, вестерн-блоттингом и с микрочастицами Lumiplex [29, 44, 60].

Молекулы sMICA определяют методом ИФА в сыворотке крови. У практически здоровых людей циркулирующие MICA-лиганды отсутствуют или их содержание не превышает 20–200 МЕ. При заболеваниях их концентрация превышает эти показатели в 3–7 раз и более [61].

Предлагают также определять цитотоксическую активность мононуклеаров крови, которую исследуют в тесте с H³-уридином по отношению к клеткам-мишеням К-562 и МОЛТ-4. Спонтанная цитотоксичность мононуклеаров крови бывает снижена по отношению к здоровым в 2–3 раза [44].

Имуногистохимический анализ: депарафинизированную секцию биопсийного материала обрабатывают 40% нормальной человеческой сывороткой в течение 20 мин при комнатной температуре и инкубируют с мономорфными антителами анти-MICA в течение 1 ч.

Результаты считывают с помощью системы En Vision System. Анти-MICA моноклональные антитела были получены иммунизацией мышей рекомбинантным MICA*008 [62].

Таким образом, с каждым годом работы, посвященные обнаружению высоких концентраций молекул sMICA и sMICB в сыворотке крови онкологических больных, приобретают все большее значение в клинической практике, а мониторинг содержания сывороточных форм этих молекул у больного может служить прогностически значимым критерием оценки исхода заболевания. Однако на сегодняшний день нет данных о корреляции sMICA/B с гистологическим вариантом и стадией опухолевого процесса. Очевидно, что обнаружение и анализ растворимых форм молекул MICA/B может явиться потенциально новым маркером в дифференциальной диагностике заболевания, стадировании и прогнозе опухолевого роста.

Имеющиеся на сегодняшний день данные позволяют считать, что аллели генов MICA/B могут быть использованы в качестве молекулярных маркеров при прогнозировании течения других заболеваний, в том числе и инфекционных. Значение этих аллелей в исходе трансплантаций нуждается в дальнейшем изучении.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

- Хаитов Р.М. Геномика HLA: новые возможности молекулярной генетики человека в диагностике и терапии. *Молекулярная медицина.* 2003; 1: 17–31.
- Ярилин А.А. Иммунология: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
- Данилова А.Б., Фахрутдинова О.Л., Балдуева И.А., Моисеенко В.М. Иммунохимический анализ продукции MICA опухолевыми клетками in vitro и in vivo в контексте создания и применения противоопухолевых вакцин. *Вопросы онкологии.* 2010; 56(5): 576–82.
- Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г. Стрессиндуцированные молекулы MICA/B и их роль в развитии онкологических заболеваний. *Молекулярная медицина.* 2012; 4: 16–20.

Остальные источники литературы см. в References

REFERENCES

- Haitov R.M. Genomic HLA: new opportunities for human molecular genetics in the diagnosis and therapy. *Molecular Medicine. Russian journal (Molekulyarnaya meditsina).* 2003; 1: 17–31. (in Russian)
- Frigoul A., Lefranc M.P. MICA Standardized IMGT alleles nomenclature, polymorphisms and diseases. *Recent Res. Devel. Human Genet.* 2005; 3: 95–145. <http://www.ld.ru/w/biometra/mica.pdf>
- Gupta G.S. *Animal lectins: form, function and clinical application.* New York: Springer; 2012.
- Bahram S. MIC genes: from genetics to biology. *Adv. Immunol.* 2001; 76: 1–60.
- Stastny P. Introduction: MICA/MICB in innate immunity, adaptive immunity, autoimmunity, cancer and in the immune response to transplants. *Human Immunol.* 2006; 67(3): 141–4.
- Collins R.W. Human MHC class I chain related (MIC) genes: their biological function and relevance to disease and transplantation. *Eur. J. Immunogenet.* 2004; 31(3): 105–14.
- Yarilin A.A. Immunology: textbook. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. (in Russian)
- Kirijias M., Spiroski M. MICA Polymorphism, Association with Diseases and Role of Anti-MICA Antibodies in Organ and Cell Transplantation. *Macedonian J. Med. Sci.* 2013; 6(3): 285–95.
- Gonzalez S., Groh V., Spies T. Immunobiology of human NKG2D and its ligands. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2006; 298: 121–38.
- Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M. Immunobiology: the Immune System in Health and Disease. 5th ed. New York: Garland Science; 2001.
- Choy M.K., Phipps M.E. MICA polymorphism: biology and importance in immunity and disease. *Trends Mol. Med.* 2010; 16(3): 97–106. doi: 10.1016/j.molmed.2010.01.002.
- Murphy K.M. Janeway's Immunobiology. 8th ed. New York: Garland Science; 2011.
- Duchmann R., Blumberg R.S., Neurath M.F., Scholmerich J., Warren Strober, Zeitz M., et al., eds. Mechanisms of Intestinal Inflammation: Implications for Therapeutic Intervention in IBD. Part 1. Kluwer Academic Publishers; 2004.
- Hillyer C.D., Elberstein L., Ness P.M., Anderson K.C., Roback J.D. Blood banking and transfusion medicine: basic principles & practice. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2007.
- Cerwenka A., Lanier L.L. NK/G2D ligands: class I-like molecules exploited by viruses and cancer. *Tissue Antigens.* 2003; 61(5): 335–43.
- Ahmad T., Marshall S.E., Jewell D. Genetics of inflammatory bowel disease: the role of HLA complex. *Wld J. Gastroenterol.* 2006; 12(23): 3628–35.

17. Mameli A., Cauli A., Taccari E., Scarpa R., Punzi L., Lapadula G., et al. Association of MICA alleles with psoriatic arthritis and its clinical forms. A multicenter Italian study. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2008; 26(4): 649–52.
18. Romphruk A.V., Romphruk A., Choonhakarn C., Puapairoj C., Inoko H., Leelayuwat C. Major histocompatibility complex class I chain-related gene A in Thai psoriasis patients: MICA association as a part of human leukocyte antigen-B-Cw haplotypes. *Tissue Antigens.* 2004; 63(6): 547–54.
19. Pollock R., Chandran V., Barrett J., Eder L., Pellett F., Yao C., et al. Differential major histocompatibility complex class I chain-related A allele associations with skin and joint manifestations of psoriatic disease. *Tissue Antigens.* 2011; 77(6): 554–61. doi: 10.1111/j.1399-0039.2011.01670.x.
20. Zhou X., Wang J., Zou H., Ward M.M., Weisman M.H., Espitia M.G., et al. MICA, a gene contribution strong susceptibility to ankylosing spondylitis. *Ann. Rheum. Dis.* 2014; 73(8): 1552–57. doi: 10/1136/annrheumdis-2013-203352.
21. Goto K., Ota M., Maksymowich W.P., Mizuki N., Yabuki K., Katsuyama Y., et al. Association between MICA gene A4 allele and acute anterior uveitis in white patients with and without HLA-B27. *Am. J. Ophthalmol.* 1998; 126(3): 436–41.
22. Gambelungho G., Falorni A., Ghaderi M. Microsatellite polymorphism of the MHC class I chain – related (MIC-A and MIC-B) genes marks the risk for autoimmune Addison’s disease. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 1999; 84(10): 3701–07.
23. Cohen R., Metzger S., Nahir M., Chajek-Shaul T. Association of the MIC-A gene and HLA-B51 with Behcet’s disease in Arabs and non Ashkenazi Jews in Israel. *Ann. Rheum. Dis.* 2002; 61(2): 157–60.
24. Gambelungho G., Ghaderi M., Cosentino A., Falorni Ad., Brunetti P., Falorni A., Sanjeevi C.B. Association of MHC class I chain-related A (MIC-A) gene polymorphism with type I diabetes. *Diabetologia.* 2000; 43(Issue 4): 507–14.
25. Trofimov D., Sergeev I., Grudakova E., Alexeev L. The MICA alleles frequencies in healthy Russians and in type I diabetic patients. *Eur. J. Immunogenet.* 2002; 29(2): 147.
26. Nikitina-Zake L., Gupta M., Gambelungho G., Shtauvere G., Lernmark A. Frequencies of MICA alleles significantly differs between Latvian, Italian and Swedish populations and are associated with type I diabetes mellitus. *Tissue Antigens.* 2002; 59(2): 55.
27. Raha O., Sarkar B.N., Veerajay P., Sudhakar G., Raychaudhuri P., Mukhopadhyay S., Rao V.R. Role of MICA Repeat Polymorphism in the Manifestation of Type I Diabetes Mellitus in Bengal Indian Patients. *Genetika.* 2013; 45(2): 611–9. doi: 10.2298/GENSR1302611R.
28. Gambelungho G., Gerli R., Bocci E.B., Sindaco P.D., Ghaderi M., Sanjeevi C.B., et al. Contribution of MHC class I chain-related A (MICA) gene polymorphism to genetic susceptibility for systemic lupus erythematosus. *Rheumatology.* 2005; 44(3): 287–92. doi:10.1093/rheumatology/keh459.
29. Dambrauskas Z., Svensson, Joshi M., Hyltander A., Neredi P., Iresjo B. Expression of major histocompatibility complex class I-related chain AB (MICA/B) in pancreatic carcinoma. *Inter. J. Oncol.* 2014; 44(1): 99–104. doi: 10.3892/ijo.2013.2156.
30. Zwirner N.W., Fuertes M.B., Girart M.V., Domaica C.I., Rossi L.E. Immunobiology of the human MHC class I chain-related gene A (MICA): from transplantation immunology to tumor immune escape. *Immunologia.* 2006; 25(1): 25–38.
31. Reinders J., Rozemuller E., Slootweg P., Tilanus M. The MICA-A9 allele is significantly decreased in Dutch HNSCC patients diagnosed with mouth cavity tumor. *Tissue Antigens.* 2002; 59(2): 106.
32. Kumar V., Lo P.H., Sawai H., Kato N., Takahashi A., Deng Z., et al. Soluble MICA and a MICA variation as possible prognostic biomarkers for HBV – induced hepatocellular carcinoma. *PLoS One.* 2012; 7(9): e44743. doi: 10.1371/journal.pone.0044743.
33. Luo Q.Z., Lin L., Gong Z., Mei B., Xu Y.J., Huo Z., et al. Positive association of major histocompatibility complex class I chain-related gene A polymorphism with leukemia susceptibility in the people of Han nationality of Southern China. *Tissue Antigens.* 2011; 78(3): 178–84.
34. Hue S., Berrih-Aknin S., Monteiro R., Caillat-Zuerman S. MICA – NK-G2D interactions with in normal and pathologic thymus. *Tissue Antigens.* 2002; 59(2): 40.
35. Kanto T., Hayashi N. Innate immunity in hepatitis C virus infection: Interplay among dendritic cells, natural killer cells and natural killer T-cells. *Hepatol. Res.* 2007; 37(Suppl.3): 319–26.
36. Harapan H., Fajar J., Khalilullah S., Winardi W., Jamil K. Genetic Polymorphisms of HLA and HLA-Related Proteins Implications on Dengue Virus Infection. *J. Mosquito Res.* 2013; 3(1): 1–10.
37. Zdravcheva M.T., Telcian A.G., Laza-Stanca V., Bellettato C.M. RSV infection modulates IL-15 production and MICA levels in respiratory epithelial cells. *Eur. Respir. J.* 2012; 39(3): 712–20. doi: 10.1183/09031936.00099811.
38. Lazaro F.P., Werneck F.L., Mackert C., Cobat A. et al. A Major Gene Controls Leprosy Susceptibility in a Hyperendemic Isolated Population from North of Brazil. *JID.* 2010; 201: 1598–605.
39. Fielding C.A., Aichele R., Stanton R.J., Wang E.C.Y., Han S., Seirfian S., et al. Two novel human cytomegalovirus NK cell evasion functions target MICA for lysosomal degradation. *PLoS Pathogens.* 2014; 10(5): 1–17.
40. Danilova A.B., Fakhrutdinova O.L., Balduva I.A., Moiseenko V.M. Immunochemical assay of MICA production by tumor cells in vitro and in vivo as a component of antitumor vaccine development. *Problems in Oncology. Russian journal (Voprosy onkologii).* 2010; 56(5): 576–82. (in Russian)
41. Groh V., Wu J., Yee C., Spies T. Tumour-derived soluble MIC ligands impair expression of NKG2D and T-cell activation. *Nat. Immunol.* 2002; 419(6908): 734–8.
42. Boukouaci W., Busson M., Peffault de Latour R., Rocha V., Suberbielle C., Bengoufa D., et al. MICA-129 genotype, soluble MICA, and anti-MICA antibodies as biomarkers of chronic graft-versus-host disease. *Blood.* 2009; 114(25): 5216–24.
43. Abakushina E.V., Kuzmina E.G. Stress-induced molecules MICA/B and their role in cancer development. *Molecular Medicine. Russian journal (Molekulyarnaya meditsina).* 2012; 4: 16–20. (in Russian)
44. Mincheva-Nilsson L., Nagaeva O., Chen T., Stendahl U., Antsiferova J., Mogren L., et al. Placenta-derived soluble MHC class I chain-related molecules down-regulate NKG2D receptor on peripheral blood mononuclear cells during human pregnancy: a possible novel immune escape mechanism for fetal survival. *J. Immunol.* 2006; 176(6): 3585–92. doi:10.4049/jimmunol.176.6.3289.
45. Tait B.D., Susal C., Gebel H.M., Nickerson P.W., Zachary A.A., Claas F.N., et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation.* 2013; 95(1): 19–47.
46. Narayan S., Tsai E.W., Zhang O., Wallace W.D., Reed E.F., Ettenger R.B. Acute rejection associated with donor-specific anti-MICA antibody in highly sensitized pediatric renal transplant recipient. *Pediatric Transpl.* 2011; 15(1): 1–7.
47. Terasaki P.I., Ozawa M., Castro R. Four year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies of Kidney graft survival. *Am. J. Transpl.* 2007; 7(2): 408–15.
48. Parmar S., DeLima M., Zou Y., Patah P.A., Liu P., Cano P., et al. Donor – recipient mismatches in MHC class I chain – related gene A in unrelated donor transplantation lead to increased incidence of acute graft-versus-host disease. *Blood.* 2009; 114(14): 2884–7.
49. Zou Y., Zhang M., Lavingia B. Allot antibodies against MICA alleles in sera from kidney transplant patients react with the alpha-2 domain of MICA antigens. *Tissue Antigens.* 2002; 59(Suppl.2): 42.
50. Zou Y., Statny P., Susal C. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N. Engl. J. Med.* 2007; 357(13): 1293–1300.
51. Zhang M., Lu F., Qu L., He J., Yuan X.N., Gu Y. Serum major-histocompatibility-complex class I-related chain A antibody detection for the evaluation of graft dysfunction in renal allograft recipients. *Chin. Med. J.* 2011; 124(14): 2127–31.
52. Ozawa M., Rebellato L.M., Terasaki P., Tong A., Briley K.P., Catrou P., et al. Longitudinal testing of 266 renal allograft patients for HLA and MICA antibodies: Greenville experience. *Clin. Transpl.* 2006; 265–90.
53. Lemy A., Andrien M., Lionet A., Labalette M., Noel C., Hiesse C. Posttransplant major histocompatibility complex class I chain-related gene A antibodies and long-term graft outcomes in a Multicenter Cohort of 779 Kidney Transplant. *Transplantation.* 2012; 93(12): 1258–64.
54. Suarez-Alvarez B., Lopez-Vazquez A., Gonzalez M.Z., Fdez-Morera J.L., Diaz-Molina B., Blanco-Gelaz M.A., et al. The relationship of anti-MICA antibodies and MICA expression with heart allograft rejection. *Am. J. Transplant.* 2007; 7(7): 1842–8.
55. Kauke T., Kaszmarek L., Dick A., Schomoeckel M., Deutsch M.A., Beiras-Fernandez A., et al. Anti-MICA antibodies are related to adverse outcome in heart transplant recipients. *J. Transplant.* 2009; 28(4): 305–11.
56. Smith J.D., Brunner V.M., Jigjidsuren S., Hamour I.M. Lack of effect of MICA antibodies on graft survival following heart transplantation. *Am. J. Transplant.* 2009; 9(8): 1912–9. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02722.x.
57. Sohn Y.H., Cha C.H., Oh H.B., Kim M.H., Choi S.E., Kwon O.J. MICA polymorphisms and haplotypes with HLA-B and HLA-DRB1* in Koreans. *Tissue Antigens.* 2010; 75(1): 48–55.
58. Vavilov M.N., Suslova T.A., Burmistrova A.L., Darke C. HLA and MICB alleles in ancestral haplotypes in Russian and Bashkir populations of the Chelyabinsk Region of Russian South Urals. *Tissue Antigens.* 2012; 79(6): 531.
59. Suslova T.A., Burmistrova A.L., Chernova M.S., Khromova E.B., Lupar E., et al. HLA-gene and haplotype frequencies in Bashkirs, Russian and Tatars, living in the Chelyabinsk regions (Russian South Urals). *Inter. J. Immunogenet.* 2012; 39(5): 394–408. doi: 10.1111/j.1744-313X.2012.01117.x.
60. Zou Y., Stastny P. Screening for antibodies against MICA by luminex flow cytometry. *Methods Mol. Biol.* 2012; 882: 279–88. doi: 10.1007/978-1-61779-842-9_16.
61. Jiang X., Huang J.F., Huo Z., Zhang Q., Jiang Y., Wu X., et al. Elevation of soluble major histocompatibility complex class I related chain A protein in malignant and infectious diseases in Chinese patients. *BMC Immunol.* 2012; 13: 62. doi: 10.1186/1471-2172-13-62. <http://www.biomedcentral.com/1471-2172/13/62>
62. Zou Y., Mirbaha F., Lazaro A., Zhang J., Lavingia B., Stastny P. MICA is a target for complement-dependent cytotoxicity with mouse monoclonal antibodies and human alloantibodies. *Hum. Immunol.* 2002; 63(1): 30–9.

Поступила 14.01.16

Принята к печати 10.05.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.833-02:615.277.3

Ватутин Н.Т.^{1,2}, Склянная Е.В.^{1,2}, Эль-Хатиб М.А.^{1,3}, Макарова М.В.², Старченко С.В.²**ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ ПОЛИНЕЙРОПАТИИ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ РАЗЛИЧНЫМИ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИМИ АГЕНТАМИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ**¹Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, 83003, г. Донецк, Украина; ²Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака, 83045, г. Донецк, Украина; ³Центр первичной медико-санитарной помощи №5, 86114, г. Макеевка, Украина

Обзор посвящен нейротоксичности химиопрепаратов. Постхимиотерапевтическая полинейропатия является специфичным системным проявлением нейротоксичности, затрагивающим как качество жизни онкологических больных, так и возможность проведения противоопухолевого лечения. Описано токсическое влияние на периферическую нервную систему наиболее часто используемых в гематологии химиопрепаратов: таксанов, препаратов платины, винкалкалоидов, ингибиторов протеасом, эпотилонов, ингибиторов факторов роста и иммуномодулирующих агентов. В основе постхимиотерапевтической полинейропатии лежит повреждение периферических моторных, сенсорных и автономных нейронов, что клинически проявляется различными сенсорными (парестезии, онемение, боль), двигательными (мышечная слабость, парезы), вегетативными (нарушения моторики желудочно-кишечного тракта, аритмии) нарушениями, а также развитием нейропатической боли. Обобщены результаты исследований по этиологии, патогенезу, клинике, диагностике, профилактике и лечению постхимиотерапевтической полинейропатии.

К л ю ч е в ы е с л о в а : химиотерапия; нейротоксичность; патогенез; постхимиотерапевтическая полинейропатия.

Для цитирования: Ватутин Н.Т., Склянная Е.В., Эль-Хатиб М.А., Макарова М.В., Старченко С.В. Периферические полинейропатии, индуцированные различными химиотерапевтическими агентами: современное состояние проблемы. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(2): 105-109. DOI:10.18821/0234-5730-2016-61-2-105-109

Vatutin N.T.^{1,2}, Sklyannaya E.V.^{1,2}, El-Khatib M.A.^{1,3}, Makarova M.V.², Starchenko S.V.²**PERIPHERAL NEUROPATHIES INDUCED BY VARIOUS CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS: CURRENT STATE OF THE PROBLEM**¹M. Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk, 83003, Ukraine; ²V.K. Gusak Institute of Emergency and Reconstructive Surgery, Donetsk, 83045, Ukraine; ³Center for Primary Health Care No 5, Makeevka, 86114, Ukraine

This review is devoted to the problem of the neurotoxicity of chemotherapeutic agents. Peripheral neuropathy induced by chemotherapy is the specific manifestation of the neurotoxicity affecting both on the life quality of patients with oncologic pathology and possibility of the chemotherapy prescription. The toxic influences on the peripheral nervous system of chemotherapeutic agents (taxanes, epothilones, platinum compounds, vinca alkaloids, binding of growth factor inhibitors, proteasome inhibitors, immunomodulatory agents) are described. Against the background of peripheral neuropathy induced by chemotherapy there is the damage of peripheral motor, sensory and autonomic neurons, characterized by various abnormalities as follows: sensory (tingling, numbness, pain), motor (muscular delicacy, paresis) and autonomic (digestive tract motility disturbances, arrhythmia), and neuropathic pain.

К е y w o r d s : chemotherapy; neurotoxicity; pathogenesis; post chemotherapy polyneuropathy; review.

For citation: Vatutin M.T., Sklyannaya E.V., El-Khatib M.A., Makarova M.V., Starchenko S.V. Peripheral neuropathies induced by various chemotherapeutic agents: current state of the problem. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2016; 61(2): 105-109 (in Russian). DOI:10.18821/0234-5730-2016-61-2-105-109

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

Funding. The study had no sponsorship.

Received 10 March 2016

Accepted 10 May 2016

Химиотерапия (ХТ) является одним из ведущих методов лечения злокачественных опухолей. Вместе с тем побочные эффекты ХТ часто приводят к необходимости модификации доз химиопрепаратов, отсрочке очередных циклов, а иногда и к полному прекращению лечения. Нейротоксичность является одним из специфических системных осложнений химиотерапии, затрагивающих как качество жизни онкологических больных, так и саму возможность проведения жизненно важного противоопухолевого лечения [1].

Периферическая полинейропатия – наиболее частое проявление нейротоксичности, являющееся результатом повреждения периферических моторных, сенсорных и автономных нейронов [2]. Осо-

бенностью проявления постхимиотерапевтической полинейропатии (ПХПН) в отличие от других ее видов является преимущественное вовлечение чувствительных и вегетативных волокон, зависимость от дозы и вида химиопрепаратов, ослабление симптомов после отмены вызвавшего ее агента [3].

Эпидемиология ПХПН до сих пор остается неясной, хотя, по некоторым данным, она развивается у 30–40% больных, получающих ХТ [1–3]. Однако если в состав ХТ входят такие препараты, как цисплатин [4, 5], паклитаксел [6], доцетаксел [7], винкристин [8], оксалиплатин или бортезомиб [9], то доля данного побочного эффекта возрастает до 60%.

Этиология. Наибольшим повреждающим действием на периферическую нервную систему обладают препараты платины, таксаны, эпотилоны, ингибиторы факторов роста, винкалкалоиды, ингибиторы протеасом и иммуномодулирующие агенты. В литературе также описаны случаи развития ПХПН на фоне применения фторурацила [10], гемцитабина, метотрексата, цитозин-арабинозида, ингибиторов топоизомеразы (иринотекан и топотекан) [11]. Химиопрепараты, наиболее часто ассоциируемые с развитием ПХПН, представлены в табл. 1 [1, 2, 12, 13].

Патогенез. На сегодняшний день патогенез ПХПН достоверно неизвестен. В отличие от центральной нервной системы периферические аксоны не защищены гематоэнцефалическим барьером, что позволяет метаболитам цитостатиков путем прямой диффузии про-

Для корреспонденции:

Эль-Хатиб Марьям Аднан Ибрагим, магистрант кафедры госпитальной терапии ДонНМУ им. М. Горького, 83003, Донецк, Украина; E-mail: el-khatib.mariam@yandex.ru.

For correspondence:

Mariam A. El-Khatib, undergraduate of department of hospital therapy M. Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk, 83003, Ukraine. E-mail: el-khatib.mariam@yandex.ru.

Information about authors:

Vatutin M.T., <http://orcid.org/0000-0003-4307-1522>; El-Khatib M.A., <http://orcid.org/0000-0003-3832-8346>.

Таблица 1

Противоопухолевые препараты, потенциально вызывающие развитие постхимиотерапевтической полинейропатии

Группа препарата	Препарат	Показания к применению
Препараты платины	Цисплатин Карбоплатин Оксалиплатин	Лимфосаркома; мелко- и немелкоклеточный рак легких; плоскоклеточный рак различных локализаций (головной мозг, желудок, пищевод, мочевой пузырь, шейка матки); рак яичника; остеогенная саркома
Винкаалкалоиды	Винкристин Винбластин Винорельбин	Острые лейкозы, лимфогранулематоз, неходжкинские лимфомы, множественная миелома, саркома Юинга, остеогенная саркома, саркомы мягких тканей, рак молочной железы, мелкоклеточный рак легких, меланома, рак мочевого пузыря, опухоль Вильямса, нейробластома, рак шейки матки, саркома матки, герминогенные опухоли яичка и яичников
Таксаны	Паклитаксел Доцетаксел Абраксан	Рак молочной железы, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, плоскоклеточный рак головного мозга, аденокарцинома желудка, рак предстательной железы
Ингибиторы протеасом	Бортезомиб	Множественная миелома
Эпотилоны	Иксабепилон Сагопилон	Рак молочной железы
Ингибиторы факторов роста	Сурамин	Рак предстательной железы
Иммуномодулирующие агенты	Талидомид Леналидомид Помалидомид	Множественная миелома

кату в нервные волокна из окружающей интерстициальной жидкости и накапливаться в них, вызывая их повреждение. Вероятнее всего, большинство проявлений полинейропатии является результатом нарушения микротубулярной архитектоники аксонов наряду с прямым повреждением дистальных отделов аксонов (аксонопатия), диффузной или сегментарной демиелинизации нейронов (миелинопатия) или дегенерации их тел (нейронопатия) [14]. Некоторые цитостатики вызывают лишь один вид повреждения периферической нервной системы, в то время как другие могут разрушать периферические нейроны тотально. Применение винкаалкалоидов и эпотилонов приводит к развитию аксонопатий, ингибиторов факторов роста и иммуномодулирующих агентов – нейронопатий, препараты платины могут вызывать как аксоно-, так и нейронопатии, протеасомные ингибиторы – аксоно- и миелинопатии, а таксаны способны приводить к тотальному повреждению нервных волокон [12].

Развитие ПХПН может быть обусловлено непосредственным накоплением химиотерапевтического агента (препараты платины) или гликолипидных включений (ингибиторы факторов роста) в ганглиях дорсальных корешков, что приводит к их дегенерации; снижением кровоснабжения нерва (иммуномодулирующие агенты, ингибиторы факторов роста); повреждением миелиновой оболочки (таксаны, ингибиторы протеасом) и тонкими молекулярными механизмами, которые до конца не выяснены.

Можно выделить несколько молекулярных механизмов, обуславливающих развитие ПХПН, которые не являются взаимоисключающими [11, 12, 14–16]:

- нарушение аксонного транспорта;
- оксидативный стресс;
- индукция апоптоза;
- повреждение ДНК;
- дисфункция потенциалзависимых ионных каналов.

Нарушение аксонного транспорта обусловлено изменением микротубулярной архитектоники аксонов посредством ингибирования (винкаалкалоиды) либо резкого усиления процессов полимеризации (таксаны, эпотилоны и протеасомные ингибиторы) тубулина [11, 17–20] – основного белка микротрубочек, которые участвуют в поддержании цитоскелета и внутриклеточном транспорте веществ. Ингибирование либо усиление полимеризации тубулина приводит к нарушению структуры микротрубочек и как следствие к нарушению процессов быстрого и медленного аксонного транспорта [21, 22], который заключается в перемещении по аксону нервной клетки различного биологического материала – митохондрий, лизосом, нейросекреторных гранул, гликопротеидов, фосфолипидов и некоторых ферментов, необходимых для синтеза нейромедиаторов в окончаниях

аксонов. Таким образом, можно говорить о том, что нарушение аксонного транспорта, вызываемое различными химиотерапевтическими агентами, блокируют нормальную работу клеток.

Оксидативный стресс. Некоторые противоопухолевые агенты (препараты платины и протеасомные ингибиторы) усиливают продукцию молекул, содержащих невосстановленную форму кислорода – активных форм кислорода (АФК) в клетках [15]. Количество АФК превышает возможности антиоксидантной системы, и происходит накопление в клетках АФК, инициирующих их повреждение. Данный процесс получил название оксидативного стресса. Его основу составляет перекисное окисление липидов (ПОЛ), которое приводит к повреждению в первую очередь мембраны нейронов и их внутриклеточных органелл (митохондрий, ядер, лизосом, эндоплазматической сети). Оксидативный стресс запускает определенный метаболический «каскад», представляющий собой ряд взаимосвязанных патологических реакций, необратимо повреждающих клетку [23]. На фоне разворачивающегося окислительного стресса в механизме гибели нейронов при воздействии нейротоксичных агентов начинают играть дополнительную роль митохондриальная дисфункция, избыточный поток ионов кальция внутрь клетки, являющийся результатом гиперстимуляции рецепторов возбуждающим нейромедиатором глутаматом, а также недостаточность факторов роста нервных клеток – нейротрофинов [24]. Итогом всех этих нарушений является запуск апоптоза.

Апоптоз представляет собой генетически запрограммированную гибель нейронов. Индукция апоптоза является патогенетическим механизмом нейротоксичности, характерным для препаратов платины, таксанов, винкаалкалоидов и протеасомных ингибиторов [25]. Существует два пути запуска апоптоза – рецепторный и митохондриальный. Первый путь индуцируется физиологическими факторами – индукторами апоптоза (цитокины, гормоны, пептидные ростовые факторы) и начинается с клеточных рецепторов, специально предназначенных для включения его программы (Fas, TNFR1, DR3, DR4, DR5). Эти рецепторы внеклеточным участком взаимодействуют со специфическими лигандами – индукторами, что приводит к связыванию их внутриклеточных участков с адаптерами – цитоплазматическими белками, которые способствуют соединению рецепторов с неактивными предшественниками протеаз из семейства каспаз, которые затем активируются в результате протеолитического расщепления. Уже активные каспазы в свою очередь воздействуют на митохондрии, что приводит к выходу из них в цитоплазму цитохрома С. Затем осуществляется каскад протеолитических событий, финалом которых является апоптотный «демонтаж» клеток. Митохондриальный путь активации апоптоза индуцируется повреждением ДНК. Он связан с активацией белка p53 и экспрессией генов, кодирующих проапоптотные белки семейства Bcl-2, Вах и Bid. Эти белки, вызывая изменение проницаемости мембраны митохондрий, способствуют выходу цитохрома С [26, 27], что является ключевым звеном в дальнейшей энергозависимых реакциях, приводящих к апоптозу. Препараты платины могут, с одной стороны, непосредственно взаимодействовать с митохондриальной ДНК, приводя к активации p53 и запуску процессов апоптоза, с другой стороны, они способны прямо стимулировать высвобождение цитохрома С из митохондрий, независимо от активации Fas-рецептора [26], что является ключевым моментом в Fas-опосредованном апоптозе.

Непосредственное **повреждение ДНК** нервных клеток заключается в способности химиотерапевтического агента изменять ее третичную структуру, формируя перекрестные сшивки и аддукты, которые способны полностью блокировать репликацию ДНК, что приводит к полному нарушению кинетики клеточного цикла [28]. Данный механизм характерен для нейротоксичности, индуцированной препаратами платины.

Дисфункция потенциалзависимых ионных каналов. Данный патогенетический механизм характерен для ПХПН, индуцированной препаратами платины. Предполагается, что она обусловлена дисфункцией потенциалзависимых Na⁺-каналов аксонов, которая, вероятно, является результатом хелатирующих эффектов оксалатов, распространяющих свое влияние и на Ca²⁺ и Mg²⁺ [29].

Существуют гипотезы и о других патогенетических механизмах, которые нуждаются в дальнейшем изучении. Патогенез ПХПН, индуцированной применением иммуномодулирующих агентов и ингибиторов факторов роста, кардинально отличается от такового, при проведении ХТ препаратами других групп [30]. Предполагается, что нейротоксичность, вызванная иммуномодулирующими агентами, является результатом их антиангиогенных свойств, приводящих к снижению кровоснабжения нерва, либо функциональными и метаболическими изменениями в ганглиях дорсальных корешков. Также считается, что значительную роль в патогенезе может играть нарушение регуляции активности нейротрофинов – регуляторных белков нервной ткани [31]. Полинейропатия, индуцированная ингибиторами факторов роста, вероятнее всего, обусловлена дегенерацией ганглиев дорсальных корешков и накоплением гликолипидных включений [21].

Многие процессы патогенеза ПХПН остаются неясными. В частности, достоверно неизвестно о причинах существования двух клинических форм нейротоксичности, а именно острой и хронической [32]. Предполагается, что острая форма вызвана дисфункцией

Таблица 2

Пороговые дозы препаратов, приводящие к развитию периферической полинейропатии		
Группа препарата	Препарат	Пороговая доза, мг/м ²
Препараты платины	Цисплатин	Более 350
	Оксалиплатин	Более 550
Винкаалкалоиды	Винкрестин	Более 2–6
Таксаны	Паклитаксел	Более 300
	Доцетаксел	Более 100
Иммуномодулирующие агенты	Талидомид	Более 20
Протеасомные ингибиторы	Бортезомиб	Более 16

потенциалзависимых Na⁺-каналов, а в патогенезе хронической формы существенную роль играют морфологические и функциональные изменения клеток ганглиев дорсальных корешков вследствие местного депонирования и накопления химиопрепарата [29].

Клинически ПХПН проявляется комплексом двигательных, чувствительных и вегетативных нарушений, которые в зависимости от характера и глубины поражения соответствующего типа волокон, могут быть негативными (симптомы выпадения) или позитивными (симптомы раздражения). Симптомы могут быть изолированными, однако чаще они находятся в комбинации и имеют различную степень выраженности [14]. Первыми обычно появляются положительные сенсорные симптомы (ощущение жжения и другие парестезии) в области стоп, чаще всего в кончиках пальцев. В дальнейшем присоединяются отрицательные сенсорные симптомы (онемение и снижение чувствительности), которые постепенно распространяются в проксимальном направлении, по мере того как поражаются все более короткие волокна [30]. Нарушения поверхностной чувствительности рук обычно появляются лишь после того, как симптомы в ногах поднимутся до середины голени, что приводит к появлению классических «носков и перчаток». К положительным сенсорным расстройствам относят также боль, дизестезию, гиперестезию, гиперпатию, гипералгезию. Двигательные нарушения при ПХПН обычно представлены вялым тетрапарезом, который первоначально вовлекает мышцы стоп и голени, а затем распространяется в проксимальном направлении. Вегетативная дисфункция при ПХПН может проявиться ортостатической гипотензией, фиксированным пульсом (тахикардией покоя), нарушением потоотделения и зрачковых реакций, нарушением моторики пищеварительного тракта. Однако, как правило, вегетативная дисфункция отходит в клинической картине на второй план [33, 34].

Клинические проявления аксонопатии развиваются спустя несколько недель после начала противоопухолевого лечения и характеризуются постепенным нарастанием симптоматики, преимущественным вовлечением дистальных отделов конечностей, часто расстройствами болевой и температурной чувствительности, вегетативными дисфункциями. Глубокие рефлексы на ранних стадиях могут сохраняться. К характерным признакам относят постепенное, медленно прогрессирующее нарастание симптоматики; симметричное дистальное вовлечение кистей и стоп; симптомы периферической нейро сенсорной дисфункции (парестезии, дизестезии, гипестезии, ухудшение проприоцептивной, вибрационной, температурной, тактильной чувствительности). В далеко зашедших случаях развивается существенное ограничение повседневной активности больного (невозможность письма, ходьбы, пользования клавиатурой, столовыми приборами и др.). Достаточно поздно возникает сопутствующее нарушение двигательной функции (легкая или умеренная мышечная слабость, атрофия мышц) [14].

Среди миелинопатий, ассоциированных с ХТ, выделяется дистальная симметричная сенсорная нейропатия с преимущественным вовлечением нижних конечностей [14]. Для нее характерно раннее выпадение рефлексов вследствие прямого повреждения дорсальных ганглиев, ранняя манифестация (в течение нескольких часов или суток после введения цитостатиков) и мышечная слабость [30]. Полинейропатии, индуцированные конкретным препаратом, в ряде случаев имеют свои особенности. Так, для винкрестинассоциированной полинейропатии характерными являются запоры, приступы эпизодической слабости, нарушения походки, эректильная дисфункция, ортостатическая гипотензия [2], в то время как слабость дистальных мышц конечностей, нейропатическая боль и вегетативные нарушения являются нехарактерными [35]. В клинике полинейропатии, возникшей на фоне терапии препаратами платины, необходимо выделить сенсорную атаксию с нарушением походки, холодиндуцируемую болезненную дизестезию, затруднения при глотании, судороги, фасцикуляции и спазм мышц нижней челюсти [34]. Для осложнений терапии цисплатином характерна ототоксичность, которая возникает у 40–55% больных [36] и проявляется прогрессирующей необратимой потерей слуха в диапазоне высоких частот. Особенностью полинейропатии, индуцированной протеасомными ингибиторами и иммуномодулирующими агентами является нейропатическая боль [34, 37], обусловленная поражением соматосенсорной нервной системы. Боль

Таблица 3

Степень тяжести периферической нейротоксичности по шкале CTC-NCIC		
Степень тяжести полинейропатии	Жалобы	Клинические проявления
0	Отсутствуют	Отсутствуют
1-я	Парестезия (онемение и покалывание в кончиках пальцев, судорожные стягивания)	Снижение сухожильных рефлексов
2-я	Онемение, отечность, слабость в кистях и стопах, тяжелая парестезия	Гипестезия болевой чувствительности по типу «перчаток», «носков» и «гольф», снижение или отсутствие сухожильных и периостальных рефлексов
3-я	Слабость и нарушение функции конечностей, непереносимая парестезия	Отсутствие сухожильных и периостальных рефлексов, гипестезия болевой чувствительности, парез конечностей
4-я	Потеря функции конечности	Паралич

имеет жгучий и стойкий характер. Начинается, как правило, со стоп, затем распространяется в проксимальном направлении. Она может быть спонтанной либо возникать в ответ на различные раздражители, характерна гипералгезия и аллодиния [37].

Степень выраженности ПХПН находится в прямой зависимости от кумулятивной дозы химиопрепарата и применяемой схемы лечения, а одновременная комбинация нескольких нейротоксичных цитостатиков усугубляет ее течение. Пороговые дозы цитостатиков, вызывающие ПХПН, представлены в табл. 2 [1, 27].

Следует отметить, что риск поражения периферической нервной системы повышен у больных с наследственными и приобретенными нейропатиями; страдающих сахарным диабетом; злоупотребляющих алкоголем; имеющих печеночную и/или почечную дисфункцию; ранее получавших какие-либо нейротоксичные препараты (особенно винкаалкалоиды, таксаны, производные платины, метотрексат) [14].

Классификация периферической полинейропатии:

- По форме повреждения нервных волокон:
 1. Аксонопатии. 2. Миелинопатии. 3. Нейронопатии.
- По времени возникновения:
 - ранняя (острая), возникает во время проведения курса химиотерапии;
 - поздняя (хроническая), проявляется после завершения лечения.
- По степени тяжести, согласно шкале CTC-NCIC, версия 3.0:
 - 1-я степень (легкая) – нарушения, не влияющие на качество жизни (например, выпадение сухожильных рефлексов);
 - 2-я степень (умеренная) – объективные неврологические нарушения, ухудшающие функцию конечностей, но не влияющие на ежедневную активность больного;
 - 3-я степень (тяжелая) – тяжелые объективные расстройства, нарушающие функцию конечностей и ежедневную активность пациента.
 - 4-я степень (крайне тяжелая) – полная потеря функции конечности.

Более подробно данная классификация представлена в табл. 3.

Диагностика ПХПН включает в себя оценку общего состояния больного, сбор анамнеза, подробный неврологический осмотр, использование лабораторных и инструментальных методов исследования и в ряде случаев – биопсию нерва [14].

Опрос пациента заключается в тщательном сборе жалоб и анамнеза, информации о предшествующем и текущем медикаментозном лечении, использовании специальных опросников и шкал, основанных на оценке жалоб и объективной неврологической симптоматики. При анализе нарушения двигательных функций используют шкалы оценки степени нарушения двигательной функции верхней и нижней конечности, 6-балльную шкалу оценки мышечной силы. Шкала нейропатического симптоматического счета позволяет оценить выраженность симптомов нейропатии. При наличии болевого синдрома необходимо использовать опросник DN4 и болевую шкалу LANSS для определения наличия нейропатического компонента боли и вовлечения в патологический процесс соматосенсорной нервной системы [37].

Неврологический осмотр пациентов в обязательном порядке должен включать в себя оценку двигательных, вегетативных функций и чувствительности. Оценка двигательных функций заключается в осмотре, пальпации, выявлении атрофии, гипо- или гипертрофии мышц, фибриллярных и фасцикулярных подергиваний; оценке объема активных и пассивных движений, мышечной силы и тонуса, нормальных и патологических рефлексов. Далее проводится оценка глубокой

(мышечно-суставное и вибрационное чувство) и поверхностной (тактильная, температурная, болевая) чувствительности. Вегетативная оценка заключается в исследовании вазомоторных функций (окраска кожи, температура, дермографизм) и проведении ортоклиностагической пробы.

Лабораторные методы позволяют исключить повреждения нервной системы иного генеза. Для исключения различных нервно-мышечных повреждений необходимо исследование концентрации креатинфосфокиназы – индикатора повреждения мышечных волокон. В обязательном порядке необходимо проводить определение концентрации электролитов – для исключения мышечных нарушений вследствие электролитного дисбаланса и глюкозы крови – для исключения диабетической полинейропатии.

К обязательным *инструментальным методам* относят электро-нейромиографическое исследование, позволяющее оценить состояние мышечных волокон и морфофункциональные особенности двигательных единиц, состоящих из мотонейрона, его аксона, нервно-мышечного синапса и группы мышечных волокон, иннервируемых данным мотонейроном, а также определить состояние функций периферических нервов [21, 35].

Биопсия нерва применяется в том случае, когда проведение всех остальных методов исследования, включая электрофизиологическое обследование, не позволяет с уверенностью диагностировать ПХПН [1].

Дифференциальная диагностика. Предполагая у онкологических больных диагноз ПХПН, необходимо учитывать, что его симптомы являются неспецифичными и в значительной мере сходны с признаками иных поражений периферической нервной системы, ассоциированных непосредственно с неопластическим процессом. Поэтому очень важен комплексный диагностический процесс, направленный на наиболее раннее выявление у онкологических больных периферической полинейропатии и проведение детального неврологического их осмотра еще на стадии диагностики основного заболевания. Необходимо и динамический контроль неврологического статуса больного после каждого последующего курса ХТ, а также в случаях появления новых симптомов, указывающих на возможное развитие ПХПН. Своевременное выявление неврологической симптоматики позволяет устанавливать четкую временную связь между началом ХТ и появлением первых симптомов полинейропатии [13].

Онкологические заболевания часто осложняются паранеопластическими полинейропатиями, обусловленными иммунологическими процессами. Как правило, паранеопластическая полинейропатия проявляется как подострая сенсорная нейропатия с превалированием сенсорной атаксии и боли, ассоциирована с анти-Ну антителами и встречается у больных мелкоклеточным раком легких и болезнью Ходжкина [27]. Следует отметить, что для паранеопластических полинейропатий характерны потеря проприоцептивной чувствительности в проксимальных отделах конечностей и быстрая инвалидизация больного, что нехарактерно для ПХПН. У больных парапротеинемическими гемобластозами полинейропатии могут не только возникать в процессе лечения в ответ на введение химиотерапевтических препаратов, но и являться сопутствующим синдромом, патогенетически обусловленным отложением фрагментов моноклональных легких цепей в периваскулярных пространствах эпинеурии или эндоперинеурии, способностью секретлируемых иммуноглобулинов взаимодействовать с гликопротеидным, гликолипидным или сульфатидным компонентами миелина и откладываться на поверхности миелиновой оболочки, вызывая повреждение нервных волокон, либо инфильтрацию нервов миелиновыми клетками [26, 38]. Парапротеинассоциированная периферическая нейропатия развивается по аксонально-демиелинизирующему типу, носит дистальный симметричный сенсоромоторный характер с преобладанием на ранних стадиях сенсорного, а на поздних – моторного компонента, сопровождается грубыми изменениями глубокой чувствительности, нейропатической болью и стойкостью своих проявлений.

Лечение ПХПН предусматривает купирование симптомов и предотвращение ее прогрессирования с помощью фармакологических и нефармакологических методов. Проводя терапию неврологических проявлений периферической токсичности, необходимо также учитывать, что после завершения ХТ они часто спонтанно регрессируют, а их коррекцию начинают при 2-й степени тяжести, реже, при ухудшении качества жизни больного, 1-й степени тяжести [14].

Медикаментозная терапия ПХПН включает в себя антидепрессанты, противоэпилептические средства, нестероидные противовоспалительные препараты и опиаты [13].

Антидепрессанты. Единственным препаратом, рекомендуемым Американским обществом клинических онкологов для лечения ПХПН является дулоксетин – антидепрессант из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина и норадреналина [16]. На фоне его приема (30–60 мг/сут) наблюдается значительное снижение интенсивности болевого синдрома, регрессирование симптомов гипестезии и парестезии особенно у лиц с ПХПН, вызванной приемом оксалиплатина [39].

Противоэпилептические препараты уменьшают импульсную активность мембран аксонов, снижают выраженность сенсорной

симптоматики, улучшают функцию нерва и уменьшают выраженность апногеза. При терапии ПХПН используют карбамазепин, фенитоин, клоназепам, габапентин и другие. Особое место среди них занимает габапентин, который показал свою эффективность в терапии нейропатической боли [39].

Нестероидные противовоспалительные препараты используют короткими курсами, так как их эффективность в терапии ПХПН низка, а риск серьезных побочных эффектов при длительном применении весьма высок [40].

Опиаты. Антагонисты μ -рецепторов (морфин, оксикодон и фентанил) обычно используют в качестве стартовой терапии для терапии болевого синдрома при ПХПН. В случаях более интенсивного болевого синдрома рекомендованы к использованию антагонисты NMDA – рецепторов (метадон) [39].

Немедикаментозные методы

Редукция дозы химиопрепарата даже при тяжелой ПХПН может дать отчетливый терапевтический эффект без существенного снижения качества лечения основной патологии. В частности, в Российских национальных клинических рекомендациях по диагностике и лечению множественной миеломы (2014) предусмотрена коррекция дозы бортезомиба при развитии нейропатической боли, периферической сенсорной или моторной нейропатии [41].

Иглоукальвание. Имеются данные об эффективности данного метода даже при тяжелой форме ПХПН, хотя исследования в этом направлении продолжаются [42].

Чрескожная электростимуляция нервов также может быть полезна в лечении болевого синдрома, связанного с ПХПН, однако достоверных данных об эффективности данного метода пока нет [13].

Профилактика ПХПН пока не разработана, хотя в этом направлении ведутся исследования.

Противоэпилептические препараты. Одной из причин полинейропатии, вызванной применением препаратов платины, предположительно может являться дисфункция потенциалзависимых Na^+ -каналов аксонов. Так как противоэпилептические препараты, в частности окскарбазепин, ингибируют активность этих каналов, были предприняты попытки его применения в качестве средства, предотвращающего развитие полинейропатии [43].

Целочелюстной рекомбинантный интерлейкин. Существует предположение, что цитокины могут играть существенную роль в повреждении периферической нервной системы. В связи с этим ведутся клинические исследования по использованию интерлейкина-6 в профилактике полинейропатии, вызванной приемом винкристина, паклитаксела и цисплатина [44].

Ацетилкарнитин – относительно новая форма L-карнитина, к которой добавлена ацетильная группа. Предполагается, что он способствует регенерации поврежденных нервных волокон и замедлению проведения болевых импульсов по волокнам типа А и С. Исследуется в плане профилактики ПХПН при терапии паклитакселом и цисплатином [13].

Глутамин. Существуют данные, что замещения аминокислота, ингибируя окислительный стресс и влияя на выработку фактора роста нервов [45], может играть положительную роль в профилактике полинейропатии. Клинические испытания показали эффективность глутамин в качестве превентивной меры при терапии паклитакселом, однако опасения, касающиеся возможного снижения эффективности противоопухолевых препаратов при его применении, пока не позволяют внедрить данный метод в клиническую практику [46].

Глутатион – линейный трипептид с сульфгидрильной группой, в состав которого входят L-глутамин, L-цистеин и глицин, обладающие антиоксидантными свойствами. В рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании показал эффективность в профилактике полинейропатии. Однако есть предположение о вероятном снижении глутатионом противоопухолевой активности некоторых противоопухолевых средств, в частности цисплатина [13], что требует проведения дальнейших исследований.

Витамин Е. Предполагается, что проявления полинейропатии, такие как гипорефлексия и потеря чувствительности, парестезии, связаны с дефицитом витамина Е. Отмечено, что терапия цисплатином значительно снижает концентрацию витамина Е, что, вероятнее всего, может являться одной из причин ПХПН [47]. Это подтвердилось в двух рандомизированных исследованиях, где назначение витамина Е больным, получавшим полихимиотерапию, включающую цисплатин и паклитаксел, заметно снижало частоту развития периферической полинейропатии [48]. В настоящее время планируется проведение еще одного подобного исследования.

Ионы кальция и магния. Имеются сообщения о положительном эффекте применения средств, содержащих ионы кальция и магния в предупреждении повреждения периферической нервной системы при терапии препаратами платины. Однако имеются данные, что ионы металлов могут способствовать прогрессированию неопластического процесса.

Таким образом, ПХПН представляет собой важную проблему, затрагивающую многие аспекты онкологии, гематологии и неврологии. Несмотря на определенные достижения, остается много нерешенных вопросов, касающихся ее диагностики, профилактики и лечения.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

14. Семенова А.И. Кардио- и нейротоксичность противоопухолевых препаратов (патогенез, клиника, профилактика, лечение). *Практическая онкология*. 2009; 10(3): 168–76.
37. Данилов А.Б. Нейропатическая боль. *Клиническая геронтология*. 2007; 13(2): 27–36.
40. Менделеева Л.П., Вотякова О.М., Покровская О.С., Рехтина И.Г., Бессмельцев С.С., Голубева М.Е. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению множественной миеломы. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 1(прил. 3): 1–24.

REFERENCES

1. Cavaletti G., Marmiroli P. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity. *Nat. Rev. Neurol.* 2010; 6(12): 657–66. doi: 10.1038/nrneuro.2010.160.
2. Bhagra A., Rao R.D. Chemotherapy-induced neuropathy. *Curr. Oncol. Rep.* 2007; 9(4): 290–9.
3. Cavaletti G., Bogliun G., Marzorati L., Zincone A., Piatti M., Colombo N., et al. Early predictors of peripheral neurotoxicity in cisplatin and paclitaxel combination chemotherapy. *Ann. Oncol.* 2004; 15(9):1439–42.
4. Chaudhry V., Rowinsky E.K., Sartorius S.E., Donehower R.C., Cornblath D.R. Peripheral neuropathy from taxol and cisplatin combination chemotherapy: clinical and electrophysiological studies. *Ann. Neurol.* 1994; 35(3): 304–11.
5. von Schlippe M., Fowler C.J., Harland S.J. Cisplatin neurotoxicity in the treatment of metastatic germ cell tumor: time course and prognosis. *Br. J. Cancer.* 2001; 85(6): 823–6.
6. Sparano J.A., Wang M., Martino S., Jones V., Perez E.A., Saphner T., et al. Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358(16): 1663–71.
7. Pronk L.C., Hilken P.H., van den Bent M.J., van Putten W.L., Stoter G., Verweij J. Corticosteroid co-medication does not reduce the incidence and severity of neurotoxicity induced by docetaxel. *Anticancer Drugs.* 1998; 9(9): 759–64.
8. Sarris A.H., Hagemeister F., Romaguera J., Rodriguez M.A., McLaughlin P., Tsimberidou A.M., et al. Liposomal vincristine in relapsed non-Hodgkin's lymphomas: early results of an ongoing phase II trial. *Ann. Oncol.* 2000; 11(1): 69–72.
9. Kelly H., Goldberg R.M. Systemic therapy for metastatic colorectal cancer: current options, current evidence. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(20): 4553–60.
10. Stein M.E., Drumea K., Yarnitsky D., Benny A., Tzuk-Shina T. A rare event of 5-fluorouracil-associated peripheral neuropathy: a report of two patients. *Am. J. Clin. Oncol.* 1998; 21(3): 248–9.
11. LaPointe N.E., Morfini G., Brady S.T., Feinstein S.C., Wilson L., Jordan M.A. Effects of eribulin, vincristine, paclitaxel and ixabepilone on fast axonal transport and kinesin-1 driven microtubule gliding: implications for chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Neurotoxicology.* 2013; 37(1): 231–9.
12. Lee J.J., Swain S.M. Peripheral neuropathy induced by microtubule-stabilizing agents. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24(10): 1633–42.
13. Wolf S., Barton D., Kottschade L., Grothey A., Loprinzi C. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: prevention and treatment strategies. *Eur. J. Cancer.* 2008; 44(11): 1507–15.
14. Semenova A.I. Cardio- and neurotoxicity of antitumoral drugs (pathogenesis, clinic, prevention, treatment). *Practical oncology. Russian journal (Prakticheskaya onkologiya)*. 2009; 10(3): 168–76. (in Russian)
15. Krarup-Hansen A., Rietz B., Krarup C., Heydorn K., Rorth M., Schmalbruch H. Histology and platinum content of sensory ganglia and sural nerves in patients treated with cisplatin and carboplatin: an autopsy study. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1999; 25(1): 29–40.
16. Smith E.M., Pang H., Cirincione C., Fleishman S., Paskett E.D., Ahles T., et al.; Alliance for Clinical Trials in Oncology. Effect of duloxetine on pain, function, and quality of life among patients with chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2013; 309(13): 1359–67. doi: 10.1001/jama.2013.2813.
17. Chaudhry V., Cornblath D.R., Polydefkis M., Ferguson A., Borrello I. Characteristics of bortezomib- and thalidomide-induced peripheral neuropathy. *J. Peripher. Nerv. Syst.* 2008; 13(4): 275–82.
18. Nakata T., Yorifuji H. Morphological evidence of the inhibitory effect of taxol on the fast axonal transport. *Neurosci. Res.* 1999; 35(2): 113–22.
19. Theiss C., Meller K. Taxol impairs anterograde axonal transport of microinjected horseradish peroxidase in dorsal root ganglia neurons in vitro. *Cell Tissue Res.* 2000; 299(2): 213–24.
20. Argyriou A.A., Koltzenburg M., Polychronopoulos P., Papapetropoulos S., Kalofonos H.P. Peripheral nerve damage associated with administration of taxanes in patients with cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2008; 66(3): 218–28.
21. Park S.B., Krishnan A.V., Lin C.S., Goldstein D., Friedlander M., Kiernan M.C. Mechanisms underlying chemotherapy-induced neurotoxicity and the potential for neuroprotective strategies. *Curr. Med. Chem.* 2008; 15(29): 3081–94.
22. Staff N.P., Podratz J.L., Grassner L., Bader M., Paz J., Knight A.M., et al. Bortezomib alters microtubule polymerization and axonal transport in rat dorsal root ganglion neurons. *Neurotoxicology.* 2013; 39(1): 124–31. doi: 10.1016/j.neuro.2013.09.001.
23. Ta L.E., Espeset L., Podratz J., Windebank A.J. Neurotoxicity of oxaliplatin and cisplatin for dorsal root ganglion neurons correlates with platinum-DNA binding. *Neurotoxicology.* 2006; 27(6): 992–1002.
24. Gill J.S., Windebank A.J. Cisplatin-induced apoptosis in rat dorsal root ganglion neurons is associated with attempted entry into the cell cycle. *J. Clin. Invest.* 1998; 101(12): 2842–50.
25. Pan Y.A., Misgeld T., Lichtman J.W., Sanes J.R. Effects of neurotoxic and neuroprotective agents on peripheral nerve regeneration assayed by time-lapse imaging in vivo. *J. Neurosci.* 2003; 23(36): 11479–88.
26. McDonald E.S., Windebank A.J. Cisplatin-induced apoptosis of DRG neurons involves bax redistribution and cytochrome c release but not fas receptor signalling. *Neurobiol. Dis.* 2002; 9(2): 220–33.
27. Argyriou A.A., Bruna J., Marmiroli P., Cavaletti G. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): an update. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2012; 82(1): 51–77.
28. McDonald E.S., Randon K.R., Knight A., Windebank A.J. Cisplatin preferentially binds to DNA in dorsal root ganglion neurons in vitro and in vivo: a potential mechanism for neurotoxicity. *Neurobiol. Dis.* 2005; 18(2): 305–13.
29. Argyriou A.A., Polychronopoulos P., Iconomou G., Chroni E., Kalofonos H.P. A review on oxaliplatin-induced peripheral nerve damage. *Cancer Treat. Rev.* 2008; 34(4): 368–77.
30. Park S., Goldstein D., Krishnan A., Lin C.S., Friedlander M.L., Cassidy J., et al. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: a critical analysis. *CA Cancer J. Clin.* 2013; 63(6): 419–37. doi: 10.3322/caac.21204.
31. Russell J.W., Windebank A.J., Podratz J.L. Role of nerve growth factor in suramin neurotoxicity studied in vitro. *Ann. Neurol.* 1994; 36(2): 221–8.
32. Cavaletti G., Cornblath D.R., Merkies I.S., Postma T.J., Rossi E., Frigeni B., et al.; CI-PeriNomS Group. The chemotherapy-induced peripheral neuropathy outcome measures standardization study: from consensus to the first validity and reliability findings. *Ann. Oncol.* 2013; 24(2): 454–62. doi: 10.1093/annonc/mds329.
33. Cavaletti G., Beronio A., Reni L., Ghiglione E., Schenone A., Briani C., et al. Thalidomide sensory neurotoxicity: a clinical and neurophysiologic study. *Neurology.* 2004; 62(12): 2291–3.
34. Kannarkat G., Lasher E.E., Schiff D. Neurologic complications of chemotherapy agents. *Curr. Opin. Neurol.* 2007; 20(6): 719–25.
35. Pal P.K. Clinical and electrophysiological studies in vincristine induced neuropathy. *Electromyogr. Clin. Neurophysiol.* 1999; 39(6): 323–30.
36. Gregg R.W., Molepo J.M., Monpetit V.J., Mikael N.Z., Redmond D., Gadia M., Stewart D.J. Cisplatin neurotoxicity: the relationship between dosage, time, and platinum concentration in neurologic tissues, and morphologic evidence of toxicity. *J. Clin. Oncol.* 1992; 10(5): 795–803.
37. Danilov A.B. Neuropathic pain. *Clinical gerontology. Russian journal (Klinicheskaya gerontologiya)*. 2007; 13(2): 27–36. (in Russian)
38. Dunlap B., Paice J.A. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: a need for standardization in measurement. *J. Support. Oncol.* 2006; 4(8): 389–99.
39. Cavaletti G., Zanna C. Current status and future prospects for the treatment of chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity. *Eur. J. Cancer.* 2002; 38(14): 1832–37.
40. Sioka C., Kyritsis A.P. Central and peripheral nervous system toxicity of common chemotherapeutic agents. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2009; 63(5): 761–7.
41. Mendeleeva L.P., Votyakova O.M., Pokrovskaya O.S., Rekhina I.G., Bessmeltsev S.S., Golubeva M.E., et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of multiple myeloma. *Hematology and transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2014; 1(Suppl. 3): 1–24. (in Russian)
42. Schroeder S., Meyer-Hamme G., Epplee S. Acupuncture for chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN): a pilot study using neurography. *Acupunct. Med.* 2012; 30(1): 4–7.
43. Argyriou A.A., Chroni E., Polychronopoulos P., Iconomou G., Koutras A., Makatsoris T., et al. Efficacy of oxcarbazepine for prophylaxis against cumulative oxaliplatin-induced neuropathy. *Neurology.* 2006; 67(12): 2253–5.
44. Callizot N., Andriambeloso E., Glass J., Revel M., Ferro P., Cirillo R., et al. Interleukin-6 protects against paclitaxel, cisplatin and vincristine-induced neuropathies without impairing chemotherapeutic activity. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2008; 62(6): 995–1007.
45. Savarese D.M., Savy G., Vahdat L., Wischmeyer P.E., Corey B. Prevention of chemotherapy and radiation toxicity with glutamine. *Cancer Treat. Rev.* 2003; 29(6): 501–13.
46. Vahdat L., Papadopoulos K., Lange D. Reduction of paclitaxel induced peripheral neuropathy with glutamine. *Clin. Cancer Res.* 2001; 7(5): 1192–7.
47. Pace A., Savarese A., Picardo M., Maresca V., Pacetti U., Del Monte G., et al. Neuroprotective effect of vitamin E supplementation in patients treated with cisplatin chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21(5): 927–31.
48. Argyriou A.A., Chroni E., Koutras A., Ellul J., Papapetropoulos S., Katsoulas G., et al. Vitamin E for prophylaxis against chemotherapy-induced neuropathy: a randomized controlled trial. *Neurology.* 2005; 64(1): 26–31.

Поступила 10.03.16

Принята к печати 10.05.16

Будневский А.В., Овсянников Е.С., Жусина Ю.Г.

**НОВЫЕ КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ ЛЕЙКЕМИЧЕСКОГО СИСТЕМОГО
МАСТОЦИТОЗА И МИЕЛОМАСТОЦИТОЗНОЙ ЛЕЙКЕМИИ**ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России,
394000, г. Воронеж, Россия

Лейкоз из тучных клеток – лейкоэмический системный мастоцитоз как проявление системного мастоцитоза характеризуется пролиферацией и накоплением незрелых тучных клеток в костном мозге и других внутренних органах. Наибольшие трудности существуют в дифференциальной диагностике лейкоэмического системного мастоцитоза и миеломастоцитарного лейкоза. Несмотря на имеющиеся в обоих случаях опубликованные критерии диагностики, некоторые вопросы терминологии остаются открытыми. Данная проблема обсуждалась консенсус-группой по мастоцитозу в 2011 и 2013 гг. (EU/US-consensus group and the European Competence Network on Mastocytosis – ECNM). Диагноз миеломастоцитарного лейкоза как миелоидной опухоли с большим числом тучных клеток было предложено считать правомочным при отсутствии критериев, необходимых для диагностики мастоцитоза. Кроме того, было рекомендовано на основании наличия или отсутствия кожных проявлений разделить лейкоэмический системный мастоцитоз на острый и хронический. Первичную форму тучноклеточного лейкоза нужно дифференцировать с вторичной, которая, как правило, развивается на фоне установленного агрессивного системного мастоцитоза или саркомы тучных клеток. Подчеркнута неизбежность стадии предлейкоза для лейкоэмического системного мастоцитоза, который часто дебютирует в виде агрессивного системного мастоцитоза с быстрым прогрессированием и появлением от 5 до 19% тучных клеток в мазках костного мозга. Подобное состояние рекомендовано называть агрессивным системным мастоцитозом с трансформацией в лейкоз из тучных клеток. Расширение текущей классификации ВОЗ путем включения в нее различных вариантов тучноклеточного лейкоза позволит оптимизировать отбор пациентов для клинических испытаний.

К л ю ч е в ы е с л о в а : мастоцитоз; тучные клетки; лейкоэмия; триптаза.

Для цитирования: Будневский А.В., Овсянников Е.С., Жусина Ю.Г. Новые критерии диагностики лейкоэмического системного мастоцитоза и миеломастоцитарной лейкоэмии. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(2): 110-112. DOI:10.18821/0234-5730-2016-61-2-110-112

Budnevskiy A.V., Ovsyannikov E.S., Zhulina Yu.G.

**NEW DIAGNOSTIC CRITERIA OF LEUKEMIC SYSTEMIC MASTOCYTOSIS
AND MYELOMASTOCYTIC LEUKEMIA**

Voronezh State Medical University n.a. N.N. Burdenko, Voronezh, 394000, Russian Federation

Mast cell leukemia is characterized by proliferation and accumulation of immature mast cells in the bone marrow and other organs. The difficulties exist in the differential diagnosis of leukemic systemic mastocytosis and myelomastocytic leukemia. Although in both cases diagnostic criteria are reported, some questions about the terms remain to be open. This problem was discussed by the EU/US-consensus group and the European Competence Network on Mastocytosis (ECNM) in 2011–2013. The diagnosis of myelomastocytic leukemia as myeloid tumor with a large number of mast cells was proposed as eligible in the absence of diagnostic criteria of mastocytosis. It was also recommended to divide leukemic systemic mastocytosis into acute and chronic forms based on the presence or absence of cutaneous manifestations. The primary form of the mast cell leukemia must be differentiated from the secondary, which usually develops in the set of aggressive systemic mastocytosis and mast cell sarcoma. The authors put emphasis on the inevitability of the prephase or leukemic systemic mastocytosis, which is often debut as aggressive systemic mastocytosis with rapid progression and the appearance of from 5 to 19% of mast cells in bone marrow smears. This condition is recommended to call the aggressive systemic mastocytosis in conversion to mast cells leukemia. The expansion of the current WHO classification by incorporating different variants of mast cell leukemia, will optimize the selection of patients for clinical trials.

К е y w o r d s : mastocytosis; mast cells; leukemia; tryptase.

For citation: Budnevskiy A.V., Ovsyannikov E.S., Zhulina Yu.G. New diagnostic criteria of leukemic systemic mastocytosis and myelomastocytic leukemia. *Hematology and Transfusion. Russian journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2016; 61(2): 110-112. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-110-112

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

Funding. The study had no sponsorship.

Received 08 Nov 2015

Accepted 10 May 2016

Мастоцитоз представляет собой группу заболеваний, характеризующихся пролиферацией и накоплением тучных клеток (ТК) в тканях [1–5]. В России на 1000 пациентов приходится 0,12–1 случай мастоцитоза [1]. Общепринята следующая классификация системного мастоцитоза (СМ) [3, 4]:

- вялотекущий (индолентный);
- системный мастоцитоз, ассоциированный с клональными

Для корреспонденции:

Овсянников Евгений Сергеевич, кандидат мед. наук, доцент кафедры факультетской терапии ГБОУ ВПО Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, 394000, г. Воронеж, Россия. E-mail: ovses@yandex.ru.

For correspondence:

Ovsyannikov Evgeny I., MD, PhD, associate professor of the Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, 394000, Russian Federation. E-mail: ovses@yandex.ru.

Information about authors:

Budnevskiy A.V., <http://orcid.org/0000-0002-1171-2746>; Ovsyannikov E.S., <http://orcid.org/0000-0002-8545-6255>; Zhulina Yu. G., <http://orcid.org/0000-0002-6809-9743>.

гематологическими заболеваниями из клеток с неутонченной дифференцировкой, SM-AHNMD (systemic mastocytosis – associated clonal haematological non-mast cell lineage disease).

- агрессивный;
- лейкоз из тучных клеток.

Лейкоз из тучных клеток (ЛТК) характеризуется чрезмерной пролиферацией ТК в костном мозге и других внутренних органах [1–7]. У большинства пациентов с циркулирующими ТК выявляется основной диагностический критерий СМ – наличие в мазках костного мозга не менее 20% ТК с наличием многодолевых ядер. Обычно клиническая картина отражает инфильтрацию ТК органов и тканей, а также медиаторзависимые симптомы. Часто обнаруживается спленомегалия, которая со временем прогрессирует. В большинстве случаев ЛТК кожные поражения, характерные для СМ, не обнаруживаются, тем не менее, у некоторых больных могут наблюдаться медиаторзависимые высыпания, такие как крапивница. У большинства больных заметно повышена концентрация триптазы в сыворотке крови (выше 200 нг/мл). Миеломастоцитарный лейкоз (ММЛ) – термин, применяемый к миелолипролиферативным заболеваниям, при которых имеется заметная пролиферация ТК, однако критерии,

Таблица 1

Фенотипирование тучных клеток при различных вариантах системного мастоцитоза и миеломастоцитозной лейкемии

Маркер	Нормальный костный мозг	ИСМ	АСМ	ЛТК	ММЛ
CD34/HPCA-1	-	-	-	-	-
CD117/KIT	+	+	+	+	+
Триптаза	+	+	+	+	+
CD33/Siglec-3	+	+	+	+	+
CD123/IL-3RA	-	-	+/-	+/-	-
CD2/LFA-2	-	+/-	+/-	+/-	-
CD25/IL-2RA	-	+	+	+	-
CD30/Ki-1	-	+/-	+	+	Нет данных
FcεRI	+	+	+	+/-	-

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: ИСМ – индолентный системный мастоцитоз; АСМ – агрессивный системный мастоцитоз; ЛТК – лейкоз из тучных клеток; ММЛ – миеломастоцитозная лейкемия.

необходимые для диагностики СМ, отсутствуют [8, 9]. Согласно определению, при ММЛ на долю ТК приходится не менее 10% от всех ядерных клеток в мазках костного мозга или периферической крови, возможен предшествующий миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз или Ph⁺ хронический миелолейкоз, бластная фаза, мутация KIT (codon 816) не обнаруживается [8–10]. У больных ММЛ также наблюдается спленомегалия, в то время как кожные проявления отсутствуют [8–11]. Кроме того, часто наблюдаются медиатор-зависимые реакции (включая ангионевротический отек, астмаподобные симптомы и др.) и склонность к кровотечениям, обусловленная ассоциированной эссенциальной тромбоцитопенией [11]. Содержание сывороточной триптазы при ММЛ также повышено, но, как правило, не превышает 100 нг/мл (чаще всего менее 50 нг/мл).

У больных другими миелоидными новообразованиями ТК также могут присутствовать среди опухолевых клеток, однако в количестве менее 10% и не соответствовать критериям ММЛ.

Гистологическое исследование костного мозга и иммунофенотипирование

Гистологическое и иммуногистохимическое исследования костного мозга остаются важными методами диагностики СМ, в том числе ЛТК [2–5, 12–15]. При анализе мазка определяют наличие, количество и морфологию ТК. Взятие материала должно осуществляться на достаточном расстоянии от любых крупных клеточных агрегатов в костном мозге [16, 17]. При исследовании трепанобиоптата костного мозга выраженная смешанная (диффузная и очаговая) инфильтрация костного мозга незрелыми ТК является главным гистологическим признаком ЛТК [2–5, 13–15]. При ММЛ ТК чаще всего свободно расположены в костном мозге, образуют диффузно-интерстициальные пролифераты и не группируются в более крупные агрегаты. У некоторых больных ЛТК может встречаться диффузный характер инфильтрации, однако всегда будут присутствовать и другие критерии установления диагноза СМ [13–15, 18, 19].

Существует определенное количество маркеров, предложенных в качестве стандарта иммуногистохимической оценки костного мозга у больных с подозрением на ЛТК и ММЛ (табл. 1). Стандартный набор включает в себя определение CD34-антигена, CD117 (KIT), триптазы, CD25, CD30, мегакариоцитарных маркеров CD42 или CD61, В-клеточных (CD19, CD20) и Т-клеточных маркеров (CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8) [2–5, 13–15, 17, 20]. Опухолевые ТК при ЛТК, как правило, имеют мутацию протоонкогена KIT, высокое содержание триптазы и FcεRI (высокоаффинные рецепторы к IgE), экспрессируют на своей поверхности CD25- и CD30-антигены. При ММЛ также имеется KIT-мутация и повышение уровня триптазы, однако экспрессия CD25-антигена отсутствует [9, 11, 21]. При исследовании CD2-антигенов и химазы могут быть как положительные, так и отрицательные результаты в обоих случаях, поэтому исследование этих маркеров не рекомендуется в повседневной практике [22, 23]. Незначительная экспрессия антигена CD30 может наблюдаться при индолентном системном мастоцитозе и вовсе отсутствовать при ЛТК, что составляет определенные трудности в использовании этого маркера [24–26]. Такие антигены, как CD52, HLA-DR и CD123, могут ярко проявляться при агрессивном СМ и ЛТК, однако достоверных данных, подтверждающих возможность использования их в диагностике, не выявлено. Маркер клеточной пролиферации Ki-67 обычно не обнаруживают в опухолевых клетках при СМ, однако у пациентов с быстро прогрессирующим заболеванием количество ТК с экспрессией Ki-67 заметно увеличивается [27].

Таблица 2

Цитоморфологические критерии тучных клеток в мазках костного мозга при миеломастоцитозной лейкемии и различных вариантах системного мастоцитоза

Подтип тучных клеток	ММЛ	Острый ЛТК	Хронический ЛТК	АСМ	ИСМ
Типичные тучные клетки	-	-	+/-	-	+/-
Атипичные, тип I	-	-	+/-	+/-	+
Атипичные, тип II	+	+	+/-	+/-	+/-
Метахроматические бластные клетки	+	+	+/-	+/-	-

Морфологические этапы дифференцировки тучных клеток

Общепринятая классификация опухолевых ТК основывается на различных морфологических этапах их созревания [16]. Оценивая мазки костного мозга больных СМ, были выделены следующие подтипы ТК: 1) типичные ТК с округлым центрально расположенным ядром, 2) атипичные ТК типа I – веретенообразные клетки, часто с гипогрануляцией цитоплазмы и овальным ядром, 3) атипичные ТК типа II – промастоциты, незрелые клетки с двух- и многосегментными ядрами, 4) метахроматические бластные клетки – миелобластные клетки с малым количеством гранул (табл. 2). Необходимо определять число ТК в препарате, так как для определения степени созревания должны учитываться по крайней мере 200–400 клеток [16, 17]. Проточную цитометрию также можно использовать для дифференцировки подтипов ТК, определения их числа и процентного соотношения [28].

Классификация и прогноз лейкоемического системного мастоцитоза

В соответствии с классификацией ВОЗ [3, 4], ЛТК существует в двух вариантах: «лейкемический» (более 10% циркулирующих тучных клеток) и «алейкемический» (менее 10% циркулирующих тучных клеток). В обоих случаях болезни прогноз неблагоприятный. Даже незначительное увеличение числа ТК (более 5%) может усугубить прогноз в большей мере, чем у больных с меньшим содержанием опухолевых клеток в мазках. В этих случаях (5–19% тучных клеток) больные, как правило, страдают от АСМ с быстрым прогрессированием до ЛТК в относительно короткое время (обычно в течение нескольких месяцев). Поэтому консенсус-группой по мастоцитозу предложено таких больных выделять в особую категорию АСМ, а именно АСМ с трансформацией в ЛТК (АСМ-т) [7, 27]. Из этого следует, что ЛТК может развиваться первично, *de novo*, и в качестве вторичного лейкоза, вследствие саркомы ТК и АСМ. Кроме того, предложено дифференцировать хронический ЛТК без кожных проявлений и острый ЛТК с кожными проявлениями (табл. 3). Быстрая прогрессия ЛТК свидетельствует о высокой скорости пролиферации (более 50% Ki-67-положительных ТК), в то время как медленно прогрессирующий (хронический) тип ЛТК характеризуется низкой скоростью пролиферации (индекс пролиферативно активных Ki-67 менее 10%). В окончательный вариант диагноза должны быть внесены один, два или три отличительных критерия, зависящих от клинической ситуации и лабораторных данных. Например, диагноз может звучать следующим образом: вторичный острый «алейкемический» ЛТК; первичный хронический ЛТК.

Классификация и прогноз миеломастоцитозной лейкемии

ММЛ должен быть дифференцирован от любого вида СМ, в том числе и ЛТК. Предшествующая ММЛ клональная миелоидная

Таблица 3

Дифференциальные признаки различных видов лейкоемического системного мастоцитоза

Вид лейкоемического системного мастоцитоза	Отличительный признак
«Лейкемический»	По меньшей мере 10% циркулирующих тучных клеток
«Алейкемический»	Менее 10% циркулирующих тучных клеток
Острый	Кожные проявления, преимущественно незрелые тучные клетки
Хронический	Кожные проявления обычно отсутствуют, преобладают зрелые тучные клетки
Первичный	Нет предшествующего СМ или другого миелоидного новообразования
Вторичный	Трансформация из СМ (обычно АСМ) или саркома тучных клеток

пролиферация служит основным диагностическим критерием. Таким образом, ММЛ можно разделить на различные подтипы, основываясь на варианте миелоидного новообразования. Более того, дифференциация на «алейкемический» и «лейкемический» варианты может быть применима и в отношении ММЛ, хотя клиническое значение этих подтипов неизвестно. Поэтому в случае повышения количества ТК от 5 до 9% прогноз заболевания остается неясным. После тщательного обсуждения в ходе нескольких встреч ЕСНМ-группа пришла к выводу, что определять это состояние термином миеломастоцитоз или миеломастоцитозная трансформация слишком рано. На данный момент предложен термин вторичное клональное увеличение незрелых атипичных ТК (метахроматических клеток), не отвечающее критериям СМ. Известные критерии положительного ответа на лечение ЛТК также могут быть применимы к ММЛ, однако это требует уточнения [6, 17, 29]. Концентрация сывороточной триптазы остается ключевым параметром в оценке ответа на терапию.

Особенности стадии предлейкоза

В ранней диагностике состояний предлейкоза важно контролировать специфические параметры, особенно если есть сомнение в плане дифференциальной диагностики развивающегося АСМ-т и ММЛ. У таких больных необходимо определять концентрацию сывороточной триптазы в короткие временные промежутки с целью зафиксировать трансформацию предлейкоза в ЛТК и разграничить острое и хроническое течение заболевания. Стандартный тест для определения концентрации триптазы максимально показывает увеличение фермента до 200 нг/мл. У больных ЛТК, как правило, наблюдаются более высокие значения. Поэтому для точного измерения необходимо особое разделение образцов сыворотки крови. Быстрое увеличение содержания триптазы (например, на 100 нг/мл в течение нескольких недель) свидетельствует об остром ЛТК. Появление или прогрессирование кожных симптомов также говорит об остром течении ЛТК.

Таким образом, с учетом относительной редкости заболеваний и сложности диагностики, установление и разграничение диагнозов ЛТК и ММЛ являются актуальной проблемой клинической гематологии. И хотя диагностические критерии давно определены, остаются открытыми некоторые вопросы, касающиеся вариантов заболеваний и дифференциальной диагностики. Эти вопросы обсуждались консенсус-группой ЕСНМ. Предложенные уточнения и обновления классификаций должны помочь в установлении правильного диагноза.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меликян А.Л., Суборцева И.Н., Горячева С.Р., Колошейнова Т.И., Вахрушева М.В., Ковригина А.М. и др. Мастоцитоз (обзор литературы и описание клинических случаев). *Терапевтический архив*. 2014; 12: 127–34.
12. Халиулин Ю.Г. Мастоцитоз: клинические проявления, методы диагностики и тактика ведения пациентов. *Лечащий врач*. 2012; 8: 83–9.

Остальные источники литературы см. в References

REFERENCES

1. Melikyan A.L., Subortseva I.N., Goryacheva S.R., Kolosheynova T.I., Vakhrusheva M.V., Kovrigina A.M., et al. Mastocytosis (literature review and case reports). *Therapeutic archive. Russian journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2014; 12: 127–34. (in Russian)
2. Valent P., Horny H.P., Escribano L., Longley B.J., Li C.Y., Schwartz L.B., Marone G., et al. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leuk. Res.* 2001; 25(7): 603–25.
3. Valent P., Horny H.P., Li C.Y., Longley J.B., Metcalfe D.D., Parwaresch R.M., Bennett J.M. Mastocytosis (mast cell disease). In: Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W.; eds. *WHO Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon: IARC Press, 2001: 291–302.
4. Horny H.P., Akin C., Metcalfe D.D., Escribano L., Bennet J.M., Valent P., Bain B.J. Mastocytosis (mast cell disease). In: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., et al.; eds. *WHO Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon: IARC Press; 2008: 54–63.
5. Valent P., Akin C., Sperr W.R., Horny H.P., Metcalfe D.D. Mast cell proliferative disorders: current view on variants recognized by the WHO. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* 2003; 17(5): 1227–41.
6. Valent P., Akin C., Sperr W.R., Escribano L., Arock M., Horny H.P., et al. Aggressive systemic mastocytosis and related mast cell disorders: current treatment options and proposed response criteria. *Leuk. Res.* 2003; 27(7): 635–41.
7. Georin-Lavialle S., Lhermitte L., Dubreuil P., Chandresis M.O., Hermine O., Damaj G. Mast cell leukemia. *Blood*. 2013; 121(8): 1285–95.

8. Valent P., Samorapompichit P., Sperr W.R., Horny H.P., Lechner K. Myelomastocytic leukemia: myeloid neoplasm characterized by partial differentiation of mast cell-lineage cells. *Hematol. J.* 2002; 3(2): 90–4.
9. Arredondo A.R., Gotlib J., Shier L., Medeiros B., Wong K., Cherry A., et al. Myelomastocytic leukemia versus mast cell leukemia versus systemic mastocytosis associated with acute myeloid leukemia: a diagnostic challenge. *Am. J. Hematol.* 2010; 85(8): 600–6.
10. Sperr W.R., Drach J., Hauswirth A.W., Ackermann J., Mitterbauer M., Mitterbauer G., et al. Myelomastocytic leukemia: evidence for the origin of mast cells from the leukemic clone and eradication by allogeneic stem cell transplantation. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11(19, Pt 1): 6787–92.
11. Wimazal F., Sperr W.R., Horny H.P., Carroll V., Binder B.R., Fonatsch C., et al. Hyperfibrinolysis in a case of myelodysplastic syndrome with leukemic spread of mast cells. *Am. J. Hematol.* 1999; 61(1): 66–77.
12. Khaliulin Yu.G. Mastocytosis: clinical manifestations, diagnosis and tactics of treatment of patients. *Attending doctor. Russian journal (Lechashchiy vrach)*. 2012; 8: 83–9. (in Russian)
13. Horny H.P., Parwaresch M.R., Lennert K. Bone marrow findings in systemic mastocytosis. *Hum. Pathol.* 1985; 16(8): 808–14.
14. Horny H.P., Sillaber C., Menke D., Kaiserling E., Wehrmann M., Stehberger B., et al. Diagnostic value of immunostaining for tryptase in patients with mastocytosis. *Am. J. Surg. Pathol.* 1998; 22(9): 1132–40.
15. Horny H.P., Valent P. Diagnosis of mastocytosis: general histopathological aspects, morphological criteria, and immunohistochemical findings. *Leuk. Res.* 2001; 25(7): 543–51.
16. Sperr W.R., Escribano L., Jordan J.H., Scherthaner G.H., Kundl M., Horny H.P., Valent P. Morphologic properties of neoplastic mast cells: delineation of stages of maturation and implication for cytological grading of mastocytosis. *Leuk. Res.* 2001; 25(7): 529–36.
17. Valent P., Akin C., Escribano L., Födinger M., Hartmann K., Brockow K., et al. Standards and standardization in mastocytosis: consensus statements on diagnostics, treatment recommendations and response criteria. *Eur. J. Clin. Invest.* 2007; 37(6): 435–53.
18. Horny H.P., Sotlar K., Stellmacher F., Krokowski M., Agis H., Schwartz L.B., et al. The tryptase positive compact round cell infiltrate of the bone marrow (TROCI-BM): a novel histopathological finding requiring the application of lineage specific markers. *J. Clin. Pathol.* 2006; 59(3): 298–302.
19. Krokowski M., Sotlar K., Krauth M.T., Födinger M., Valent P., Horny H.P., et al. Delineation of patterns of bone marrow mast cell infiltration in systemic mastocytosis: value of CD25, correlation with subvariants of the disease, and separation from mast cell hyperplasia. *Am. J. Clin. Pathol.* 2005; 124(4): 560–8.
20. Sotlar K., Horny H.P., Simonitsch I., Krokowski M., Aichberger K.J., Mayerhofer M., et al. CD25 indicates the neoplastic phenotype of mast cells: a novel immunohistochemical marker for the diagnosis of systemic mastocytosis (SM) in routinely processed bone marrow biopsy specimens. *Am. J. Surg. Pathol.* 2004; 28(10): 1319–25.
21. Valent P., Spanblöchl E., Bankl H.C., Sperr W.R., Marosi C., Pirc-Danoewinata H., et al. Kit ligand/mast cell growth factor independent differentiation of mast cells in myelodysplasia and chronic myeloid leukemia blast crisis. *Blood*. 1994; 84(12): 4322–32.
22. Jordan J.H., Walchshofer S., Jurecka W., Mosberger L., Sperr W.R., Wolff K., et al. Immunohistochemical properties of bone marrow mast cells in systemic mastocytosis: evidence for expression of CD2, CD117/Kit, and bcl-x(L). *Hum. Pathol.* 2001; 32(5): 545–52.
23. Horny H.P., Greschniok A., Jordan J.H., Menke D.M., Valent P. Chymase expressing bone marrow mast cells in mastocytosis and myelodysplastic syndromes: an immunohistochemical and morphometric study. *J. Clin. Pathol.* 2003; 56(2): 103–6.
24. Sotlar K., Cerny-Reiterer S., Petat-Dutter K., Hessel H., Berezowska S., Müllauer L., et al. Aberrant expression of CD30 in neoplastic mast cells in high-grade mastocytosis. *Mod. Pathol.* 2011; 24(4): 585–95.
25. Valent P., Sotlar K., Horny H.P. Aberrant expression of CD30 in aggressive systemic mastocytosis and mast cell leukemia: a differential diagnosis to consider in aggressive hematopoietic CD30-positive neoplasms. *Leuk. Lymphoma*. 2011; 52(5): 740–4.
26. Morgado J.M., Perbellini O., Johnson R.C., Teodosio C., Matito A., Alvarez-Twose I., et al. CD30-expression by bone marrow mast cells from different diagnostic variants of systemic mastocytosis. *Histopathology*. 2013; 63(6): 780–7. doi: 10.1111/his.12221.
27. Valent P., Blatt K., Eisenwort G., Herrmann H., Cerny-Reiterer S., Thahammer R., et al. FLAG-induced remission in a patient with acute mast cell leukemia (MCL) exhibiting t(7;10)(q22;q26) and KIT D816H. *Leuk. Res. Rep.* 2014; 3(1): 8–13. doi: 10.1016/j.lrr.2013.11.001.
28. van Dongen J.J., Lhermitte L., Bottcher S., Almeida J., van der Velden V.H., Flores-Montero J., et al.; EuroFlow Consortium (EU-FP6, LSH-BCT-2006-018708). EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*. 2012; 26(9): 1908–75. doi: 10.1038/leu.2012.120.
29. Gotlib J., Pardanani A., Akin C., Reiter A., George T., Hermine O., et al. International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT) & European Competence Network on Mastocytosis (ECNM) consensus response criteria in advanced systemic mastocytosis. *Blood*. 2013; 121(13): 2393–401. doi: 10.1182/ blood-2012-09-458521.

Поступила 08.11.15

Принята к печати 10.05.16