

ГЕМАТОЛОГИЯ и ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

1' 2017

КВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В ЯНВАРЕ 1956 ГОДА

ЯНВАРЬ—МАРТ ТОМ 62

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: RBelGT@yandex.ru

Зав. редакцией **М. Ю. Белоусова**

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел./факс +7-495-678-64-84

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

Редактор **И. Я. Таджиев**

Художественный редактор
М. Б. Белякова

Корректор **Л. В. Кузнецова**

Верстка **С. М. Мешкорудникова**

Сдано в набор 16.02.17.

Подписано в печать 27.02.17.

Формат 60 x 88 1/8.

Печать офсетная.

Печ. л. 7,00.

Усл. печ. л. 6,86.

Уч.-изд. л. 7,35.

Заказ 092.

E-mail: oao-meditsina@mail.ru

WWW страница: www.medlit.ru

ЛР № 010215 от 29.04.97 г.

Журнал зарегистрирован
в Роскомнадзоре РФ.

Свидетельство о регистрации

ПИ № ФС 77-36821 от 14 июля 2009 г.

Отпечатано в типографии

ООО "Подольская Периодика",

142110, г. Подольск, ул. Кирова, 15

Каталог АО "Роспечать": Индекс 71426

Объединенный каталог "Пресса России":
Индекс 41284

Подписка через интернет:

www.akc.ru, www.pressa-ru

Подписка на электронную версию
журнала: elibrary.ru

ISSN 0234-5730 (Print).

ISSN 2411-3042 (Online).

Гематология и трансфузиология. 2017.

Т. 62. № 1, 1–56.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор журнала

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

Заместитель главного редактора

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

Ответственный секретарь (трансфузиология), научный редактор

ГАЛСТЯН Геннадий Мартинович, доктор мед. наук

Ответственный секретарь (гематология)

ТРОИЦКАЯ Вера Витальевна, кандидат мед. наук

ЧЛЕНЫ РЕДКОЛЛЕГИИ:

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

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

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

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



GEMATOLOGIYA i TRANSFUZIOLOGIYA

1' 2017

FREQUENCY 4 ISSUES PER YEAR

HEMATOLOGY AND TRANSFUSIOLOGY

FOUNDED IN 1956

JANUARY—MARCH VOL. 62

Founder of the Journal Hematology Research Center, Moscow, Russia

EDITORIAL BOARD:

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

Deputy Editor

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

Executive Editor of Transfusiology

Scientific Editor

Galstyan Gennady M., MD, PhD, DSc

Executive Editor of Haematology

Troitskaya Vera V., MD, PhD

Editorial Board:

Biryukova Ludmila S., MD, PhD, DSc; Vasiliev Sergey A., MD, PhD, DSc, prof.; Vorobiev Ivan A., corresponding member of Russian Academy of Natural Sciences, BD, PhD, DSc, prof.; 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., BD, PhD, DSc; Tupitsin Nikolay N., MD, PhD, DSc, prof.; Frank George A., corresponding member of Russian Academy of Medical Sciences, MD, PhD, DSc, prof.; Hvatov Valeriy B., MD, PhD, DSc, prof.; Khoroshko Nina D., MD, PhD, DSc, prof.; Chernov Benyamin M., MD, PhD, DSc, prof.

Advisory Board

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), Sakhibov Yashen D. (Moscow, Russia)

International Advisory Board

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

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

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

© Meditsina Publishers, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Менделеева Л.П., Ахундова Ф.М., Наумова Е.В., Гальцева И.В., Покровская О.С., Соловьев М.В., Грибанова Е.О., Кузьмина Л.А., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Иммунофенотип плазматических клеток костного мозга больных множественной миеломой на фоне высокодозной химиотерапии и после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток..... 4-8
- Охмат В.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Грибанова Е.О., Мальчикова А.О., Коробова А.Г., Фролова И.Н., Савченко В.Г. Спектр и этиология инфекционных осложнений у больных острыми миелоидными лейкозами на этапах индукции и консолидации ремиссии..... 9-15
- Баторов Е.В., Тихонова М.А., Крючкова И.В., Сергеевичева В.В., Сизикова С.А., Ушакова Г.Ю., Гилевич А.В., Останин А.А., Черных Е.Р. Динамика восстановления CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток у больных множественной миеломой..... 15-19
- Крысанов И.С., Зырянов С.К., Крысанова В.С. Клинико-экономическое исследование применения агонистов тромбопоэтиновых рецепторов у взрослых больных хронической формой тромбоцитопенической пурпуры в Российской Федерации..... 20-25
- Турбасова Н.В., Фролова О.В., Соловьев В.С. Оценка состояния метаболической активности нейтрофилов у детей больных острым лимфобластным лейкозом..... 25-28
- Хамазанова Е.Г., Кузьмина Е.П., Паровичникова Е.Н., Кузьмина Л.А., Чугреева Т.П., Чапова Р.С., Юшкова А.А., Савченко В.Г. Вероятность нахождения HLA-идентичного родственного донора для больных с заболеваниями системы крови из семей с разным числом детей..... 29-32
- Туполева Т.А., Романова Т.Ю., Гуляева А.А., Тихомиров Д.С., Игнатова Е.Н., Овчинникова Е.Н., Ярославцева Н.Г., Абакаров Р.Р., Миско О.Н., Гапонова Т.В., Савченко В.Г. Опасность передачи вирусов гепатитов В и С с кровью доноров..... 32-36
- Азимова М.Х., Галстян Г.М., Гапонова Т.В., Карякин А.В., Крюкова Г.Н., Нехаевская С.С., Скоцелас Е.Д., Флегонтов П.А. Биохимические параметры концентратов донорских тромбоцитов при хранении после проведения инактивации патогенов с помощью технологии амтосален + ультрафиолетовое облучение спектра А *in vitro*..... 37-40
- Купряшов А.А., Бирюкова Т.В. Возможность применения неинвазивной гемоглобинометрии для скрининга доноров..... 41-46
- Ахмерзаева З.Х., Паровичникова Е.Н., Русинов М.А., Зотина Е.Н., Гаврилова Л.В., Приступа А.С., Борисенкова Е.А., Вopilina Н.А., Куликов С.М. Эпидемиологическое исследование острых лейкозов в пяти регионах Российской Федерации..... 46-51

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

- Галстян Г.М., Баженов А.В., Данилян К.И., Соркина О.М., Аль-Ради Л.С., Коржова С.М., Клясова Г.А., Ковригина А.М. Роль спленэктомии в лечении острой дыхательной недостаточности у больной волосатоклеточным лейкозом..... 51-54
- Куркина Н.В., Репина Е.А., Машина Н.Н. Опыт применения ибрутиниба при лечении больного с рефрактерным хроническим лимфолейкозом..... 55-56

ЮБИЛЕИ (на обложке)

К 70-летию со дня рождения Румянцева Александра Григорьевича

CONTENTS

ORIGINAL PAPERS

- Mendeleeva L.P., Akhundova F.M., Naumova E.V., Galtseva I.V., Pokrovskaya O.S., Soloviev M.V., Gribanova E.O., Kuzmina L.A., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Immunophenotype of bone marrow plasma cells in patients with multiple myeloma during high-dose chemotherapy and after autologous stem cell transplantation..... 4-8
- Okhmat V.A., Klyasova G.A., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Gribanova E.O., Malchikova A.O., Korobova A.G., Frolova I.N., Savchenko V.G. Spectrum and epidemiology of infection complications in patients with acute myeloid leukemia during induction and consolidation chemotherapy..... 9-15
- Batorov E.V., Tikhonova M.A., Kryuchkova I.V., Sergeevicheva V.V., Sizikova S.A., Ushakova G.Yu., Gilevich A.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Recovery of CD4⁺FOXP3⁺ T cells in patients with multiple myeloma after autologous hematopoietic stem cell transplantation..... 15-19
- Krysanov I.S., Zyryanov S.K., Krysanova V.S. Pharmacoeconomic study of the use of thrombopoietin receptor agonists in adult patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura in Russian Federation..... 20-25
- Turbasova N.V., Frolova O.V., Soloviev V.S. Estimation of the state of metabolic activity of neutrophils in children with acute lymphoblastic leukemia..... 25-28
- Khamaganova E.G., Kuzminova E.P., Parovichnikova E.N., Kuzmina L.A., Chugreeva T.P., Chapova R.S., Yushkova A.A., Savchenko V.G. Probability of the finding the HLA-identical related donor for patients with hematological disorders from families with different numbers of children..... 29-32
- Tupoleva T.A., Romanova T.Yu., Gulyaeva A.A., Tikhomirov D.S., Ignatova E.N., Ovchinnikova E.N., Yaroslavtseva N.G., Abakarov R.R., Misko O.N., Gaponova T.V., Savchenko V.G. Risk of transmission of hepatitis B and C viruses by blood transfusion..... 32-36
- Azimova M.Kh., Galstyan G.M., Gaponova T.V., Karyakin A.V., Kryukova G.N., Nekhaevskaya S.S., Skotselasy E.D., Flegontov P.A. Biochemical parameters of donor platelet concentrates during the storage after pathogen inactivation with the aid of technology "amotosalen + ultraviolet A irradiation *in vitro*"..... 37-40
- Kupryashov A.A., Biryukova T.V. Possible applications of noninvasive hemoglobin screening for donor deferrals..... 41-46
- Akhmerzaeva Z.Kh., Parovichnikova E.N., Rusinov M.A., Zotina E.N., Gavrilova L.V., Pristupa A.S., Borisenkova E.A., Vopilina N.A., Kulikov S.M. An epidemiological study of acute leukemia in five regions of the Russian Federation..... 46-51

CLINICAL OBSERVATIONS

- Galstyan G.M., Bazhenov A.V., Danishyan K.I., Sorkina O.M., Al-Radi L.S., Korzhova S.M., Klasova G.A., Kovrigina A.M. The place of splenectomy in the treatment of acute respiratory failure in the patient with hairy cell leukemia..... 51-54
- Kurkina N.V., Repina E.A., Mashnina N.N. The experience of Ibrutinib therapy in the treatment of patient with chronic lymphocytic leukemia..... 55-56

ANNIVERSARY

Professor Rumyantsev Aleksandr Grigorievich (on the occasion of his 70th birthday anniversary)

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

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», 2017

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616-006.448-085.277.3]-07:616.419-018.1

Менделеева Л.П.¹, Ахундова Ф.М.², Наумова Е.В.³, Гальцева И.В.¹, Покровская О.С.¹,
Соловьев М.В.¹, Грибанова Е.О.¹, Кузьмина Л.А.¹, Паровичникова Е.Н.¹, Савченко В.Г.¹

ИММУНОФЕНОТИП ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ НА ФОНЕ ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

¹ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия;

²«Республиканская клиническая больница им. акад. М.А. Миркасимова» Минздрава Азербайджана,
AZ1122, г. Баку, Азербайджан;

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России,
125993, г. Москва, Россия

Цель работы – изучить иммунофенотип плазматических клеток костного мозга у больных множественной миеломой (ММ) до и после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) и определить частоту достижения отсутствия минимальной резидуальной болезни (МРБ)-негативности в результате проведенного лечения.

Материал и методы. Иммунофенотипирование плазматических клеток костного мозга выполнили 17 больным ММ в возрасте от 43 до 62 лет (медиана возраста 55 лет), с помощью 4-цветной проточной цитофлуориметрии на аппарате Cytomics FC 500 ("Beckman Coulter", США). В работе использовали панель моноклональных антител CD138/CD38/CD45/CD19/CD117/CD56. Всего было подсчитано 200 000–500 000 событий в исходном гейте по FS против SS, плазматические клетки выделяли в «гейте» CD138/CD38. МРБ-негативность определяли в случае достижения порогового значения менее 0,01%. Всего было проанализировано 37 образцов костного мозга от 17 больных. Иммунофенотипирование выполняли: до 1-й ауто-ТГСК, после 1-й ауто-ТГСК и после 2-й ауто-ТГСК.

Результаты и обсуждение. Во всех образцах костного мозга плазматические клетки характеризовались экспрессией обоих маркеров CD138/CD38, а также слабой экспрессией CD45 или ее отсутствием (CD45^{dim/neg}). Иммунофенотип плазматических клеток, представленный тремя маркерами CD19, CD117, CD56, изменялся на различных этапах лечения. При сравнении и анализе количественной экспрессии аберрантных маркеров перед и после 1-й ауто-ТГСК отмечалось статистически значимое их снижение (аберрантных плазматических клеток). У 6 (35,3%) из 17 больных удалось достичь МРБ-негативности после 1-й ауто-ТГСК. Иммунофенотипирование с помощью проточной цитофлуориметрии является высокочувствительным методом, позволяющим выявлять экспрессию аберрантных маркеров плазматических клеток, а также проследить их в динамике на фоне интенсивной терапии. В результате проведенного исследования была подтверждена эффективность высокодозной химиотерапии с последующей ауто-ТГСК. В процессе лечения выявлена гетерогенность аберрантной экспрессии плазматических клеток.

Ключевые слова: множественная миелома; иммунофенотипирование; проточная цитофлуориметрия; плазматические клетки; аберрантная экспрессия; трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток; минимальная резидуальная болезнь.

Для цитирования: Менделеева Л.П., Ахундова Ф.М., Наумова Е.В., Гальцева И.В., Покровская О.С., Соловьев М.В., Грибанова Е.О., Кузьмина Л.А., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Иммунофенотип плазматических клеток костного мозга больных множественной миеломой на фоне высокодозной химиотерапии и после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 4-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-4-8>

Mendeleeva L.P., Akhundova F.M., Naumova E.V., Galtseva I.V., Pokrovskaya O.S., Soloviev M.V.,
Gribanova E.O., Kuzmina L.A., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G.

IMMUNOPHENOTYPE OF BONE MARROW PLASMA CELLS IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA DURING HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY AND AFTER AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION

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

Academician M.A. Mirgasimov Republic Clinical Hospital, Baku, AZ1122, Republic of Azerbaijan;

Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, 125993, Russian Federation

The aim of the study is to investigate the immunophenotype of bone marrow plasma cells in patients with multiple myeloma (MM) before and after the transplantation of autologous hematopoietic stem cells (autologous HSCT), and to assess response to the treatment determine the frequency of the lack of achievement of minimal residual disease (MRD) negativity as a result of the treatment.

Material and methods. Immunophenotyping of marrow plasma cells was performed in 17 MM patients aged from 43 to 62 years (median age 55 years). Four color flow cytometry (Cytomics FC unit 500, "Beckman Coulter", USA) and the panel of monoclonal antibodies CD138/CD38/CD45/CD19/CD117/CD56 were used. In total, there were estimated 200,000–500,000 events in the initial Gate for forward scatter (FS) vs side scatter (SS). Plasma cells were isolated in Gate CD138/CD38. MRD-negativity was determined as the

achievement of threshold value less than 0.01%. 37 bone marrow samples from 17 patients were analyzed. Immunophenotyping was performed before the 1st autologous HSCT, after the 1st autologous HSCT and after the 2nd autologous HSCT.

Results and discussion. In all samples bone marrow plasma cells were characterized by the expression of both CD138/CD38 markers and weak expression or absence of expression of CD45 (CD45^{dim/neg}). The immunophenotype of plasma cells was presented by three markers CD19, CD117, CD56 and varied at different stages of the treatment. The analysis of the quantitative expression of aberrant markers before and after the 1st autologous HSCT revealed a statistically significant reduction of aberrant plasma cells. In 6 (35.3%) of 17 patients MRD-negativity was successfully achieved after the 1st autologous HSCT.

Conclusion. Immunophenotyping by flow cytometry is a highly sensitive method. It permit to detect the expression of aberrant markers of plasma cells, to obtain their changes during the therapy. The efficacy of high-dose chemotherapy with following autologous HSCT was confirmed. The heterogeneity of aberrant expression of plasma cells was found.

Key words: multiple myeloma; immunophenotyping; flow cytometry; plasma cells; aberrant expression; transplantation of autologous hematopoietic stem cells; Minimal residual disease.

For citation: Mendeleva L.P., Akhundova F.M., Naumova E.V., Galtseva I.V., Pokrovskaya O.S., Soloviev M.V., Gribanova E.O., Kuzmina L.A., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Immunophenotype of bone marrow plasma cells in patients with multiple myeloma during high-dose chemotherapy and after autologous stem cell transplantation. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(1): 4-8. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-4-8>

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 06 September 2016

Accepted 10 February 2017

В течение последних 10–15 лет в лечении множественной миеломы (ММ) достигнуты значимые положительные результаты. Этому способствовало углубленное изучение биологии заболевания, а также внедрение в клиническую практику высокодозных трансплантационных методик и новых лекарственных препаратов (ингибиторов протеасом, иммуномодуляторов, моноклональных антител), обладающих механизмом биологически направленного воздействия на опухолевые клетки.

Многоцентровые проспективные рандомизированные клинические исследования представили убедительные данные, подтверждающие возможность получения глубокого и длительного противоопухолевого ответа у больных ММ при использовании современных инновационных методов лечения. Применение трехпрепаратных схем на основе бортезомиба с последующей высокодозной химиотерапией и трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) у больных с впервые выявленной ММ обеспечивает 5-летнюю общую выживаемость (ОВ) и выживаемость без прогрессии (ВБП) 70 и 42% больным соответственно [1].

У больных ММ старшей возрастной группы, не являющихся кандидатами на ауто-ТГСК, применение схемы VMP (бортезомиб+мелфалан+преднизолон) сопровождается 46% вероятностью 5-летней ОВ [2], а при использовании леналидомида в сочетании с низкими дозами преднизолона вероят-

ность 2-летней ОВ может достигать 91% [3]. Более ранними работами было показано наличие четкой зависимости показателей выживаемости больных ММ от глубины достигнутого противоопухолевого ответа. ОВ и ВБП были статистически значимо выше у больных, достигших в результате специфической терапии полной ремиссии (ПР) или очень хорошей частичной ремиссии (ОХЧР), чем у больных с частичным ответом или стабилизацией заболевания [4–10].

Р. Кароог и соавт. [11] оценили влияние строгой ПР на показатели времени до прогрессии и ОВ у больных ММ после ауто-ТГСК. Оказалось, что вероятность 5-летней ОВ больных, достигших строгой ПР, равняется 91% по сравнению с 53% у больных без строгой ПР. Поскольку определение «строгая ПР» включало в себя, помимо стандартных критериев ПР, отсутствие клональных клеток в костном мозге, подтвержденное иммуногистохимическим или иммунофлуоресцентным методами [12], можно считать, что авторы определяли значение и влияние минимальной резидуальной болезни (МРБ) на результаты лечения ММ.

Используя метод проточной цитофлуориметрии, Н. Ли и соавт. [13] исследовали костный мозг 47 больных ММ до и после ауто-ТГСК. Целью исследования являлось обнаружение плазматических клеток с нормальным и aberrантным иммунофенотипом с последующим ретроспективным анализом зависимости результатов лечения от наличия резидуальных опухолевых клеток. С помощью 4-цветной проточной цитометрии были изучены плазматические клетки, которые экспрессировали CD38, CD45, CD56, CD19-антигены. Оказалось, что наиболее часто встречавшимся (у 51% больных) aberrантным иммунофенотипом был CD56⁺/CD45⁺/CD19⁻. При этом были выявлены статистически значимые различия ВБП больных в зависимости от содержания aberrантных плазматических клеток в костном мозге. Если у больных перед ауто-ТГСК количество клеток с aberrантным фенотипом было менее 1,8%, то 2-летняя ВБП была практически в 2 раза выше, чем у больных с количеством aberrантных клеток более 1,8% ($p = 0,017$). Однако показатели ОВ в этих двух группах больных не различались ($p = 0,081$).

А. Равстрон и соавт. [14] представили результаты исследования МРБ у 378 больных ММ. Методом мультипараметрической проточной цитометрии с использованием 6-цветной панели антител к антигенам CD138, CD45, CD38, CD19, CD56, CD27 был исследован костный мозг после завершения индукционного этапа лечения и после ауто-ТГСК. МРБ-негативный статус выявляли у 19% больных уже после индукционной терапии и у 62,2% больных после ауто-ТГСК. Авторы от-

Для корреспонденции:

Ахундова Фидан Мустафа кызы, врач-гематолог в отделении гематологии Республиканской клинической больницы им. акад. М.А. Миркасимова, AZ1122, г. Баку, Азербайджан. E-mail: rf-fina@yandex.ru.

For correspondence:

Akhundova F.M., MD, Doctor of the Hematology Department of Republican Clinical Hospital named after Academician M.A. Mirgasimov, Baku, AZ1122, Azerbaijan. E-mail: rf-fina@yandex.ru.

Information about authors:

Mendeleva L.P., <http://orcid.org/0000-0002-4966-8146>;
Akhundova F.M., <http://orcid.org/0000-0003-2892-5331>;
Naumova E.V., <http://orcid.org/0000-0001-5829-9138>;
Galtseva I.V., <http://orcid.org/0000-0002-8490-6066>;
Pokrovskaya O.S., <http://orcid.org/0000-0002-8657-4990>;
Soloviev M.V., <http://orcid.org/0000-0002-7944-6202>;
Gribanova E.O., <http://orcid.org/0000-0002-4155-7820>;
Kuzmina L.A., <http://orcid.org/0000-0001-6201-6276>;
Parovichnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>;
Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

метили, что медиана как ВБП, так и ОВ была статистически значимо выше у больных, достигших в результате лечения МРБ-негативности: 28,6 мес против 15,5 мес (для ВБП; $p < 0,001$) и 80,6 мес против 59 мес (для ОВ; $p = 0,0183$). При этом наилучшие показатели ВБП (медиана 44,2 мес; $p < 0,001$) наблюдались у больных, которые достигли МРБ-негативности уже после индукционной терапии, в то время как различий в продолжительности ОВ в зависимости от времени достижения МРБ-негативности (до или после ауто-ТГСК) выявить не удалось ($p = 0,16$). Еще одно важное заключение сделали авторы: поддерживающая терапия талидомидом после ауто-ТГСК способствовала увеличению продолжительности ВБП только у тех больных, у которых после ауто-ТГСК сохранялся МРБ-позитивный статус, и среди них у 28% больных удалось достичь МРБ-негативности. Основываясь на представленных материалах, можно предположить, что МРБ-статус, определяемый до и после ауто-ТГСК, будет способствовать разработке индивидуализированной последовательной терапевтической тактики, а именно решению вопроса о проведении консолидирующей и/или поддерживающей терапии, ее длительности и выбору лекарственных препаратов.

Испанская группа GEM/PETHEMA [15], изучая МРБ-статус у больных ММ после ауто-ТГСК методом мультипараметрической проточной цитометрии, также подтвердила, что МРБ-негативность является наиболее важным прогностическим фактором для ВБП.

Британская группа MRC [16] в результате своих исследований пришла к заключению, что МРБ-статус у больных ММ обладает таким же прогностическим значением по отношению к ОВ, как и критерии, указанные в Международной системе стадирования (ISS) [17], за исключением цитогенетических маркеров, которые считаются самыми важными прогностическими факторами.

Современная методика оценки МРБ с использованием проточной цитометрии была разработана EuroFlow Консорциумом при поддержке Международной организации по изучению миеломы (International Myeloma Foundation) и является методом выбора для точного, высокочувствительного и автоматизированного мониторинга ММ. Согласовано, что для надежного выявления различий между нормальными и клональными костно-мозговыми плазматическими клетками необходимо одновременно учитывать как маркеры, идентифицирующие плазматические клетки (CD38/CD138), так и специфические маркеры CD19, CD27, CD45, CD56, CD81, CD117 [18].

В то же время следует учитывать, что иммунофенотип нормальных плазматических клеток характеризуется высокой гетерогенностью, обусловленной многоэтапным процессом их созревания.

Наиболее часто иммунофенотип нормальных плазматических клеток может быть представлен как CD38⁺bright, CD138⁺bright, CD19⁺, CD45⁺, CD20⁻, CD27⁺, CD28⁻, CD56⁻, CD81⁺, CD117⁻, CD200^{+/+}, поликлональное соотношение CyIgk/CyIgλ. В то же время небольшая часть (менее 30%) нормальных плазматических клеток может экспрессировать антигены CD19⁻, CD45^{-/low}, CD20⁺, CD27^{low}, CD28⁺, CD56⁺, CD200^{bright/low}. В противоположность aberrantный иммунофенотип опухолевых плазматических клеток может быть представлен многочисленными комбинациями следующих антигенов: CD38^{low/dim}, CD19⁻, CD45⁻, CD20⁺, CD27^{-/low}, CD28⁺, CD56^{+/bright}, CD81^{-/low}, CD117⁺, CD200^{bright} в ассоциации с моноклональным CyIgk или CyIgλ [19].

Общепринятая методика определения резидуальных опухолевых миеломных клеток с помощью мультипараметрической проточной цитометрии позволяет за короткое время одновременно идентифицировать и характеризовать большое количество плазматических клеток, базируясь на множестве параметров, а также произвести количественную оценку различных клеточных популяций и уровня экспрессии поверхностных и внутриклеточных антигенов.

Цель исследования – изучить иммунофенотип плазматических клеток костного мозга (КМ) у больных ММ до и после ауто-ТГСК и определить частоту достижения МРБ-негативности в результате проведенного лечения.

Материал и методы

Пациенты, вошедшие в исследование, проходили лечение в научно-клиническом отделении химиотерапии гемобластозов и трансплантации костного мозга ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (Москва) в период с октября 2009 г. по сентябрь 2012 г. В исследование включены 17 больных ММ (6 мужчин и 11 женщин) в возрасте от 43 до 62 лет (медиана возраста 55 лет, квартильный разброс 6 лет). Диагноз множественной миеломы устанавливали в соответствии с критериями, разработанными Международной рабочей группой по изучению миеломы (IMWG, 2014) [20]. Индукционную терапию проводили бортезомибосодержащими курсами. При недостаточном противоопухолевом ответе применяли схемы, включавшие леналидомид, мелфалан. Различия в схемах индукционной терапии были обусловлены чувствительностью опухоли к препаратам, а также тем, что большинство больных получали индукционную терапию в других лечебных учреждениях Москвы и городов России.

После завершения индукционного этапа лечения всем больным выполняли мобилизацию циклофосфаном + гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (ЦФ + Г-КСФ) и сбор стволовых клеток крови. Через 2–6 мес после мобилизации была выполнена высокодозная химиотерапия с использованием мелфалана в дозе 200 мг/м² с последующей однократной ($n = 13$) или двойной ($n = 4$) трансплантацией ауто-ТГСК. Ответ на лечение оценивали в соответствии с критериями, разработанными IMWG (2016) [21]. После трансплантации 10 (58,8%) из 17 больных проводили поддерживающую терапию бортезомибом.

Исследование иммунофенотипа плазматических клеток выполняли методом 4-цветной проточной цитофлюориметрии на цитометре Cytomics FC500 (“Beckman Coulter”, США) на кафедре клинической лабораторной диагностики Российской медицинской академии последипломного образования.

При иммунофенотипировании плазматических клеток использовали панель моноклональных антител (“Beckton Dickinson”) к антигенам CD138 FITC/CD38 PE/CD45 PC7/CD19 PerCP, CD138 FITC/CD38 PE/CD45 PC7/CD117 PerCP Cy5.5, CD138 FITC/CD38 PerCP-Cy 5.5/CD45 PC7/CD56 PE в соответствии с протоколом А. Rawston [22]. Материалом исследования являлся КМ объемом не менее 2 мл, стабилизированный К₂-ЭДТА. Всего было проанализировано 37 образцов КМ.

Исследование популяции плазматических клеток КМ было основано на последовательном гейтировании (гейт от англ. «gate» – ворота, т.е. введение логических ограничений в протокол исследования; под термином «гейтирование» мы понимаем зону анализа популяции клеток с заданными характеристиками) SS против FS, SS против CD45, «гейт» CD138/CD38, в котором оценивали экспрессию CD19, CD117, CD56. Было подсчитано от 200 000–500 000 событий, среди которых выявляли от 20 до 50 событий в «гейте» CD138⁺/CD38⁺. МРБ-негативность определяли в случае достижения порогового значения менее 0,01%.

Для анализа данных использовали программное обеспечение CXP Analysis, а для сбора данных – CXP Cytometer. Иммунофенотипирование плазматических клеток КМ выполняли после завершения индукционной терапии (перед 1-й ауто-ТГСК), через 2–8 мес после 1-й ауто-ТГСК и через 12–18 мес после 2-й трансплантации.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Dell Statistica 13.1. Для связанных выборок использовали *t*-критерий, для подсчета медианы – критерий Вилкоксона.

Результаты

Во всех образцах КМ плазматические клетки характеризовались экспрессией обоих маркеров CD138/CD38, а также слабой экспрессией CD45 или ее отсутствием (CD45^{dim/neg-}).

Перед 1-й ауто-ТГСК иммунофенотип плазматических клеток у 9 (56,2%) из 16 больных характеризовался экспрессией всех трех маркеров CD19⁺/CD117⁺/CD56⁺. Только у 1 больного наблюдалось отсутствие экспрессии маркеров CD19/CD117/CD56.

Перед трансплантацией CD19⁺/CD117⁺/CD56⁺-иммунофенотип плазматических клеток был выявлен у 3 больных. Экспрессия двух маркеров и отсутствие одного маркера CD19⁺/CD117⁺/CD56⁺ наблюдалось у 3 больных (см. рисунок, а).

При исследовании КМ методом проточной цитофлюориметрии через 2–8 мес после 1-й ауто-ТГСК были отмечены некоторые изменения иммунофенотипа плазматических клеток.

Наиболее часто встречающимся иммунофенотипом как до, так и после 1-й трансплантации был фенотип CD19⁺/CD117⁺/CD56⁺, отмеченный у 8 (47%) из 17 больных. Отсутствие всех трех маркеров на этом этапе лечения наблюдалось у 5 (29%) из 17 больных. У 2 больных иммунофенотип плазматических клеток характеризовался экспрессией одного aberrантного маркера CD56 и отсутствием CD19 и CD117. Иммунофенотип плазматических клеток CD19⁺/CD117⁺/CD56⁺, определявший-ся перед 1-й ауто-ТГСК, не был выявлен после трансплантации. Однако после 1-й трансплантации было отмечено появление двух новых разновидностей иммунофенотипа плазматических клеток CD19⁺/CD117⁺/CD56⁺ и CD19⁺/CD117⁺/CD56⁻, не определявшихся перед 1-й ауто-ТГСК, каждый из которых выявлялся у 1 больного (см. рисунок, б).

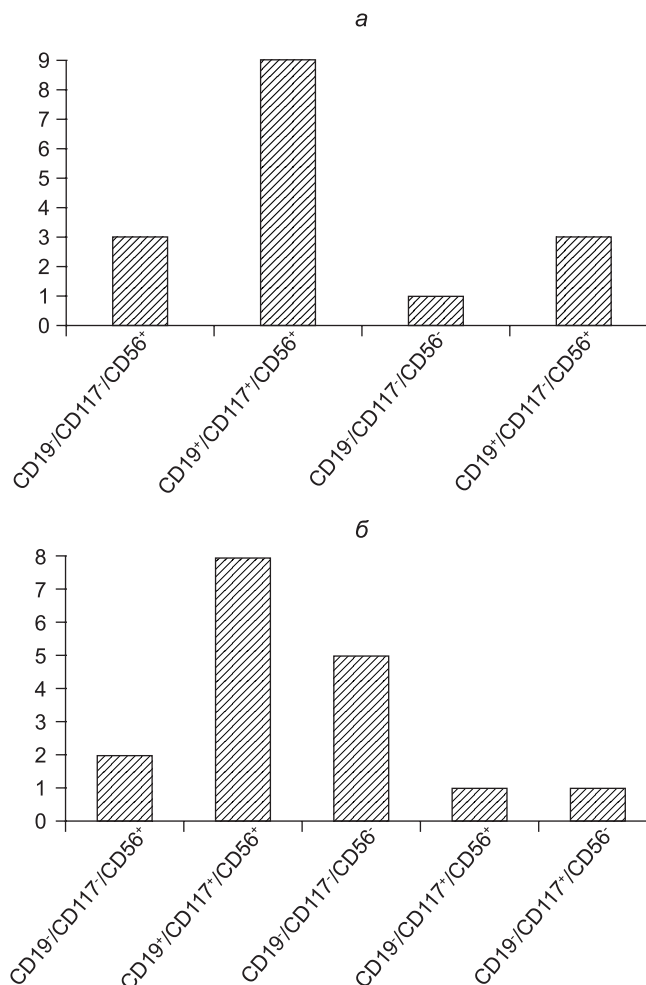
Поскольку экспрессия маркера CD19 может присутствовать или отсутствовать в популяции нормальных и опухолевых плазматических клеток [18], изучение изменений иммунофенотипа плазматических клеток в нашем исследовании основывалось на анализе сочетаний aberrантных маркеров CD117/CD56. В табл. 1 представлен иммунофенотип плазматических клеток до и после трансплантации у больных ММ. Перед 1-й ауто-ТГСК у 9 больных выявлялась экспрессия на плазматических клетках двух aberrантных маркеров CD117 и CD56, у 6 больных – экспрессия маркера CD56 и отсутствие CD117, у 1 больного – отсутствие обоих aberrантных маркеров CD117 и CD56. У 10 больных экспрессия aberrантных маркеров после 1-й трансплантации не менялась, однако у 6 больных отмечались изменения в их экспрессии (см. табл. 1). У 5 больных исчезла экспрессия CD56, у 2 больных утрачена экспрессия CD117, у 2 больных обнаружена вновь появившаяся экспрессия CD117.

Динамическое исследование иммунофенотипа плазматических клеток костного мозга через 12–18 мес после 2-й ауто-ТГСК выполнено только у 4 больных, из них у 3 не выявлено экспрессии ни одного из aberrантных маркеров (CD117/CD56), также отмечалось отсутствие экспрессии маркера CD19. Однако при исследовании перечисленных маркеров на предыдущих этапах лечения наблюдалась экспрессия одного или двух aberrантных маркеров в иммунофенотипе каждого больного, и только у 1 больной после 2-й трансплантации отмечалась экспрессия одного aberrантного маркера CD56 и отсутствие CD19 и 117, хотя на предыдущих этапах лечения (до и после 1-й ауто-ТГСК) иммунофенотип значимо различался и был представлен в виде CD19⁺/CD117⁺/CD56⁺ (см. табл. 1).

В табл. 2 представлены результаты подсчета процента плазматических клеток и aberrантных плазматических клеток костного мозга среди всех просчитанных событий. До 1-й ауто-ТГСК медиана и среднее содержание плазматических клеток (CD138⁺/CD38⁺) составило 0,8% и $0,827 \pm 0,148\%$, среди них aberrантные плазматические клетки составляли 92,1% (медиана) и $74,356 \pm 8,427\%$ (средняя). При этом aberrантные плазматические клетки в пересчете от всех событий составляли 0,4% (медиана) и $0,588 \pm 0,12\%$ (средняя). Лишь в одном случае по данным проточной цитофлуориметрии в результате индукционной терапии была достигнута МРБ-негативность.

После 1-й трансплантации все исследуемые показатели (общее количество плазматических клеток и количество aberrантных плазматических клеток) статистически значимо снизилось. Медиана и среднее содержание плазматических клеток (CD138⁺/CD38⁺) составило 0,43% и $0,559 \pm 0,116\%$ (средняя), среди них aberrантные плазматические клетки составили 26,32% (медиана) и $43,66 \pm 10,84\%$ (средняя). При этом aberrантные плазматические клетки в пересчете от всех событий составили 0,06% (медиана) и $0,339 \pm 0,134\%$ (средняя). У 6 больных ММ была отмечена МРБ-негативность.

Таким образом, метод проточной цитофлуориметрии является высокочувствительным, позволяю-



Иммунофенотипическая характеристика плазматических клеток.

а – перед 1-й ауто-ТГСК; б – через 2–4 мес после 1-й ауто-ТГСК.

Таблица 1

Иммунофенотип плазматических клеток на различных этапах лечения

№ пациента	Иммунофенотипическая характеристика плазматических клеток		
	перед 1-й ауто-ТГСК	после 1-й ауто-ТГСК	после 2-й ауто-ТГСК
1	CD19 ⁺ /CD117 ⁻ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁻	-
2	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁻	-
3	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	-
4	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	-
5	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	-
6	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	-
7	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁺	-
8	CD19 ⁺ /CD117 ⁻ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁻	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁻
9	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁻	-
10	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁻
11	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	-
12	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁺	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁻
13	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁺
14	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁻	-
15	CD19 ⁺ /CD117 ⁻ /CD56 ⁺	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁺	-
16	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁻	CD19 ⁻ /CD117 ⁻ /CD56 ⁻	-
17	-	CD19 ⁺ /CD117 ⁺ /CD56 ⁺	-

Примечание. Минус – исследование не проводили.

Таблица 2

Изменение содержания плазматических и aberrантных плазматических клеток в костном мозге после 1-й ауто-ТГСК

Исследуемый параметр	Количество ПК CD138 ⁺ /CD38 ⁺ от общего числа событий, %	Количество А-ПК от общего количества CD138 ⁺ /CD38 ⁺ , %	Количество А-ПК от общего количества событий, %
Перед 1-й ауто-ТГСК:			
разброс значений	0,2–2,06	13–100	0–1,47
$M \pm m$	0,827 $\pm$ 0,148	74,356 $\pm$ 8,427	0,588 $\pm$ 0,12
медиана (квартильный разброс)	0,8 (0,895)	92,1 (41,95)	0,4 (0,79)
После 1-й ауто-ТГСК:			
разброс значений	0,04–1,59	0–100	0–1,59
$M \pm m$	0,559 $\pm$ 0,116	43,66 $\pm$ 10,84	0,339 $\pm$ 0,134
медиана (квартильный разброс)	0,43 (0,57)	26,32 (100)	0,06 (0,43)
p (от $M \pm m$) (t -критерий для связанных выборок)	$p_1 = 0,0366$	$p_2 = 0,0075$	$p_3 = 0,0359$
p (от медианы) (критерий Вилкоксона)	$p_4 = 0,0245$	$p_5 = 0,0159$	$p_6 = 0,0468$

Примечание. ПК – плазматический клетки; А-ПК – aberrантные плазматические клетки.

щим не только выявлять наличие aberrантных плазматических клеток, но и проследивать их динамику на фоне интенсивной терапии. Результаты нашего исследования, полученные с помощью иммунофенотипирования, подтвердили значимый противоопухолевый эффект мелфалана в высоких дозах с последующей трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. Кроме того, подтверждена выраженная гетерогенность фенотипа миеломных клеток, изменяющегося в процессе лечения.

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

ЛИТЕРАТУРА

- Покровская О.С., Менделеева Л.П., Урнова Е.С., Гапонова Т.В., Гальцева И.В., Кузьмина Л.А. и др. Роль полной и очень хорошей частичной ремиссии в сохранении выживаемости без признаков прогрессии после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток у больных множественной миеломой. *Гематология и трансфузиология*. 2012; 3(Прил.): 72.
- Покровская О.С., Менделеева Л.П., Капланская И.Б., Грибанова Е.О., Варламова Е.Ю., Обухова Т.Н. и др. Ангиогенез в костном мозге больных множественной миеломой на различных этапах высокодозной химиотерапии. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2010; 4: 347–53.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Reed C.B., Reece D.E., Kukreti V., Mikhael J.R., Chen C., Trudel S., et al. Long-term with cyclophosphamide, bortezomib and dexamethasone induction therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Br. J. Haematol.* 2014; 167(4): 563–5. doi: 10.1111/bjh.13004.
- San Miguel J.F., Schlag R., Khuageva N.K., Dimopoulos M.A., Shpilberg O., Kropff M., et al. Persistent overall survival benefit and no increased risk of second malignancies with bortezomib-melphalan prednisone versus melphalan-prednisone in patients with previously untreated multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31(4): 448–55. doi: 10.1200/JCO.2012.41.6180.
- Rajkumar S.V., Jacobus S., Callander N.S., Fonseca R., Vesole D.H., Williams M.E., et al. Lenalidomide plus high-dose dexamethasone versus lenalidomide plus low-dose dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma: an open-label randomized controlled trial. *Lancet Oncol.* 2010; 11(1): 29–37. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70284-0.
- Alexanian R., Weber D., Giral S., Dimopoulos M., Delasalle K., Smith T., Champlin R. Impact of complete remission with intensive therapy in patients with responsive multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 2001; 27(10): 1037–43.
- Alvares C.L., Davies F.E., Horton C., Patel G., Powles R., Sirohi B., et al. Long-term outcomes of previously untreated myeloma patients: responses to induction chemotherapy and high-dose melphalan incorporated within a risk stratification model can help to direct the use of novel treatments. *Br. J. Haematol.* 2005; 129(5): 607–14.
- O'Shea D., Giles C., Terpos E., Perz J., Politou M., Sana V., et al. Predictive factors for survival in myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation: a single-centre experience in 211 patients. *Bone Marrow Transplant.* 2006; 37(8): 731–7.
- Krejci M., Buchler T., Hajek R., Svobodnik A., Krivanova A., Pour L., et al. Prognostic factors for survival after autologous transplantation: a single centre experience in 133 multiple myeloma patients. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35(2): 159–64. doi:10.1038/sj.bmt.1704728.
- Pokrovskaya O.S., Mendeleva L.P., Urnova E.S., Gaponova T.V., Galtseva I.V., Kuzmina L.A., et al. The role of complete and very good partial

- remission in preservation of progression free survival after autologous stem cell transplantation among multiple myeloma patients. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2012; 3(Suppl); 72 (abstr.). (in Russian)
- Pokrovskaya O.S., Mendeleva L.P., Kaplanskaya I.B., Griбанова E.O., Varlamova E.Yu., Obukhova T.N., et al. Bone marrow angiogenesis in patients with multiple myeloma in different phases of high-dose therapy. *Clinical oncohematology. Fundamental investigations and clinical practice. Russian journal (Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamentalnie issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2010; 4: 347–53. (in Russian)
- Pokrovskaya O., Mendeleva L., Alekseeva I., Gaponova T., Urnova E., Griбанова E. Treatment of multiple myeloma with autologous stem cell transplantation: a long-term observation. *Bone Marrow Transplant.* 2011; 46(Suppl.1): P906 [poster]. Materials of the congress. http://www.congex.ch/2011/ebmt2011/pdf/ebmt2011_final_programme.pdf
- Kapoor P., Kumar S.K., Dispenzieri A., Lacy M.Q., Buadi F., Dingli D., et al. Importance of achieving stringent complete response after autologous stem-cell transplantation in multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31(36): 4529–35. doi: 10.1200/JCO.2013.49.0086.
- Kyle R.A., Rajkumar S.V. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia*. 2009; 23(1): 3–9. doi:10.1038/leu.2008.291.
- Liu H., Yuan C., Heinerich J., Braylan R., Chang M., Wingard J., Moreb J. Flow cytometric minimal residual disease monitoring in patients with multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation: a retrospective study. *Leuk. Lymphoma*. 2008; 49(2): 306–14. doi: 10.1080/10428190701813018.
- Rawstron A.C., Child J.A., de Tute R.M., Davies F.E., Gregory W.M., Bell S.E., et al. Minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry in multiple myeloma: impact on outcome in the Medical Research Council Myeloma IX Study. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31(20): 250–7. doi: 10.1200/JCO.2012.46.2119.
- Paiva B., Vidriales M.B., Cerveró J., Mateo G., Pérez J.J., Montalbán M.A., et al. GEM (Grupo Español de MM)/PETHEMA (Programa para el Estudio de la Terapéutica en Hemopatías Malignas) Cooperative Study Groups. Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Blood*. 2008; 112(10): 4017–23. doi: 10.1182/blood-2008-05-159624.
- Rawstron A.C., Gregory W.M., de Tute R.M., Davies F.E., Bell S.E., Drayson M.T., et al. Minimal residual disease in myeloma by flow cytometry: independent prediction of survival benefit per log reduction. *Blood*. 2015; 125(12): 1932–5. doi:10.1182/blood-2014-07-590166.
- Greipp P.R., San Miguel J., Durie B.G., Crowley J.J., Barlogie B., Bladé J., et al. International staging system for multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(15): 3412–20.
- Paiva B., van Dongen J.J., Orfao A. New criteria for response assessment: role of minimal residual disease in multiple myeloma. *Blood*. 2015; 125(20): 3059–68. doi: 10.1182/blood-2014-11-568907.
- Arroz M., Came N., Lin P., Chen W., Yuan C., Lagoo A., et al. Consensus guidelines on plasma cell myeloma minimal residual disease analysis and reporting. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2016; 90(1): 31–9. doi: 10.1002/cyto.b.21228.
- Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Palumbo A., Blade J., Merlini G., Mateos M.V., et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014; 15(12): e538–48. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5.
- Kumar S., Paiva B., Anderson K.C., Durie B., Landgren O., Moreau P., et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2016; 17(8): e328–46. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30206-6.
- Rawstron A.C. Immunophenotyping of plasma cells. *Curr. Protoc. Cytom.* 2006; Ch. 6: Unit 6.23. OnLine. doi:10.1002/0471142956.cy0623s36.

Поступила 17.11.16

Принята к печати 10.02.17

Охмат В.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Грибанова Е.О.,
Мальчикова А.О., Коробова А.Г., Фролова И.Н., Савченко В.Г.

СПЕКТР И ЭТИОЛОГИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ НА ЭТАПАХ ИНДУКЦИИ И КОНСОЛИДАЦИИ РЕМИССИИ

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

Цель исследования – изучить спектр и этиологию инфекционных осложнений у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) на разных этапах химиотерапии. В проспективное исследование (2013–2015 гг.) было включено 66 больных впервые выявленными ОМЛ в возрасте 17–64 лет (медиана 39 лет), которым было проведено 208 курсов (94 курса индукции и 114 курса консолидации). Период наблюдения за больными составил 180 дней. Большинство больных (89%) были переведены из других стационаров и при поступлении находились в тяжелом состоянии: статус 3–4 балла по шкале ECOG был у 65% больных, гиперлейкоцитоз – у 33%, а тяжелые инфекционные осложнения (пневмония у 21%, инфекция мягких тканей у 17%) – у 38%. Среднее число эпизодов инфекции на одного больного составило 2,9 (1–4). Инфекции возникли в 93% курсах химиотерапии, из них в 98% в индукции и 93% в консолидации (ОШ 5,9; $p = 0,01$). Ведущим показанием к назначению антибиотиков была клинически доказанная инфекция (44%), реже выявляли лихорадку неясной этиологии (39%) и бактериемию (17%). В этиологии бактериемии грамотрицательные бактерии преобладали над грамположительными (53% против 47%). Ведущими возбудителями бактериемии были *Escherichia coli* (25%) и *Streptococcus* группы «viridans» (22%). Среди энтеробактерий ($n = 12$) продукция β -лактамаз расширенного спектра определялась у 42% изолятов. Частота инвазивных микозов (доказанный, вероятный, возможный) составила 23%. В структуре инвазивных микозов первую позицию занимал инвазивный аспергиллез (60%) с частотой 14% (в индукции 9%, в консолидации 6%). Таким образом, инфекционные осложнения преобладали в индукции и консолидации и были обусловлены как бактериями, так и грибами. В эру расширения диагностических возможностей среди показаний к назначению антибиотиков ведущей была клинически доказанная инфекция, далее следовала лихорадка неясной этиологии и микробиологически доказанная инфекция.

Ключевые слова: фебрильная нейтропения; острый лейкоз; бактериемия; инвазивный микоз.

Для цитирования: Охмат В.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Грибанова Е.О., Мальчикова А.О., Коробова А.Г., Фролова И.Н., Савченко В.Г. Спектр и этиология инфекционных осложнений у больных острыми миелоидными лейкозами на этапах индукции и консолидации ремиссии. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 9-15. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-9-15>

Okhmat V.A., Klyasova G.A., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Gribanova E.O., Malchikova A.O.,
Korobova A.G., Frolova I.N., Savchenko V.G.

SPECTRUM AND EPIDEMIOLOGY OF INFECTION COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA DURING INDUCTION AND CONSOLIDATION CHEMOTHERAPY

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

The aim of the study is to evaluate the spectrum and epidemiology of infectious complications in patients with acute myeloid leukemia (AML) during induction and consolidation chemotherapy. Prospective study (2013–2015) included 66 patients with *de novo* AML (median age: from 39 (17–64) years. Patients received 208 chemotherapy courses (94 inductions, 114 consolidations). Patients were followed up for 180 days. Most patients were admitted from other hospitals (89%). On admission hyperleukocytosis was revealed in 33% of patients, ECOG score 3–4 points had 65% of patients, 38% of patients had severe infections, including pneumonia (21%) and cellulitis (17%). The mean number of febrile neutropenic episodes (FNE) per patient was 2.9 (1–4). FNE occurred in 93% of chemotherapy courses (98% of induction chemotherapy and 93% of consolidation chemotherapy; OR = 5.9; $p = 0.01$). The majority of FNE were attributable to clinically documented infections (44%), followed by fever of unknown origin (39%) and bloodstream infection (BSI) (17%). Gram-negative and Gram-positive bacteria accounted for 53% and 47% of BSI pathogens, consequently. Most prevalent BSI isolates were *Escherichia coli* (25%) and *Streptococcus viridans* (22%). Among *Enterobacteriaceae* ($n = 12$) the production of β -lactamases of the extended spectrum was detected in 42% of positive isolates. Invasive mycoses (IM) were in 23% of patients. Invasive aspergillosis (IA) was the most frequent (60% of all invasive mycoses) (14% in the induction – 9%, 6% in the consolidation). Thus, infection complications were dominated both in the induction and consolidation and were caused by bacteria and fungi.

Key word: febrile neutropenia; acute leukemia; bloodstream infection; invasive mycoses.

For citation: Okhmat V.A., Klyasova G.A., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Gribanova E.O., Malchikova A.O., Korobova A.G., Frolova I.N., Savchenko V.G. Spectrum and epidemiology of infection complications in patients with acute myeloid leukemia during induction and consolidation chemotherapy. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2017; 62(1): 9-15. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-9-15>

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 17 January 2017

Accepted 10 February 2017

Частота инфекционных осложнений в период индукции и консолидации ремиссии у больных гемобластозами при реализации современных программ химиотерапии достигает 80–100% по причине прежде всего глубокой и продолжительной гранулоцитопении. Именно гранулоцитопения определяет ряд особенностей течения инфекций у больных опухолями системы крови, включающих скудные клинические проявления, стремительное развитие и высокую летальность в отсутствие адекватной антимикробной терапии. Инфекционный процесс в период гранулоцитопении принято объединять термином «фебрильная нейтропения», или «нейтропеническая лихорадка».

Раньше наиболее частым проявлением фебрильной нейтропии являлась лихорадка неясной этиологии, к которой относят только повышение температуры без каких-либо других проявлений инфекции. Реже встречались клинически и микробиологически доказанные инфекции. К клинически доказанным относят случаи инфекции, которые удается верифицировать с помощью физикальных или инструментальных методов диагностики при отсутствии микробиологического подтверждения. Наиболее частыми их проявлениями являются пневмония, инфекции мягких тканей и другие. Микробиологическим подтверждением инфекции в период гранулоцитопении в большинстве случаев является выделение микроорганизмов из гемокультуры.

В последнее время возможности по диагностике инфекционных осложнений существенно расширились как за счет внедрения новых и совершенствования ранее используемых методов диагностики, так и сокращения времени исследования в микробиологии благодаря введению в лабораторную практику автоматических анализаторов и новых технологий для идентификации микроорганизмов. В связи с этим характер инфекционных осложнений, следовательно, и показания к назначению противомикробных препаратов могут значительно отличаться от представленных ранее в литературе [1, 2].

Спектр микроорганизмов, ответственных за инфекционный процесс у больных гемобластозами, также претерпевает изменения. Среди возбудителей бактериемий имеется тенденция к увеличению доли грамотрицательных бактерий, а в структуре инвазивных микозов (ИМ) возрастает регистрация случаев инвазивного аспергиллеза [3].

Целью нашего исследования было изучить спектр и этиологию инфекционных осложнений у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) на разных этапах химиотерапии в эру расширения возможностей диагностики инфекций.

Материал и методы

В исследование были включены больные с впервые выявленными ОМЛ, госпитализированные в ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (ГНЦ, Москва) с 2013 по 2015 г. Больных наблюдали в течение 6 мес, что соответствовало первым

Для корреспонденции:

Клясова Галина Александровна, доктор мед. наук, профессор, заведующая научно-клинической лабораторией клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: klyasova.g@blood.ru.

For correspondence:

Klyasova Galina A., MD, PhD, DSc, prof., head of scientific clinical laboratory of clinical bacteriology, mycology and antibiotic therapy of National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: klyasova.g@blood.ru.

Information about authors:

Okhmat V.A., <http://orcid.org/0000-0002-6195-4508>, Researcher ID: M-7089-2014; Klyasova G.A., <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>, Researcher ID: M-6329-2014; Parovichnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>; Troitskaya V.V., <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>; Gribanova E.O., <http://orcid.org/0000-0002-4155-7820>; Malchikova A.O., <http://orcid.org/0000-0002-8725-5131>; Korobova A.G., <http://orcid.org/0000-0002-6268-5282>, ResearcherID: M-6469-2014; Frolova I. <http://orcid.org/0000-0001-9308-9259>, ResearcherID: M-7110-2014; Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>.

четырем основным этапам химиотерапии, включающим два курса индукции и два курса консолидации [4]. Больные резистентными формами ОМЛ были исключены из исследования, к ним относили случаи недостижения полной ремиссии после двух курсов индукции.

При поступлении в стационар больным проводили оценку тяжести состояния по шкале Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) [5].

При температуре выше 38 °C или выявлении очага инфекции назначали внутривенно антибиотики 1-го этапа (цефоперазон/сульбактам или пиперацillin/тазобактам). Модификацию противомикробной терапии проводили согласно результатам микробиологических исследований, а при персистирующей лихорадке неясной этиологии выполняли замену антибиотиков 1-го этапа на карбапенем (имипенем/циластин, меропенем или дорипенем).

При температуре от 38°C и более забирали кровь из вены и из центрального венозного катетера в 2 флакона («Becton-Dickinson», США) перед назначением антибиотиков, исследование повторяли через 5–7 дней при сохранении температуры более 38 °C. Компьютерную томографию (КТ) легких выполняли при наличии клинических признаков пневмонии или сохранении температуры более 38°C в течение 3–4-х суток. При пневмонии проводили бронхоскопию с исследованием жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) на бактерии и грибы.

Инкубирование флаконов с кровью проводили в автоматическом анализаторе для гемокультур (BD BACTEC FX, «Becton Dickinson», США). При наличии симптомов инфекции диагностически значимым считали однократное выделение из гемокультуры грамотрицательных микроорганизмов, а также таких грамположительных бактерий, как *Streptococcus* группы «viridans», *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus* spp. Выделение коагулазонегативных стафилококков и *Corynebacterium* spp. подтверждали двумя гемокультурами. Считали, что бактериемия вызвана сочетанием микроорганизмов, если два разных по виду микроорганизма были выделены из одной гемокультуры одновременно или из разных гемокультур с интервалом в 2 нед или менее.

Идентификацию микроорганизмов проводили методом время-пролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF-MS) на анализаторе Microflex («Bruker Daltonics», Германия). Продукцию β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) у энтеробактерий, полученных на хромогенной селективной среде CHROMagar™ESBL, подтверждали методом «двойных дисков» [6].

ИМ (доказанный, вероятный, возможный) диагностировали на основании критериев EORTC/MSG (European Organization for the Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group) [7]. Наличие гепатолиенального кандидоза у больных без кандидемии предполагали на основании выявления очагов в печени и/или селезенке по данным ультразвукового исследования или КТ с внутривенным контрастированием, или магнитно-резонансной томографии (МРТ) и получения положительного эффекта от назначения противогрибковых препаратов.

Мокроту, смывы из трахеи и бронхов, жидкость БАЛ исследовали на агаризованной среде Чапека или Сабуро. При появлении культуры грибов проводили их микроскопию и идентификацию. Мониторинг антигена *Aspergillus* (галактоманна) в сыворотке крови проводили 2 раза в неделю при гранулоцитопении с 3–4-го дня лихорадки. У всех больных с пневмонией определяли галактоманн в жидкости БАЛ. Исследование антигена *Aspergillus* в образцах сыворотки крови больных проводили методом иммуноферментного анализа (PLATELIA^o *Aspergillus*, «BioRad Laboratories», США). Антиген считали положительным при значениях индекса в сыворотке от 0,5 и выше, в жидкости БАЛ от 1,0 и выше.

Для проведения исследования была создана база данных. Все анализируемые параметры вносили в эту базу с последующей статистической обработкой полученных результатов с помощью программ Statistica и SPSS. Для сравнения качественных признаков применяли критерий χ^2 . При однофакторном анализе для оценки влияния факторов на вероятность развития события использовали метод соотношения шансов (Odds Ratio). Построение кривых выживаемости проводили по методике Каплана–Мейера. Статистически значимыми считали различия при степени вероятности безошибочного прогноза 95% ($p \leq 0,05$).

Результаты

В исследование были включены 66 больных ОМЛ (28 мужчин и 38 женщин) в возрасте от 17 до 64 лет (медиана 39 лет). Большинство больных (89%) были переведены из других стационаров и при поступлении в ГНЦ находились в тяжелом состоянии: статус 3–4 балла по шкале ECOG был у 65%

Таблица 1

Применение антибиотиков на этапах индукции и консолидации у больных ОМЛ

Показатель	Индукция	Консолидация	ОШ (95% ДИ)	p
Число курсов химиотерапии	94	114	–	
Схема химиотерапии:				
«7+3»	84 (89%)	84 (74%)	3 (1,4–6,5)	0,005
высокие и средние дозы цитарабина	3 (3%)	19 (17%)	6,1 (1,7–21,2)	0,001
малые дозы цитарабина	7 (8%)	9 (8%)	1,1 (0,4–3)	1
другие*	–	2 (2%)	–	0,5
Гранулоцитопения	92 (98%)	102 (90%)	5,4 (1,2–24,8)	0,02
Длительность гранулоцитопении, дни	39 (17–53)	12 (1–55)	–	< 0,0001
Перевод больных в ОРИТ	27 (29%)	1 (1%)	45,5 (6–342,8)	< 0,0001
Число эпизодов инфекции	92 (98%)	101 (89%)	5,9 (1,3–26,9)	0,01
Показания к назначению антибиотиков:				
клинически доказанная инфекция	46 (50%)	39 (39%)	1,6 (0,9–2,8)	0,15
пневмония	28 (30%)	16 (16%)	2,3 (1,2–4,7)	0,02
инфекция мягких тканей	18 (20%)	23 (23%)	1,2 (0,6–2,4)	0,6
лихорадка неясной этиологии	34 (37%)	41 (40%)	1,2 (0,7–2,1)	0,66
бактериemia	12 (13%)	21 (21%)	5,7 (2,1–15,8)	0,18

Примечание. * – другие – «5+5» (n = 1) и «5+Ц» (n = 1).

больных, гиперлейкоцитоз – у 33%, тяжелые инфекционные осложнения (пневмония у 21%, инфекция мягких тканей у 17%) – у 38%. Часть больных (9%) была госпитализирована в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) при поступлении в наш центр.

В течение 180 дней наблюдения 66 больным ОМЛ было проведено 208 курсов химиотерапии, из них 94 курса индукции (66 – 1-й курс индукции и 28 – 2-й курс индукции) и 114 курсов консолидации (32 – 2-й курс индукции, 46 – 1-й курс консолидации и 36 – 2-й курс консолидации). В курсы консолидации был включен 2-й курс индукции, если ремиссия острого лейкоза была достигнута после 1-го курса индукции. Таким образом, анализ инфекционных осложнений в консолидации проводили у всех больных в ремиссии острого лейкоза. На этапе индукции преобладали курсы химиотерапии по программе «7+3» (89%); на этапе консолидации – «7+3» (74%) и высокие дозы цитарабина (17%) (табл. 1).

Гранулоцитопения осложнила 93% (n = 194) курсов химиотерапии и преобладала на этапах индукции в сравнении с консолидацией (98% против 90%; ОШ 5,4; p = 0,02). На этапе

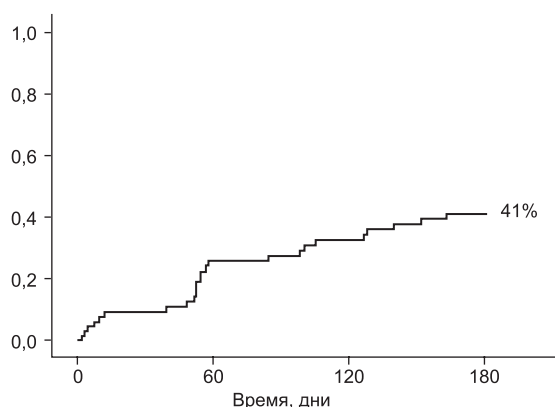


Рис. 1. Вероятность развития (180 дней) бактериемии у больных ОМЛ.

индукции медиана длительности гранулоцитопении была значимо больше, чем на этапе консолидации, и составила 39 против 12 дней; p < 0,0001. Необходимость перевода больных в ОРИТ возникла в 13% (n = 28) курсов химиотерапии, и этот показатель был статистически значимо выше на этапе индукции (29%) в сравнении с консолидацией (1%); p < 0,0001.

Среднее число эпизодов инфекции на одного больного составило 2,9 (от 1 до 4 эпизодов). Инфекционные осложнения регистрировали при проведении 193 (93%) из 208 анализируемых курсов химиотерапии, статистически значимо чаще на этапе индукции, чем на этапе консолидации (98% против 89%; ОШ 5,9; p = 0,01). Ведущим показанием к назначению антибиотиков была клинически доказанная инфекция (44%), реже регистрировали лихорадку неясной этиологии (39%) и бактериemia (17%).

На этапе индукции преобладала клинически доказанная инфекция (50%), а на этапе консолидации частота клинически доказанной инфекции и лихорадки неясной этиологии была сопоставимой (40% и 39%). Клинически доказанными инфекциями были пневмония (44, или 23%) и инфекция мягких тканей (41, или 21%). Пневмония чаще возникала на этапе индукции (30% против 16%; ОШ 2,3; p = 0,02), а бактериemia – в консолидации (21% против 13%, ОШ 5,7; p = 0,18). Вероятность развития бактериемии на 180-й день от первого поступления в ГНЦ у больных ОМЛ (n = 66) составила 41% (рис. 1). Медиана возникновения бактериемии от первого поступления в ГНЦ была 54 (2–168) дня.

В течение 6 мес было диагностировано 33 случая бактериемии, из них 30 (91%) случаев вызваны одним микроорганизмом и 3 (9%) – сочетанием бактерий. Всего было выделено 36 микроорганизмов, включая 19 (53%) грамотрицательных и 17 (47%) грамположительных бактерий. Ведущими возбудителями бактериемии были *Escherichia coli* (25%), *Streptococcus* группы «*viridans*» (22%), *Pseudomonas aeruginosa* (14%) и *Staphylococcus epidermidis* (8%) (табл. 2). Среди грамотрицательных бактерий преобладали *Escherichia coli* (48%), а среди грамположительных – *Streptococcus* группы «*viridans*» (47%).

Необходимо отметить, что грамотрицательные микроорганизмы выделяли из гемокультуры статистически значимо чаще на этапе консолидации, чем на этапе индукции (73% против 21%), а грамположительные бактерии – на этапе индукции (79% против 27%), p = 0,005. Основными возбудителями бактериемии в индукции были *Streptococcus* группы «*viridans*» (43%), а в консолидации – *Escherichia coli* (41%).

Таблица 2

Спектр возбудителей бактериемии на этапах индукции и консолидации у больных ОМЛ

Показатель	Индукция	Консолидация	Всего
Число микроорганизмов	14	22	36
<i>Escherichia coli</i>	–	9 (41%)	9 (25%)
<i>Streptococcus</i> группы « <i>viridans</i> »	6 (43%)	2 (9%)	8 (22%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (7%)	4 (18%)	5 (14%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 (7%)	2 (9%)	3 (8%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 (7%)	1 (5%)	2 (6%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 (7%)	1 (5%)	2 (6%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	2 (9%)	2 (6%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (7%)	–	1 (3%)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (7%)	–	1 (3%)
<i>Aeromonas veronii</i>	–	1 (5%)	1 (3%)
<i>Enterococcus faecium</i>	1 (7%)	–	1 (3%)
<i>Corynebacterium afermentans</i>	1 (7%)	–	1 (3%)

Таблица 3
Спектр инвазивных микозов на этапах индукции
и консолидации у больных ОМЛ

Показатель	Индукция	Консолидация	Всего
Число инвазивных микозов	9	6	15
Инвазивный аспергиллез:			
доказанный	6 (67%)	3 (50%)	9 (60%)
вероятный	5	1	6
возможный	1	1	2
Инвазивные микозы, вызван- ные дрожжевыми грибами:			
криптококкоз доказанный	—	1 (17%)	1 (7%)
гепатолиенальный	3 (33%)	2 (33%)	5 (33%)
кандидоз предполагаемый			

Среди энтеробактерий ($n = 12$) продукция БЛРС определялась у 5 (42%) изолятов, включая *Escherichia coli* ($n = 3$), *Klebsiella pneumoniae* ($n = 1$) и *Enterobacter cloacae* ($n = 1$).

ИМ (доказанный, вероятный и возможный) развились у 15 (23%) из 66 больных, из них у 9 в индукции и у 6 в консолидации (табл. 3). Частота ИМ, входящих в категорию «доказанный» и «вероятный», составила 12% ($n = 8$). В структуре ИМ первую позицию занимал инвазивный аспергиллез (60%), далее следовали гепатолиенальный кандидоз (33%) и криптококкоз (7%). Инвазивный аспергиллез преобладал в индукции ($n = 6$), но были зарегистрированы случаи у больных на этапе консолидации ($n = 3$). Частота инвазивного аспергиллеза (доказанный, вероятный и возможный) составила 14% (у 9 из 66 больных), в индукции — 9% (у 6 из 66 больных), в консолидации — 6% (у 3 из 48 больных). Среди больных, у которых инвазивный аспергиллез развился на этапе консолидации, были 2 больных после курсов высокодозной химиотерапии и 1 после стандартного курса «7+3». Медиана длительности гранулоцитопении у этих больных составила 32 (30–55) дня. У всех больных с инвазивным аспергиллезом, возникшим на этапе консолидации, ремиссия ОМЛ была достигнута после 1-го курса индукции.

Медиана развития инвазивного аспергиллеза от первой госпитализации в ГНЦ составила 49 (7–165) дней, гепатолиенального кандидоза — 63 (23–77) дня. Случай позднего развития инвазивного аспергиллеза (165-й день от первой госпитализации в ГНЦ) возник у больного без ремиссии острого лейкоза. Вероятность возникновения инвазивного аспергиллеза у больных ОМЛ ($n = 66$) на 180-й день составила 14,5% (рис. 2).

Обсуждение

Реализация современных программ химиотерапии у больных гемобластомами сопряжена с развитием инфекционных осложнений, и на одного больного приходится от 2,36 до 3,7 эпизода фебрильной нейтропении [8, 9]. В нашем исследовании также было зарегистрировано в среднем 2,9 эпизода инфекции за 180 дней наблюдения у больных ОМЛ.

Преобладание инфекционных осложнений у больных ОМЛ в сравнении с другими вариантами острых лейкозов было показано в многоцентровом проспективном исследовании, включавшем 3197 больных гемобластомами на разных этапах химиотерапии [10]. По частоте развития инфекций на первом месте были больные ОМЛ (69,4%), на втором — острыми лимфобластными лейкозами — ОЛЛ (32,6%), на третьем — неходжкинскими лимфомами (14%), далее следовали больные с другими вариантами гемобластозов (0,9–8,9%).

Частота инфекционных осложнений у больных ОМЛ, представленная в данной работе, была выше и составила 93%. Вероятнее всего, полученные нами данные были обусловлены включением в анализ только наиболее интенсивных этапов химиотерапии (индукция и консолидация ремиссии) и как следствие более глубокими и длительными периодами гранулоцитопении. На этапе индукции в сравнении с консоли-

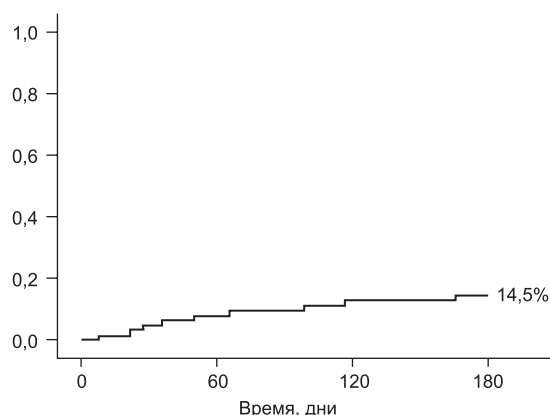


Рис. 2. Вероятность развития (180 дней) инвазивного аспергиллеза у больных ОМЛ.

дацией статистически значимо чаще и продолжительнее была гранулоцитопения (96% против 90%; 39 против 12 дней), что коррелировало с большей частотой инфекций (98% против 89%; ОШ 5,9; $p = 0,01$).

Гранулоцитопенией обусловлено нередкое отсутствие ярких клинических проявлений инфекции и невозможность применения в некоторых случаях инвазивных методов диагностики, что существенно затрудняет верификацию очага и возбудителя инфекции. В связи с этим долгое время наиболее частым проявлением инфекционного процесса в период гранулоцитопении служила лихорадка неясной этиологии, тогда как клинически и микробиологически доказанные инфекции регистрировали существенно реже. В работе из MD Anderson Cancer Center (США) [1] был представлен анализ 3090 эпизодов нейтропенической лихорадки с 1975 по 1993 г., из которых в разные периоды исследования 47–58% были обусловлены лихорадкой неясной этиологии, 17–22% — клинически доказанной инфекцией, 25–31% — микробиологически доказанной инфекцией.

Сопоставимые данные получены и в российском проспективном многоцентровом исследовании применения антибиотиков в лечении 66 эпизодов инфекции у 56 больных ОМЛ (1998 г.) [2]. Частота лихорадки неясной этиологии составила 51,5%, клинически доказанной инфекции — 38%, а микробиологически доказанной инфекции (бактериемии) — 10,5%.

При сравнении с работами раннего периода мы получили иные результаты, и ведущим показателем к назначению антибиотиков была клинически доказанная инфекция (44%); реже регистрировали лихорадку неясной этиологии (39%) и бактериемию (17%). Преобладание клинически и микробиологически доказанных инфекций над лихорадкой неясной этиологии у больных с фебрильной нейтропенией можно объяснить расширением современных диагностических возможностей за счет введения новых и совершенствования старых методов лабораторной и инструментальной диагностики инфекционных осложнений (автоматические анализаторы гемокультур, масс-спектрометрия, определение галактоманнана, КТ высокого разрешения и др.). В многоцентровом исследовании из Италии, опубликованном в 2011 г. и включавшем 528 случаев лихорадки у 747 больных ОМЛ, было также показано преобладание клинически и микробиологически доказанных инфекций над лихорадкой неясной этиологии (56,6% против 39,3%) [11]. Позже, в 2015 г., те же авторы представили данные по этиологии 227 эпизодов лихорадки у 147 больных ОЛЛ [12]. В этом исследовании первую позицию среди инфекционных осложнений занимала микробиологически доказанная инфекция (59%), далее следовали лихорадка неясной этиологии (34%) и клинически доказанная инфекция — 9%. В этиологии инфекций преобладали бактерии ($n = 90$), далее следовали грибы ($n = 20$) и вирусы ($n = 6$). В 13 случаях было выявлено сочетание микроорганизмов, в основном бактерий и грибов (в 12 из 13).

В большинстве случаев микробиологическим подтверждением инфекции в период гранулоцитопении служит выделе-

ние бактерий из гемокультуры. Спектр микроорганизмов, ответственных за развитие бактериемии у больных гемобластозами, периодически претерпевает изменения. В 1970-е годы преобладали грамотрицательные микроорганизмы, в 1990-е годы – грамположительные, а в настоящее время вновь появилась тенденция к увеличению грамотрицательных микроорганизмов, среди которых ведущую позицию занимают бактерии семейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. и др.), а также неферментирующие микроорганизмы (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* и др.) [13]. Причем для возбудителей инфекций у больных гемобластозами, в особенности для грамотрицательных бактерий, характерно наличие резистентности ко многим современным антибиотикам. Преобладание в этиологии бактериемии грамотрицательных бактерий и высокая частота их антибиотикорезистентности были отмечены в исследовании из университетского госпиталя Анкары, включавшего 536 случаев бактериемии у 281 больного гемобластозами [14]. Грамотрицательные микроорганизмы были выделены в 52,6% случаев бактериемии, грамположительные – в 35,6%, сочетание микроорганизмов – в 11,6%. Ведущими грамотрицательными бактериями были *Escherichia coli* (17,3%), *Klebsiella* spp. (11%), *Acinetobacter* spp. (7,1%) и *Pseudomonas aeruginosa* (6,7%). Частота продукции БЛРС среди *Escherichia coli* и *Klebsiella* spp. составила 45 и 23% соответственно. Устойчивость к цефтазидиму была выявлена у 28% изолятов *Pseudomonas aeruginosa*.

Аналогичные результаты получены и в многоцентровом проспективном исследовании из Италии среди больных гемобластозами, где было проанализировано 575 эпизодов бактериемии, из которых 14,4% случаев были вызваны сочетанием двух и более микроорганизмов [15]. Грамотрицательные бактерии составили 52,8%, а грамположительные – 46,6%. Основными грамотрицательными бактериями были *Escherichia coli* (52,9%), *Pseudomonas aeruginosa* (18,7%) и *Klebsiella pneumoniae* (12,2%). Резистентность к цефалоспорином III поколения была выявлена у 36,9% из 265 изолятов энтеробактерий. Устойчивыми к меропенему были 20,9% грамотрицательных бактерий, включая 71,2% изолятов *Pseudomonas aeruginosa* и 34,1% изолятов *Klebsiella pneumoniae*. Резистентными к трем и более антибиотикам из разных групп антимикробных препаратов с антисептической активностью были 69,7% изолятов *Pseudomonas aeruginosa*.

В России, по данным многоцентрового исследования 640 возбудителей бактериемии у больных гемобластозами, также отмечены некоторое преобладание грамотрицательных бактерий над грамположительными (48% против 46%) и высокая частота (36%) продукции БЛРС среди энтеробактерий [16]. Причем дальнейшее накопление материала выявило увеличение количества энтеробактерий, продуцирующих БЛРС с 36 до 43% [3].

Что касается грамположительных бактерий, как уже было указано ранее, их частота в этиологии инфекций у больных гемобластозами снизилась за последние годы. В спектре бактериемий, вызванных грамположительными бактериями, преобладают коагулазонегативные стафилококки, а среди них *Staphylococcus epidermidis* [13, 16]. В последнее время регистрируется увеличение числа стрептококковых инфекций, причем частота *Streptococcus pneumoniae* при этом незначительна, в основном это представители стрептококков группы “*viridans*”, среди которых чаще встречаются *Streptococcus mitis* и *Streptococcus sanguis*. Частота выделения их была вариabельной в течение 1980–1990-х годов. Однако в настоящее время микроорганизмы этой группы устойчиво занимают ведущие позиции в этиологической структуре сепсиса среди грамположительных патогенов после коагулазонегативного стафилококка у больных с гранулоцитопенией [17]. Инфекции, вызванные *Staphylococcus aureus*, частые в 1970-х годах, в настоящее время регистрируются реже [13].

В ряде клиник энтерококки при септицемии занимают третье место, при этом штаммы *Enterococcus faecium* доминируют над штаммами *Enterococcus faecalis*. Наряду с увеличением частоты инфекций, обусловленных *Enterococcus* spp., отмечается явный рост резистентности их к антибиотикам,

особую тревогу вызывает устойчивость к ванкомицину [18]. Ванкомициноустойчивые штаммы *Enterococcus faecium* способны вызывать вспышки инфекции в стационаре и характеризуются тяжелым течением инфекционного процесса [19].

Полученные нами результаты по этиологии бактериемии у больных гемобластозами сопоставимы с мировыми тенденциями: среди возбудителей бактериемии грамотрицательные микроорганизмы преобладали над грамположительными (53% против 47%), продукция БЛРС определялась у 42% изолятов энтеробактерий. Следует отметить, что грамотрицательные микроорганизмы выделяли из гемокультуры статистически значимо чаще на этапе консолидации преимущественно за счет преобладания *Escherichia coli* (41%), в то время как выделение грамположительных бактерий превалировало в индукции в основном благодаря *Streptococcus* группы “*viridans*” (43%). Одним из ведущих механизмов развития бактериемии у больных гемобластозами является транслокация микроорганизмов со слизистой оболочки кишечника в кровоток. Можно предположить, что преобладание грамотрицательных микроорганизмов в этиологии бактериемии на более поздних этапах химиотерапии (в консолидации) обусловлено селекцией более резистентных к антибиотикам микроорганизмов при длительном пребывании больных в стационаре.

Вторыми по частоте возбудителями инфекционных осложнений после бактерий у больных острыми лейкозами являются грибы. Их частота в этиологии инфекций непрерывно возрастает, изменилось соотношение между микроорганизмами. В настоящее время в структуре ИМ преобладают плесневые грибы, ведущими среди которых являются *Aspergillus* spp. По данным ретроспективного анализа 538 случаев ИМ (доказанных и вероятных) у 11 802 больных гемобластозами из 18 гематологических отделений Италии, частота ИМ во всей анализируемой группе составила 4,6% ($n = 538$), наиболее высокая была среди больных ОМЛ (12%) и ОЛЛ (6,5%) [20]. Среди ИМ преобладали инвазивный аспергиллез (58%) и кандидемия (33%). В двух других проспективных многоцентровых исследованиях в Италии такая частота ИМ была подтверждена (12,4% у больных ОМЛ, 4% у больных ОЛЛ) [11, 12]. В этиологии ИМ плесневые грибы преобладали над дрожжевыми в обеих группах больных (86% против 14% у больных ОМЛ и 70% против 30% у больных ОЛЛ).

Вторую позицию в структуре возбудителей ИМ занимают дрожжевые грибы рода *Candida*. Частота инвазивного кандидоза снизилась за последнее десятилетие в связи с широким использованием азолов в целях профилактики. В то же время профилактическое использование азолов привело к увеличению доли штаммов *Candida non-albicans* и появлению резистентности к этим препаратам. В ГНЦ с 2008 по 2013 г. было проведено изучение кандидемии у 55 больных гемобластозами, среди которых преобладали больные лимфомами (47%) и острыми лейкозами (27%) [21]. Основными возбудителями кандидемии были *Candida albicans*, однако их доля в структуре возбудителей кандидемии составила лишь 38%, далее следовали *Candida parapsilosis* (17%), *Candida krusei* (11%).

Помимо глобальной эпидемиологии, существуют локальные особенности этиологической структуры ИМ в разных странах, которые зависят как от климатических, так и от социально-экономических параметров отдельно взятых регионов. По результатам многоцентрового проспективного исследования, проведенного в 8 стационарах Бразилии и включавшего 700 больных, кумулятивная частота доказанных и вероятных ИМ в течение 1 года была статистически значимо выше у больных миелодиспластическими синдромами (МДС) и ОМЛ (18,7%), чем у больных после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) аллогенных (11,3%) и ТГСК аутологичных (1,9%); $p < 0,001$ [22]. В структуре ИМ (всего 66 случаев) ведущие позиции занимали фузариоз ($n = 23$) и аспергиллез ($n = 20$), затем – кандидоз ($n = 11$) и гистоплазмоз ($n = 8$). Кумулятивная частота фузариоза в группе больных с ТГСК аллогенных, ТГСК аутологичных, ОМЛ/МДС составила 5,2; 0,6 и 3,8% соответственно. Кумулятивная частота инвазивного аспергиллеза была 2,3% у реципиентов ТГСК аллогенных и 13,4% у больных ОМЛ/МДС. Неожиданно

высокую частоту фузариоза авторы объясняли повышенным содержанием *Fusarium* spp. в окружающей среде (в почве), что, по-видимому, обусловлено климатическими особенностями региона. Авторы исследования отмечают, что реальная частота инвазивного аспергиллеза выше, так как немалое число случаев ($n = 42$) было классифицировано как возможный инвазивный аспергиллез ввиду отсутствия микологического подтверждения и не вошло в данный анализ.

С 2012 по 2014 г. было проведено первое в Российской Федерации многоцентровое проспективное исследование эпидемиологии ИМ у 808 больных гемобластомами из 19 гематологических отделений страны [23]. Частота ИМ (доказанный, вероятный, возможный) у больных *de novo* ОМЛ и ОЛЛ составила 16,4 и 9% соответственно. В этиологии ИМ первую позицию занимал аспергиллез, вторую – дрожжевые грибы.

В нашем исследовании частота ИМ была выше и составила 23%. Проведенный анализ включал больных с возможным инвазивным аспергиллезом и предполагаемым гепатолиенальным кандидозом. Вполне очевидно, что исключение из исследования случаев ИМ, которые не подтверждены микологически, может привести к существенной недооценки их реальной частоты. При учете только доказанных и вероятных случаев ИМ их частота была почти в 2 раза ниже и составила 12%. Первую позицию в спектре ИМ с частотой 14% занимал инвазивный аспергиллез. Его диагностика преобладала в индукции (9%). Тем не менее следует отметить немалую частоту инвазивного аспергиллеза на этапе консолидации (6%), которая, вероятно, обусловлена преобладанием на этом этапе лечения высокоинтенсивных программ химиотерапии и как следствие, наличием у больных глубокой и продолжительной гранулоцитопенией.

Таким образом, наше исследование показало, что частота инфекций у больных ОМЛ в период проведения современных высокоинтенсивных программ химиотерапии остается очень высокой. Проблема инфекционных осложнений актуальна не только в индукции, но и в консолидации по причине наличия у больных на обоих этапах лечения глубокой и продолжительной гранулоцитопенией. Причем данный факт касается как инфекций, вызванных бактериями, так и грибами, ведущими среди которых являются аспергиллы.

Среди показаний к назначению антимикробных препаратов преобладала клинически доказанная инфекция, в то же время благодаря широкому применению современных диагностических методов уменьшилась частота назначений антимикробных препаратов в связи с лихорадкой неясной этиологии. Тем не менее, несмотря на существенный прогресс в диагностике инфекционных осложнений, не всегда удается верифицировать их этиологию. Наше исследование показало, что немалое число случаев ИМ входит в категорию «возможный», а исключение их из анализа может привести к существенной недооценке реальной частоты ИМ и как следствие, явиться причиной увеличения частоты неблагоприятных исходов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Клясова Г.А., Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Исаев В.Г., Толкачева Т.В., Маслова Е.Р. и др. Эмпирическая антимикробная терапия у больных острыми лейкозами: итоги многоцентрового исследования. *Терапевтический архив*. 1998; 70(7): 15–21.
- Клясова Г.А. Инфекции при гемобластозах и депрессиях кроветворения: клиника, диагностика и лечение: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2009.
- Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Афанасьев Б.В., Грицаев С.В., Семочкин С.В., Бондаренко С.Н. и др. Клинические рекомендации российских экспертов по лечению больных острыми миелоидными лейкозами в возрасте моложе 60 лет. *Терапевтический архив*. 2014; 86(7): 4–13.
- Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Методические указания МУК 4.21890-04). *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2004; 6(4): 306–59.
- Клясова Г.А., Сперанская Л.Л., Миронова А.В., Масчан М.А., Байдилядина Д.Д., Верещагина С.А. и др. Возбудители сепсиса у иммунокомпрометированных больных: структура и проблемы антибиотикорезистентности (результаты многоцентрового исследования). *Гематология и трансфузиология*. 2007; 52(1): 11–8.

- Панина М.В., Клясова Г.А., Новичкова Г.А., Мякова Н.В., Литвинов Д.В., Байдилядина Д.Д. и др. Этиологическая структура бактериальной инфекции у детей с онкогематологическими заболеваниями и депрессиями кроветворения в многопрофильной больнице «университетского» типа. *Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2014; 13(3): 49–56.
- Хрульнова С.А., Федорова А.В., Клясова Г.А. Генны вирулентности у штаммов *Enterococcus* spp., выделенных из гемокультуры у больных опухолями системы крови в России. *Иммунопатология, Аллергология, Инфектология*. 2016; 1: 78–82. doi: 10.14427/jipai.2016.1.78.
- Клясова Г.А., Блохина Е.В., Грачева А.Н., Кравченко С.К., Паровичникова Е.Н., Охмат В.А. и др. Факторы, влияющие на излечение у больных гемобластомами и кандидемией. *Терапевтический архив*. 2015; 87(7): 77–87.
- Клясова Г.А., Охмат В.А., Васильева В.А., Попова М.О., Капорская Т.С., Свешникова Ю.В. и др. Инвазивные микозы у больных острыми лейкозами и у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток. Результаты многоцентрового проспективного наблюдательного исследования в России (RIFI). *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(1, Suppl. 1): 19.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Rolston K.V.I., Raad I., Whimbey E., Bodey G.P. The changing spectrum of bacterial infections in febrile neutropenic patients. In: Klaster-sky J.A., eds. *Febrile Neutropenia*. Berlin: Springer; 1997: 53–6. doi: 10.1007/978-3-642-60443-0.
- Klyasova G.A., Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Isaev V.G., Tolkacheva T.V., Maslova E.R., et al. Empirical antibiotic therapy in patients with acute leukemia: results of a multicenter trial. *Therapeutic archive. Russian Journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 1998; 70(7): 15–21. (in Russian)
- Klyasova G. A. Infections in patients with hematological malignancies: clinical features, diagnosis and treatment. Dis. Moscow; 2009. (in Russian)
- Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Afanasyev B.V., Gritsaev S.V., Semochkin S.V., Bondarenko S.N., 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)
- Oken M.M., Creech R.H., Tormey D.C., Horton J., Davis T.E., McFadden E.T., et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am. J. Clin. Oncol.* 1982; 5(6): 649–55.
- Guidelines for Susceptibility testing of microorganisms to antibacterial agents. *Clinical Microbiology and antimicrobial chemotherapy. Russian Journal (Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Himioterapiya)*. 2004; 6(4): 306–59. (in Russian)
- De Pauw B., Walsh T.J., Donnelly J.P., Stevens D.A., Edwards J.E., Calandra T., et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European organization for research and treatment of cancer/invasive fungal infections cooperative group and the national institute of allergy and infectious diseases mycoses study group (EORTC/MSG) consensus group. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46(12): 1813–21. doi: 10.1086/588660.
- Bodey G.P., Rodriguez V., Chang H.Y., Narboni G. Fever and infection in leukemic patients. A study of 494 consecutive patients. *Cancer*. 1978; 41(4): 1610–22. doi:10.1002/1097-0142(197804)41:4<1610::AID-CNCR2820410452>3.0.CO;2-B.
- Pizzo P.A., Robichaud K.J., Wesley R., Commers J.R. Fever in the pediatric and young adult patient with cancer: a prospective study of 1001 episodes. *Medicine*. 1982; 61(3): 153–65.
- Pagano L., Caira M., Rossi G., Tumbarello M., Fanci R., Garzia M.G., et al. A prospective survey of febrile events in hematological malignancies. *Ann. Hematol.* 2012; 91(5): 767–74. doi: 10.1007/s00277-011-1373-2.
- Pagano L., Caira M., Nosari A., Rossi G., Viale P., Aversa F., et al. Etiology of febrile episodes in patients with acute myeloid leukemia: results from the Hema e-Chart Registry. *Arch. Intern. Med.* 2011; 171(16): 1502–3.
- Di Blasi R., Lewis E.R., Busca A., Candoni A., Caramatti C., Cattaneo C., et al. Seifem B 2012. A prospective, multicenter, observational study on febrile events in acute lymphoblastic leukaemia. In: Infections in patients with cancer and/or stem cell transplantation: Proc. 25th European Congress of Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2015, Apr. 25–28; Copenhagen. Available at: https://www.escomid.org/escomid_publications/escomid_elibrary/material/?mid=21027 (accessed 12 Jan 2017).
- Mikulska M., Viscoli C., Orasch C., Livermore D.M., Averbuch D., Cordonnier C., et al. Aetiology and resistance in bacteraemias among adult and paediatric haematology and cancer patients. *J. Infect.* 2013; 68(4): 321–31. doi: 10.1016/j.jinf.2013.12.006.
- Kara Ö., Zarakolu P., Aşçıoğlu S., Etgül S., Uz B., Büyükaşık Y., et al. Epidemiology and emerging resistance in bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Infect. Dis.* 2015; 47(10): 686–93. doi:10.3109/23744235.2015.1051105.
- Trecarichi E.M., Pagano L., Candoni A., Pastore D., Cattaneo C., Fanci R., et al. Current epidemiology and antimicrobial resistance data for bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies: an Italian multicentre prospective survey. *Clin. Microbiol. Infect.* 2015; 21(4): 337–43. doi:10.1016/j.cmi.2014.11.022.
- Klyasova G.A., Speranskaya L.L., Mironova A.V., Maschan M.A., Baydildina D.D., Vereshchagina S.A., et al. The pathogens causing sepsis

- in immunocompromized patients: structure and problems of antibiotic resistance. Results of a multi-center cooperative study. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2007; 52(1): 11–8. (in Russian)
17. Panina M.V., Klyasova G.A., Novichkova G.A., Myakova N.V., Litvinov D.V., Baidildina D.D., et al. Etiological structure of bacteremias in children with oncohematological diseases and bone marrow failure syndromes in a “University type” multiprofile hospital. *Pediatric Haematology, Oncology and Immunopathology. Russian Journal (Voprosy Gematologii, Onkologii i Immunopatologii v Pediatrii)*. 2014; 13(3): 49–56. (in Russian)
18. Khrulnova S.A., Fedorova A.V., Klyasova G.A. Virulence genes in *Enterococcus* spp. strains, isolated from blood cultures of patients with hematological malignancies in Russia. *Immunopathology, Allergology, Infectology. Russian Journal*. 2016; 1: 78–82. doi:10.14427/jipai.2016.1.78. (in Russian)
19. Brilliantova A.N., Klyasova G.A., Mironova A.V., Tishkov V.I., Novichkova G.A., Bobrykina V.O., et al. Spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in two haematological centres in Russia. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2010; 35(2): 177–81. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.10.006.
20. Pagano L., Caira M., Candoni A., Offidani M., Fianchi L., Martino B., et al. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica*. 2006; 91(8): 1068–75.
21. Klyasova G.A., Blokhina E.V., Gracheva A.N., Kravchenko S.K., Parovichnikova E.N., Okhmat V.A., et al. Factors influencing recovery in patients with hemoblastoses and candidemia. *Therapeutic archive. Russian Journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2015; 87(7): 77–87. (in Russian)
22. Nucci M., Garnica M., Gloria A.B., Leheguez D.S., Dias V.C., Palma L.C., et al. Invasive fungal diseases in haematopoietic cell transplant recipients and in patients with acute myeloid leukaemia or myelodysplasia in Brazil. *Clin. Microbiol. Infect.* 2013; 19(8): 745–51. doi: 10.1111/1469-0691.12002.
23. Klyasova G.A., Okhmat V.A., Vasilyeva V.A., Popova M.O., Kaporskaya T.S., Sveshnikova U.V., et al. Invasive mycoses in patients with acute leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients. Results of prospective observational multicenter study in Russia (RIFI). *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2016; 61(1, Suppl. 1): 19. (in Russian)
- Поступила 17.01.17
Принята к печати 10.02.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616-006.448-085.361.4-13.3-037

Баторов Е.В., Тихонова М.А., Крючкова И.В., Сергеевичева В.В., Сизикова С.А.,
Ушакова Г.Ю., Гилевич А.В., Останин А.А., Черных Е.Р.

ДИНАМИКА ВОССТАНОВЛЕНИЯ CD4⁺FOXP3⁺ Т-КЛЕТОК ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
630099, г. Новосибирск, Россия

Работа посвящена изучению особенностей восстановления CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток периферической крови после высокодозной химиотерапии (ВХТ) с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) у больных множественной миеломой (ММ) и оценке прогностической значимости CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток в течение посттрансплантационного периода. Содержание циркулирующих CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток было исследовано у 59 больных ММ, которым проводили ВХТ с ауто-ТГСК. Количество CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток оценивали методом проточной цитометрии до ВХТ с ауто-ТГСК на момент выхода из лейкопении через 6 и 12 мес. Количество CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток полностью восстанавливалось и значительно превышало исходную концентрацию ко дню выхода из лейкопении. В последующем (в течение года) их относительное содержание постепенно снижалось до нормы. Анализ взаимосвязи CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток с исходами ауто-ТГСК показал, что больные с рецидивом ММ в течение первых 12 мес после ауто-ТГСК различались значимо более высоким относительным содержанием CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток на момент выхода из лейкопении. Проведение анализа характеристических кривых (receiver operating characteristic – ROC) выявило высокую прогностическую значимость оценки CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток как предиктора раннего развития рецидива заболевания после ВХТ с ауто-ТГСК. Таким образом, количество циркулирующих CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток после ауто-ТГСК восстанавливается быстро и полностью. Развитие раннего рецидива заболевания после ВХТ с ауто-ТГСК ассоциировано с более высоким содержанием CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток ко времени выхода из лейкопении. Повышенное содержание этих клеток позволяет прогнозировать развитие рецидива ММ в раннем посттрансплантационном периоде.

Ключевые слова: множественная миелома; трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток; CD4⁺FOXP3⁺ Т-клетки; рецидив.

Для цитирования: Баторов Е.В., Тихонова М.А., Крючкова И.В., Сергеевичева В.В., Сизикова С.А., Ушакова Г.Ю., Гилевич А.В., Останин А.А., Черных Е.Р. Динамика восстановления CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток у больных множественной миеломой. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 15-19. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-15-19>

Batorov E.V., Tikhonova M.A., Kryuchkova I.V., Sergeevicheva V.V., Sizikova S.A.,
Ushakova G.Yu., Gilevich A.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R.

RECOVERY OF CD4⁺FOXP3⁺ T CELLS IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA AFTER AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, 630090, Russian Federation

We have investigated the dynamics of post-transplant recovery of CD4⁺FOXP3⁺ T cells in patients with multiple myeloma (MM). The relationship between CD4⁺FOXP3⁺ T cell counts and clinical outcomes of MM patients after high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation (AH SCT) also has been evaluated. Fifty-nine patients were included in the study. The content of circulating CD4⁺FOXP3⁺ T cells has been assessed with the use of flow cytometry before AH SCT, at the day of engraftment, and 6 and 12 months later. After AH SCT the relative count of CD4⁺FOXP3⁺ T cells in MM patients restored rapidly, it became higher than initial level at the day of engraftment and then subsequently decreased for a 1 year to values in healthy donors. A

relative count of CD4⁺FOXP3⁺ T cells at the time of engraftment increased in patients with relapsed disease during 12 months after AHSCT. Receiver operating characteristic (ROC) analysis showed that evaluation of CD4⁺FOXP3⁺ T cells at the day of engraftment allowed to predict the early relapse of MM after AHSCT.

Key words: multiple myeloma; autologous hematopoietic stem cell transplantation; CD4⁺FOXP3⁺ T cells; relapse.

For citation: Batorov E.V., Tikhonova M.A., Kryuchkova I.V., Sergeevicheva V.V., Sizikova S.A., Ushakova G.Yu., Gilevich A.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Recovery of CD4⁺FOXP3⁺ T cells in patients with multiple myeloma after autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(1): 15-19. (in Russian). doi: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-15-19>

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 24 November 2016

Accepted 10 February 2017

Множественная миелома (ММ) представляет собой опухолевое заболевание, возникающее в результате пролиферации в костном мозге клона предшественников В-лимфоцитов, которые сохраняют способность к дифференцировке до плазматических клеток и в большинстве случаев продуцируют патологический моноклональный иммуноглобулин. Заболеваемость ММ составляет 1% от всех случаев онкологических заболеваний, до 10–15% опухолей системы крови [1]. Благодаря развитию и внедрению фармакологических препаратов (бортезомиб, леналидомид) и высокодозной химиотерапии (ВХТ) с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) медиана общей выживаемости больных увеличилась до 5–7 лет, однако рецидив и прогрессия заболевания неизбежны [2].

В основе неконтролируемого роста клона В-клеток при ММ лежат количественные и структурные генетические изменения. Развитие болезни ассоциировано со сложными и малоизученными взаимодействиями между опухолевыми клетками, стромальным микроокружением костного мозга и иммунокомпетентными клетками [3]. Избегание малигнизированными В-клетками иммунного надзора при лимфопролиферативных заболеваниях опосредуется многообразными механизмами, среди которых существенную роль отводят регуляторным Т-клеткам (Трег), способным подавлять активность субпопуляций эффекторных лимфоцитов [4–6]. Однако данные исследований, посвященных изменению содержания и функциональной активности Трег при ММ, остаются противоречивыми. Описано как снижение [7], так и увеличение [8, 9] содержания Трег при ММ, а также отсутствие количественных изменений [10] по сравнению со здоровыми лицами. Отдельные исследователи находили связь между повышением количества Трег и развитием рецидива [9, 11], в других работах подобных ассоциаций не выявлено [8, 10].

Для корреспонденции:

Баторов Егор Васильевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», 630099, г. Новосибирск, Россия. E-mail: Ebatorov@mail.ru.

For correspondence:

Batorov Egor V., MD, PhD, researcher, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, 630090, Russian Federation. E-mail: Ebatorov@mail.ru.

Information about authors:

Batorov E.V., <http://orcid.org/0000-0003-2902-9336>, Scopus Author ID 35768879800; Tikhonova M.A., <http://orcid.org/0000-0002-2366-1667>, Scopus Author ID 35508779900; Kryuchkova I.V., <http://orcid.org/0000-0001-9981-0617>, Scopus Author ID 6506011822; Sergeevicheva V.V., <http://orcid.org/0000-0002-0792-1951>, Scopus Author ID 54881246800; Sizikova S.A., <http://orcid.org/0000-0001-7109-3839>, Scopus Author ID 6506084173; Ushakova G.Yu., <http://orcid.org/0000-0003-1822-6326>, Scopus Author ID 65628086500; Gilevich A.V., <http://orcid.org/0000-0002-0792-3110>, Scopus Author ID 6602933794; Ostanin A.A., <http://orcid.org/0000-0001-6895-938X>; Chernykh E.R., <http://orcid.org/0000-0003-2346-6279>, ResearcherID: K-1052-2014.

Роль Трег как модулятора противоопухолевого иммунного ответа, по-видимому, значительно возрастает после ауто-ТГСК. ВХТ истощает опухолевый клон и приводит к длительной лимфопении и связанной с ней периферической экспансии лимфоцитов. При этом большинство авторов сходятся на том, что, в отличие от основного пула Т-лимфоцитов, на восстановление которого требуется около 1 года, процентное и абсолютное содержание Трег может достигать относительно высоких значений в ближайшие месяцы после трансплантации [12–14].

Восстановление Трег после ауто-ТГСК описано для ММ, однако данные о связи с течением заболевания после трансплантации зачастую прямо противоположны. Показано как постепенное снижение повышенного содержания Трег у больных ММ в ремиссии после трансплантации [8], так и их увеличение до значений здоровых доноров при исходно сниженном относительном количестве [13]. Настоящая работа была посвящена изучению динамики восстановления CD4⁺FOXP3⁺ Трег у больных ММ в условиях длительной лимфопении после ВХТ с ауто-ТГСК и взаимосвязи между количеством Трег и течением посттрансплантационного периода.

Материал и методы

В исследование были включены 59 больных ММ (29 мужчин и 30 женщин), которым в период с 2009 по 2016 г. проводили ВХТ с ауто-ТГСК на базе клиники иммунопатологии НИИФКИ. Согласно классификации Durie–Salmon (1975) [15], у 3 больных выявлена I стадия ММ, у 22 – II стадия, у 34 – III стадия болезни. По статусу заболевания перед ауто-ТГСК полная ремиссия наблюдалась у 21 больного, частичная ремиссия – у 31, резистентное течение или прогрессия – у 7. Медиана возраста составляла 49 лет (32–64 года), медиана наблюдения 21 мес (3,5–57,5 мес). В качестве группы сравнения было обследовано 38 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту.

Режим мобилизации включал использование высоких доз циклофосфида (4 г/м²; n = 47) либо курс химиотерапии (CAV, n = 4; DCEP, n = 7; EDAP, n = 1) и препарат Г-КСФ (5–10 мкг/кг в день), режим кондиционирования – мелфалан 140–200 мг/м². Процедуру афереза проводили на сепараторах клеток крови ASTEC 204 (Fresenius) и Spectra LRS 07 (COBE) после достижения в периферической крови концентрации 1×10^6 CD34⁺CD45⁺ клеток/мл и продолжали до получения не менее $2,0 \times 10^6$ CD34⁺CD45⁺ клеток/кг. Медиана CD34⁺CD45⁺ гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) составляла $4,48 \times 10^6$ /кг (2,49–16,9 $\times 10^6$ /кг).

Забор крови и все иммунологические исследования проводили после получения письменного информированного согласия больного. Исследование CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток проводили у больных до ауто-ТГСК (перед началом кондиционирования, n = 31), после ауто-ТГСК в день выхода из лейкопении (лейкоциты более 1×10^9 /л, в среднем на 14-й день, n = 40), через 6 мес (n = 22) и 12 мес (n = 14). Число больных на контрольных точках варьировало в связи с невозможностью в ряде случаев получить образцы крови. В исследование не были включены данные больных, которым после ауто-ТГСК проводили ХТ или повторную ауто-ТГСК. Монотерапия бортезомибом после ауто-ТГСК (n = 23) к исключению из исследования не приводила.

Клинический рецидив ММ регистрировали при увеличении М-протеина сыворотки не менее 1 г/дл (если исходно не менее 0,5 г/дл) и/или появлении одного или нескольких критериев: новые очаги остеодеструкции или плазмоцитомы или увеличение в размере существующих на не менее 50%, гиперкальциемия более 2,65 ммоль/л, снижение показателей гемоглобина более 20 г/л или концентрации

гемоглобина менее 100 г/л; креатинин сыворотки не менее 177 ммоль/л.

Для исследования выделяли мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови стандартным методом центрифугирования цельной гепаринизированной венозной крови в градиенте плотности фикола-верографина ($p = 1,078$). Относительное содержание $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток периферической крови оценивали методом проточной цитометрии, используя анти-CD4 (FITC, или PerCP, или APC, "BD Biosciences", США), анти-FOXP3 (PE "BD Biosciences") моноклональные антитела. Фиксацию и пермеабиллизацию МНК для оценки внутриклеточной экспрессии FOXP3 проводили после инкубации клеток с моноклональными антителами к поверхностным антигенам; использовали растворы параформальдегида 1% ("Sigma-Aldrich", Германия) и Tween-20 0,2% ("Ferak", Германия) по стандартной методике или коммерческий набор растворов для фиксации/пермеабиллизации Transcription Factor Buffer Set в соответствии с инструкцией производителя ("BD Biosciences", США). Исследование проводили по общепринятой методике с использованием параметров прямого и бокового светорассеяния и флуоресценции по каналам FL-1 (FITC), FL-2 (PE), FL-3 (PerCP), FL-4 (APC) ("BD FACSCalibur", "CellQuest Software", США). В тексте относительное содержание $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток представлено в виде процента от количества лимфоцитов.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft). Для оценки значимости различий между группами больных использовали *U*-критерий Манна-Уитни. Для оценки диагностической значимости использовали анализ характеристической кривой (ROC, receiver operating characteristic) с расчетом площади под кривой. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Для изучения динамики восстановления $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток у больных ММ был проведен сравнительный анализ относительного и абсолютного количества этих клеток до ауто-ТГСК, на момент выхода из лейкопении, через 6 и 12 мес после ауто-ТГСК. Изменения количества исследуемой популяции Т-лимфоцитов оценивали по содержанию FOXP3-положительных клеток среди $CD4^+$ Т-клеток независимо от экспрессии молекулы CD25, поскольку данный транскрипционный фактор был обнаружен не только в субпопуляции $CD4^+CD25^{hi}$ Трег, но и среди $CD4^+CD25^-$ Т-лимфоцитов (рис. 1).

Перед ауто-ТГСК относительное и абсолютное количество $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток у больных ММ не отличалось от значений доноров (табл. 1). В течение первого года после ауто-ТГСК отмечены выраженные колебания относительного содержания этой субпопуляции. На день выхода из лейкопении после ауто-ТГСК содержание циркулирующих $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток было значимо выше исходных значений и показателей доноров. В дальнейшем относительное количество этих клеток снижалось и через 6 мес после ауто-ТГСК было значимо ниже донорских и предтрансплантационных показателей, через 12 мес значимо не различалось от значений у здоровых доноров, но оставалось ниже исходного значения (см. табл. 1).

Абсолютное содержание $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток в течение всего периода наблюдения в целом оставалось стабильным, значимо не отличаясь от показателей до ауто-ТГСК. Выраженная лимфопения у больных после ауто-ТГСК обуславливала значимое снижение абсолютного количества $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток по сравнению с показателями доноров. Через 1 год после ауто-ТГСК значения исследуемой субпопуляции Т-клеток достигали нормальных (см. табл. 1).

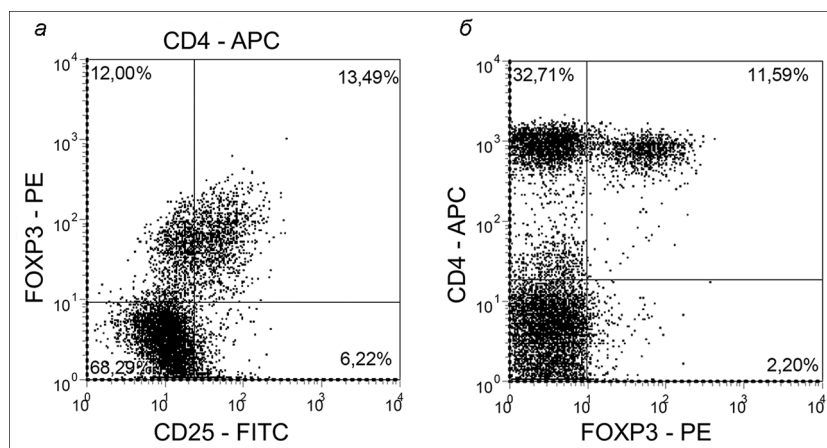


Рис. 1. Цитометрическая характеристика $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток.

а – относительное количество FOXP3-положительных $CD4^+$ Т-клеток среди $CD25^-$ негативных (верхний левый квадрант) и $CD25^+$ положительных (верхний правый квадрант) популяций, % от $CD4^+$ Т-клеток; б – общее относительное количество $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток (верхний правый квадрант) в гейте лимфоцитов. Представлены данные репрезентативного пациента.

Анализ исходов ВХТ с ауто-ТГСК в группе 36 больных, находившихся под наблюдением более 12 мес, показал, что рецидив ММ в течение первого года после ауто-ТГСК наблюдался у 7 больных. Больные с развитием рецидива не отличались от больных в ремиссии по возрасту, стадии ММ, статусу болезни на момент ВХТ с ауто-ТГСК, количеству реинфузированных $CD34^+CD45^+$ ГСК, а также относительному и абсолютному содержанию $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток перед ВХТ с ауто-ТГСК (табл. 2).

У больных с рецидивом ММ в течение первого года наблюдалось более высокое относительное содержание $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток на день выхода из лейкопении, чем у больных, сохранивших ремиссию ММ ($n = 29$): 8,3% (6–9,2%) против 4,8% (2,8–5,5%); $p_U = 0,0066$ (рис. 2). Различий между группами по абсолютному содержанию данной субпопуляции достигнуто не было: $53/\text{мм}^3$ (21–105/ мм^3) против $28/\text{мм}^3$ (18–58/ мм^3); $p_U = 0,13$.

Для определения прогностической значимости относительного содержания $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток на момент восстановления лейкоцитов в прогнозе развития рецидива в течение первого года после ВХТ с ауто-ТГСК был проведен ROC-анализ. Построение ROC-кривой выявило высокую информативность определения исследуемого показателя. Площадь под кривой составила 0,835 (95% ДИ: 0,678–0,992; $p = 0,0066$). Относительное содержание $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток более 5,77% позволяло прогнозировать неблагоприятный исход с чувствительностью 85,7% и специфичностью 75,7%, отношение правдоподобия 3,55 (рис. 3).

Таблица 1

Относительное и абсолютное содержание $CD4^+FOXP3^+$ Т-клеток у больных ММ до и после ВХТ с ауто-ТГСК

Субпопуляция клеток	Здоровые доноры ($n = 38$)	До ауто-ТГСК ($n = 31$)	Выход из лейкопении ($n = 40$)	+6 мес ($n = 22$)	+12 мес ($n = 14$)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,6 (1,4–1,9)	1,3* (1,0–1,5)	0,7*** (0,4–1,0)	1,6 (1,2–2,2)	2,2 ** (1,6–2,7)
$CD4^+FOXP3^+$ Т-клетки, %	2,4 (2,0–3,4)	3,2 (1,9–4,9)	5,1*** (3,1–7,3)	1,8*** (0,9–2,8)	1,9 ** (1,6–2,5)
$CD4^+FOXP3^+$ Т-клетки, клеток/ мм^3	55 (34–108)	43 (28–80)	29* (16–60)	27* (16–43)	49 (21–53)

Примечание. Здесь и в табл. 2 данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона; * – $p_U < 0,05$ – по сравнению с соответствующими значениями здоровых доноров; ** – $p_U < 0,05$ – по сравнению с соответствующими значениями больных до ауто-ТГСК.

Таблица 2

Характеристика больных ММ в зависимости от течения заболевания после ВХТ с ауто-ТГСК

Клинико-лабораторные показатели	Ремиссия (n = 29)	Рецидив (n = 7)	Значимость различий
Стадия по Durie–Salmon:			
I	2	1	$p_{\text{ТМФ}} = 0,49$
II	16	3	$p_{\text{ТМФ}} = 0,43$
III	11	3	$p_{\text{ТМФ}} = 0,57$
Статус на момент ауто-ТГСК:			
полная ремиссия	12	1	$p_{\text{ТМФ}} = 0,19$
частичная ремиссия	15	4	$p_{\text{ТМФ}} = 0,57$
резистентное течение/прогрессия	2	2	$p_{\text{ТМФ}} = 0,16$
Возраст, годы	49 (43–53)	48 (47–55)	$p_U = 0,26$
CD34 ⁺ CD45 ⁺ ГСК, × 10 ⁶ /кг	4,8 (3,8–6,8)	4,4 (3,9–5,4)	$p_U = 0,60$
CD4 ⁺ FOXP3 ⁺ Т-клетки перед ВХТ с ауто-ТГСК:			
отн., % абс.,	3,7 (1,3–9,0)	3,3 (2,3–4,0)	$p_U = 0,82$
клеток/мм ³	51 (28–89)	65 (26–80)	$p_U = 0,94$

Примечание. $p_{\text{ТМФ}}$ – значимость различий между группами по точному методу Фишера; p_U – значимость различий между группами по U-критерию Манна–Уитни.

Обсуждение

К регуляторным Т-клеткам в широком смысле относят различные популяции CD4⁺, CD8⁺, $\gamma\delta$, NK-Т и CD4⁺CD8⁺-лимфоцитов, способных подавлять иммунный ответ. Наиболее исследованными в настоящее время являются CD4⁺ Трег, экспрессирующие молекулу CD25 и транскрипционный фактор FOXP3, ответственный за реализацию супрессорных функций. Однако FOXP3 и другие поверхностные и внутриклеточные маркеры неспецифичны для Трег, их также транзитивно экспрессируют активированные CD4⁺ Т-клетки. Отдельные субпопуляции CD4⁺ Трег могут быть CD25-негативными и при этом обладать значительным регуляторным потенциалом [16, 17]. Поэтому в настоящей работе в качестве Трег была исследована субпопуляция CD4⁺ Т-клеток, экспрессирующих FOXP3.

Полученные результаты свидетельствуют, что относительное содержание CD4⁺ FOXP3⁺ Т-клеток у больных ММ в первый год после ауто-ТГСК претерпевает значительные изменения: ко дню +14-му после ауто-ТГСК значимо превышает исходные значения, после чего снижается и к исходу 12 мес достигает нормы. Быстрое восстановление Трег после ауто-ТГСК согласуется с данными литературы [12–14]. Основным источником Трег на фоне глубокого угнетения тимопоэза являются реинфузируемые в составе продукта сепарации Т-клетки. Ранее рядом исследователей показано увеличение

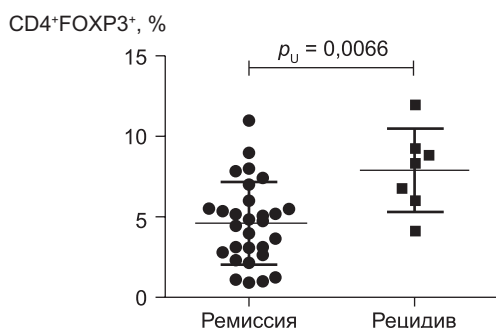


Рис. 2. Относительное количество CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток на момент выхода из лейкопении у больных ММ в зависимости от течения посттрансплантационного периода.

Данные представлены в виде индивидуальных значений, медиана и интерквартильный диапазон.

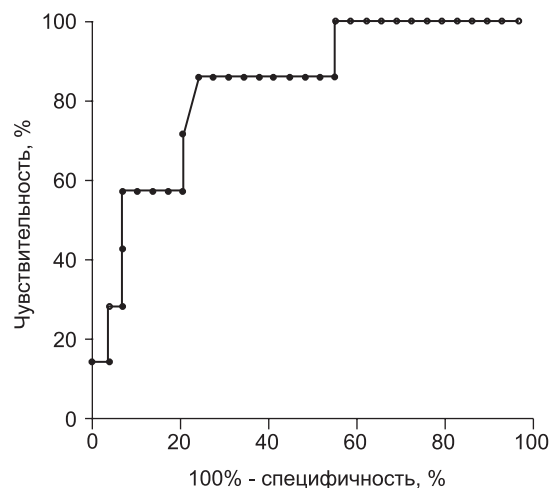


Рис. 3. ROC-анализ диагностической значимости определения содержания CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток на момент выхода из лейкопении после ауто-ТГСК у больных ММ в прогнозе раннего рецидива.

пролиферативной активности Трег после аллогенной ТГСК [12, 14, 18]. При этом колебания относительного количества Трег также зависят от общего числа лимфоцитов и восстановления других субпопуляций лимфоцитов. Мы обнаружили, что абсолютное количество Трег остается на одном уровне в течение посттрансплантационного периода у больных ММ от момента выхода из лейкопении до конца первого года после ТГСК.

Роль более высокого относительного количества Трег в условиях лимфопении и их влияние на процессы периферической экспансии лимфоцитов остаются предметом дискуссий. S. Shen и соавт. [19] продемонстрировали, что Трег более эффективно подавляли гомеостатическую пролиферацию Т-клеток с низкоавидными Т-клеточными рецепторами. C. Winstead и соавт. [20] показали, что CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ клетки ингибировали антигенспецифическую «спонтанную» экспансию Т-лимфоцитов, но не влияли на гомеостатическую пролиферацию, индуцируемую интерлейкином 7. Также отмечено, что отсутствие Трег в течение периода реконструкции Т-лимфоцитов приводит к ограничению репертуара Т-клеточных рецепторов и снижению способности развивать полноценный иммунный ответ на чужеродные антигены [21]. Возможно, Трег предотвращают неконтролируемую экспансию быстро пролиферирующих клонов, чем способствуют будущему разнообразию Т-клеток.

В настоящем исследовании продемонстрировано, что более высокое относительное содержание Трег в раннем посттрансплантационном периоде ассоциировано с развитием рецидива ММ в течение 12 мес после ауто-ТГСК. Данные о взаимосвязи Трег с исходами ауто-ТГСК неоднозначны. Так, по данным некоторых авторов [9, 11] повышенное количество CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Трег при ММ ассоциировано с плохим прогнозом. В то же время в других исследованиях [8, 10] взаимосвязи между количеством Трег и выживаемостью не обнаружено. Учитывая лимфоидный генез ММ, общность продуцируемых опухолевыми и иммунокомпетентными клетками цитокинов и их развитие в условиях одного костно-мозгового микроокружения, сложно с уверенностью говорить, является ли повышение Трег причиной или следствием прогрессии данного заболевания. Малигнизированные плазматические клетки, полученные как от больных, так и из клеточных линий ММ, способны стимулировать генерацию индуцибельных Трег (предположительно, при взаимодействии через ICOS/ICOS-L) [6], однако в условиях деpleции значительного количества опухолевых клеток после ВХТ с ауто-ТГСК возможности опухоли индуцировать генерацию Трег ограничены. При этом более высокое относительное количество Трег в условиях лимфопении может приводить к ограничению экспансии

эффекторных лимфоцитов и способствовать прогрессии заболевания даже без дополнительной стимуляции.

Несмотря на отсутствие четкого понимания роли Трег в патогенезе ММ, проведенный ROC-анализ позволил заключить, что выявленные различия в количестве этих клеток могут быть использованы в качестве фактора прогноза раннего рецидива после ауто-ТГСК. Известно, что существующие классификации (по Durie-Salmon и ISS) недостаточно информативны для прогноза течения ММ после проведения ВХТ с ауто-ТГСК [1]. Хорошей прогностической значимостью обладают методы цитогенетического и FISH-исследований больных ММ [22], однако сложность и высокая стоимость ограничивают их широкое применение. В этих условиях определение CD4⁺FOXP3⁺ Т-клеток в периферической крови на день выхода из лейкопении может служить своеобразным суррогатным маркером неблагоприятного прогноза ММ. Дальнейшие исследования механизмов взаимодействия опухоли, клеток иммунной системы и стромального микроокружения, возможно, прольют свет на роль Трег в детерминировании течения болезни при ММ.

Полученные данные позволяют сделать несколько заключений:

- относительное содержание Трег у больных ММ после ВХТ с ауто-ТГСК быстро (ко времени выхода из лейкопении) достигает и превышает предтрансплантационный уровень, после чего снижается и к исходу 12 мес достигает нормативных значений;
- развитие раннего рецидива заболевания после ауто-ТГСК ассоциируется с более высоким содержанием Трег ко времени выхода из лейкопении;
- оценка относительного содержания этих клеток по предварительным данным может быть использована для прогнозирования течения посттрансплантационного периода.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бессмельцев С.С. Множественная миелома (патогенез, клиника, диагностика, дифференциальный диагноз). Часть I. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2013; 6(3): 237–57

Остальные источники литературы см. в References

REFERENCES

1. Bessmeltsev S.S. Multiple myeloma (pathogenesis, clinical features, diagnosis, differential diagnosis). Part I. *Clinical Oncohematology. Fundamental research and clinical practice. Russian journal (Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2013; 6(3): 237–57. (in Russian)
2. Kumar S.K., Rajkumar S.V., Dispenzieri A., Lacy M.Q., Hayman S.R., Buadi F.K., et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood*. 2008; 111(5): 2516–20.
3. Pratt G., Goodyear O., Moss P. Immunodeficiency and immunotherapy in multiple myeloma. *Br. J. Haematol*. 2007; 138(5): 563–79.
4. Mittal S., Marshall N.A., Duncan L., Culligan D.J., Barker R.N., Vickers M.A. Local and systemic induction of CD4⁺CD25⁺ regulatory T-cell population by non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2008; 111(11): 5359–70. doi: 10.1182/blood-2007-08-105395.
5. Heier I., Hofgaard P.O., Brandtzaeg P., Jahnsen F.L., Karlsson M. Depletion of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells inhibits local tumour growth in a mouse model of B cell lymphoma. *Clin. Exp. Immunol*. 2008; 152(2): 381–7.

6. Feyler S., Scott G.B., Parrish C., Jarmin S., Evans P., Short M., et al. Tumour cell generation of inducible regulatory T-cells in multiple myeloma is contact-dependent and antigen-presenting cell-independent. *PLoS One*. 2012; 7(5): e35981.
7. Prabhala R.H., Neri P., Bae J.E., Tassone P., Shammas M.A., Allam C.K., et al. Dysfunctional T regulatory cells in multiple myeloma. *Blood*. 2006; 107(1): 301–4.
8. Beyer M., Kochanek M., Giese T., Endl E., Weihrauch M.R., Knolle P.A., et al. In vivo peripheral expansion of naive CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ regulatory T cells in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2006; 107(10): 3940–9.
9. Muthu Raja K.R., Rihova L., Zahradova L., Klincova M., Penka M., Hajek R. Increased T regulatory cells are associated with adverse clinical features and predict progression in multiple myeloma. *PLoS One*. 2012; 7(10): e47077.
10. Foglietta M., Castella B., Mariani S., Coscia M., Godio L., Ferracini R., et al. The bone marrow of myeloma patients is steadily inhabited by a normal-sized pool of functional regulatory T cells irrespective of the disease status. *Haematologica*. 2014; 99(10): 1605–10.
11. Giannopoulos K., Kaminska W., Hus I., Dmoszynska A. The frequency of T regulatory cells modulates the survival of multiple myeloma patients: detailed characterisation of immune status in multiple myeloma. *Br. J. Cancer*. 2012; 106(3): 546–52.
12. Atanackovic D., Cao Y., Luetkens T., Panse J., Faltz C., Arfsten J., et al. CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ T regulatory cells reconstitute and accumulate in the bone marrow of patients with multiple myeloma following allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2008; 93(3): 423–30.
13. Ganesan P., Gupta R., Hakim M., Kumar L., Bhaskar A., Sharma A. Reconstitution of regulatory T cells after autologous transplantation in multiple myeloma. *Int. J. Hematol*. 2011; 94(6): 578–9.
14. Matsuoka K., Kim H. T., McDonough S., Bascug G., Warshauer B., Koreth J., et al. Altered regulatory T cell homeostasis in patients with CD4⁺ lymphopenia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J. Clin. Invest*. 2010; 120(5): 1479–93.
15. Durie B.G., Salmon S.E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer*. 1975; 36(3): 842–54.
16. Feyler S., Selby P.J., Cook G. Regulating the regulators in cancer-immunosuppression in multiple myeloma (MM). *Blood Rev*. 2013; 27(3): 155–64.
17. Haque R., Lei F., Xiong X., Song J. The regulation of FoxP3-expressing regulatory T cells. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*. 2011; 11(4): 334–46.
18. Kawano Y., Kim H.T., Matsuoka K., Bascug G., McDonough S., Ho V.T., et al. Low telomerase activity in CD4⁺ regulatory T cells in patients with severe chronic GVHD after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2011; 118(18): 5021–30.
19. Shen S., Ding Y., Tadokoro C.E., Olivares-Villagómez D., Camps-Ramírez M., Curotto de Lafaille M.A., et al. Control of homeostatic proliferation by regulatory T cells. *J. Clin. Invest*. 2005; 115(12): 3517–26.
20. Winstead C.J., Fraser J.M., Khoruts A. Regulatory CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T cells selectively inhibit the spontaneous form of lymphopenia-induced proliferation of naive T cells. *J. Immunol*. 2008; 180(11): 7305–17.
21. Winstead C.J., Reilly C.S., Moon J.J., Jenkins M.K., Hamilton S.E., Jameson S.C., et al. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells optimize diversity of the conventional T cell repertoire during reconstitution from lymphopenia. *J. Immunol*. 2010; 184(9): 4749–60.
22. Avet-Loiseau H., Attal M., Moreau P., Charbonnel C., Garban F., Hulin C., et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergrupee Francophone du Myélome. *Blood*. 2007; 109(8): 3489–95.

Поступила 24.11.16

Принята к печати 10.02.17

Крысанов И.С.^{1,2}, Зырянов С.К.³, Крысанова В.С.⁴

КЛИНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ АГОНИСТОВ ТРОМБОПОЭТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКОЙ ПУРПУРЫ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

¹Институт медико-социальных технологий ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств», 125080, г. Москва, Россия;

²Институт клинико-экономической экспертизы и фармакоэкономики, 141008, г. Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, г. Москва, Россия;

⁴ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, 119991, г. Москва, Россия

Цель работы – фармакоэкономический анализ применения агонистов тромбopoietиновых (ТПО) рецепторов (ромиплостим и элтромбопаг) у взрослых больных хронической идиопатической тромбоцитопенической пурпурой (ИТП) с учетом комплаентности в условиях реальной практики в Российской Федерации.

Материал и методы. Была разработана модель оказания помощи больным хронической ИТП с учетом возможного низкого уровня комплаентности у отдельных категорий пациентов к длительному самостоятельному ежедневному приему препарата элтромбопаг (таблетки 50 мг). Для оценки реальной клинической практики был проведен опрос экспертов. Фармакоэкономический анализ проводили методом затраты–эффективность с учетом прямых медицинских затрат – стоимости лекарственных препаратов, стоимости введения препарата ромиплостим, стоимости контроля за терапией, стоимости «терапии спасения», стоимости терапии клинически значимых кровотечений, стоимости диспансерного наблюдения. Для расчета затрат на лекарственные препараты были использованы тендерные цены, представленные маркетинговым агентством Intercontinental Marketing Statistics (IMS Health), за январь–апрель 2016 г.

Результаты. Общие затраты на терапию одного больного хронической ИТП в течение 1 года выше при применении ромиплостима – 3 895 692 руб. по сравнению с 1 788 537 руб. при применении элтромбопага. Однако с учетом возможного низкого уровня комплаентности отдельных категорий больных в реальной клинической практике и в связи с этим вероятного снижения эффективности терапии элтромбопагом затратная эффективность ромиплостима составила 4 693 605 руб. на 1 случай эффективного лечения по сравнению с 6 387 631 руб. на 1 случай эффективного лечения у элтромбопага. Разница составила 1 694 026 руб. в пользу препарата ромиплостим.

Заключение. Применение ромиплостима при лечении взрослых больных хронической ИТП является клинически эффективным и экономически оправданным способом проведения терапии в условиях реальной клинической практики в РФ у пациентов с низкой комплаентностью.

Ключевые слова: идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура; анализ затраты–эффективность; агонисты тромбopoietиновых рецепторов; элтромбопаг; ромиплостим.

Для цитирования: Крысанов И.С., Зырянов С.К., Крысанова В.С. Клинико-экономическое исследование применения агонистов тромбopoietиновых рецепторов у взрослых больных хронической формой тромбоцитопенической пурпуры в Российской Федерации. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 20-25. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-20-25>

Krysanov I.S.^{1,2}, Zyryanov S.K.³, Krysanova V.S.⁴

PHARMACOECONOMIC STUDY OF THE USE OF THROMBOPOIETIN RECEPTOR AGONISTS IN ADULT PATIENTS WITH CHRONIC IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA IN RUSSIAN FEDERATION

¹Institute of Medical and Social Technologies, Moscow State University of Food Production, Moscow, 125080, Russian Federation;

²Institute of Clinical and Economic Assessment and Pharmacoeconomics, Moscow, 141008, Russian Federation;

³Peoples Friendship University of Russia, Moscow, 117198, Russian Federation;

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991, Russian Federation;

Aim to perform the analysis of different agonists of thrombopoietin receptors - romiplostim and eltrombopag in adult patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) in Russia.

Methodology. There has been developed model of medical care patients with ITP based on the research hypothesis suggesting the possible low level of compliance in certain categories of patients for long-term independent daily intake of the drug eltrombopag (50 mg tablets). To evaluate the clinical practice for ITP patients in Russia the interview of experts was performed. Direct medical costs were calculated per 1 patient.

Results. Total costs of the treatment per ITP patient within the 1 year period were 3,895,692 rubles with romiplostim and 1,788,537 rubles with eltrombopag. However, taking into account a possible low level of compliance of certain categories of patients in clinical practice in Russia and therefore the probable decline of the efficacy of therapy the cost-effectiveness ratio for romiplostim amounted to 4,693,605 rubles/1 case of the effective treatment if compared with 6,387,631 rubles/1 case of the effective treatment for eltrombopag. The difference amounted to 1,694,026 rubles in favor of the drug romiplostim.

Conclusion The use of romiplostim in the treatment of adult ITP patients was both effective and economically justified as treatment option in real practice in patients with low compliance in Russia.

Key words: idiopathic thrombocytopenic purpura; cost-effectiveness analysis; agonists of the thrombopoietin receptors; eltrombopag; romiplostim.

For citation: Krysanov I.S., Zyryanov S.K., Krysanova V.S. Pharmacoeconomic study of the use of thrombopoietin receptor agonists in adult patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura in Russian Federation. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(1): 20-25. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-20-25>

Acknowledgments. The study was supported by "Amgen".

Received 08 November 2016

Accepted 10 February 2017

Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) или первичная иммунная тромбоцитопения – заболевание, представляющее собой изолированную иммуноопосредованную тромбоцитопению (количество тромбоцитов в периферической крови менее $100 \times 10^9/\text{л}$), возникающую и/или сохраняющуюся без каких-либо явных причин, с геморрагическим синдромом различной степени выраженности или без него. Заболеваемость ИТП в мире составляет 1,6–3,9 на 100 000 взрослого населения в год, что позволяет отнести данное заболевание к группе редких (орфанных) заболеваний. Агонисты тромбопоэтиновых (ТПО) рецепторов – ромиплостим и элтромбопаг – новый класс препаратов, использующийся в качестве терапии 3-й и 2-й линии хронической формы ИТП. Использование препаратов данного класса позволяет отменить предшествующую глюкокортикостероидную терапию и добиться устойчивой концентрации тромбоцитов не менее $50 \times 10^9/\text{л}$ в течение как минимум 6 из 8 нед лечения без применения резервной терапии.

Цель исследования – сравнительный клинико-экономический анализ применения различных агонистов ТПО-рецепторов у взрослых больных хронической ИТП с учетом комплаентности при ведении их в условиях реальной практики в Российской Федерации.

Материалы и методы

В доступных источниках был проведен поиск работ по сравнению эффективности и безопасности применения различных агонистов ТПО-рецепторов у взрослых больных хронической ИТП – препаратов ромиплостим и элтромбопаг. Ключевыми словами первоначального поиска были: romiplostim, eltrombopag, chronic thrombocytopenic purpura. В базе данных MEDLINE было найдено 58 публикаций, в базе данных Cochrane Library – 1. Всего найдено: 59 ссылок.

Дальнейший отбор работ происходил:

- по типам публикаций, отражающим степень доказательности отобранных работ: предпочтение отдавалось метаанализам, рандомизированным клиническим испытаниям (РКИ), затем клиническим исследованиям без рандомизации.
- по содержанию: из анализа исключали исследования *in vitro*; исследования на животных; исследования, не посвященные изучению проблемы лечения взрослых больных хронической ИТП; включали исследования, посвященные изучению применения агонистов ТПО-рецепторов у взрослых больных хронической ИТП.

Для корреспонденции:

Крысанов Иван Сергеевич, кандидат фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармации Института медицинских технологий МГУПП, 125080, г. Москва, Россия. E-mail: krysanov-ivan@mail.ru.

For correspondence:

Krysanov Ivan S., PhD, Head of Pharmacy Faculty Institute of Medical and Social Technologies, Moscow National University of Food Production, Moscow, 125080, Russian Federation. E-mail: krysanov-ivan@mail.ru.

Information about authors:

Krysanov I.S., <http://orcid.org/0000-0002-3541-1120>;
Zyryanov S.K., <http://orcid.org/0000-0002-6348-6867>;
Krysanova V.S., <http://orcid.org/0000-0002-0547-2088>.

Так как данная группа препаратов относительно недавно появилась на фармацевтическом рынке и ИТП относится к группе редких (орфанных) заболеваний, на настоящий момент не было проведено крупных рандомизированных исследований, сравнивающих эффективность и безопасность применения элтромбопага и ромиплостима у взрослых больных хронической ИТП. Таким образом, в исследование был включен не прямой сравнительный анализ К. Соорег и соавт. [1], а также дополнение к нему – К. Соорег и соавт. [2].

Исходя из гипотезы исследования о том, что при низком уровне комплаентности у отдельных категорий больных хронической ИТП к длительному самостоятельному ежедневному приему препарата элтромбопаг (таблетки 50 мг) терапия с его применением менее эффективна в реальной клинической практике по сравнению с инъекционным лекарственным препаратом (ЛП) ромиплостимом, фармакоэкономический анализ проводили клинико-экономическим методом – затраты–эффективность. При проведении анализа для каждой медицинской технологии рассчитывали показатель соотношения затраты/эффективность по формуле:

$$\text{CER} = \text{DC}/\text{Ef},$$

где CER (cost-effectiveness ratio) – соотношение затраты/эффективность (показывает затраты, приходящиеся на единицу эффективности); DC (direct cost) – прямые затраты; Ef (efficiency) – эффективность применения медицинской технологии.

В настоящем исследовании показателем эффективности применяемой медицинской технологии была принята вероятность достижения общего ответа на терапию агонистами ТПО – устойчивая концентрация тромбоцитов не менее $50 \times 10^9/\text{л}$ в течение как минимум 6 из 8 нед лечения без применения резервной терапии.

Для проведения фармакоэкономического анализа была построена модель оказания помощи взрослым больным хронической формой ИТП, учитывающая различные варианты терапии с применением агонистов ТПО (рис. 1 на 4-й стр. обложки). Так как ИТП относится к группе редких (орфанных) заболеваний, то модель строили в расчете на 1 пациента с учетом вероятностей наступления различных событий, временной горизонт моделирования составил 1 год.

1-й вариант терапии хронической ИТП

Взрослый больной хронической ИТП по показаниям в течение 1 года получает терапию ромиплостимом в дозе 250 мкг в виде ежедневных подкожных инъекций. В качестве анализируемого исхода оценивали устойчивый ответ на терапию, который при использовании ромиплостима составляет 83% [3]. С учетом формы введения препарата было сделано предположение о том, что для проведения инъекции и контроля за проводимой терапией пациент 1 раз в неделю посещает врача амбулаторно-поликлинического звена.

2-й вариант терапии хронической ИТП

Взрослый больной хронической ИТП по показаниям в течение 1 года получает терапию элтромбопагом 50 мг в виде ежедневного приема препарата в таблетированной форме. По данным крупного рандомизированного исследования, при ежедневном приеме препарата можно достичь устойчивый ответ на терапию в 67% случаев [4].

Однако в условиях реальной практики часто может отмечаться низкий уровень комплаентности больных к длительной ежедневной терапии, при этом ЛП необходимо принимать строго раз в сутки, так как период полувыведения элтромбопага из плазмы составляет около 21–32 ч [5]. При приеме ЛП имеются ограничения – необходим тщательный контроль при совместном приеме элтромбопага со статинами, циклоспорином, комбинации лопинавира с ритонавиром, также элтромбопаг образует хелатные соединения с поливалентными катионами: алюминием, кальцием, железом, магнием, селеном и цинком. В исследованиях было показано, что совместный прием элтромбопага с антацидами, содержащими

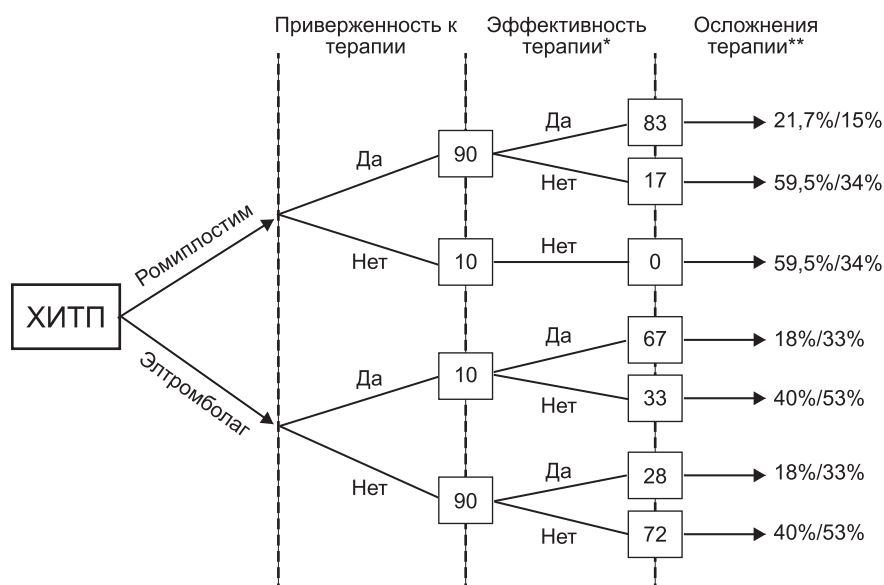


Рис. 2. Алгоритм решений при терапии хронической ИТП (ХИТП) в реальной практике РФ у взрослых больных с низкой комплаентностью.

* – общий ответ на терапию агонистами ТПО–устойчивые показатели тромбоцитов не менее $50 \times 10^9/\text{л}$ в течение как минимум 6 из 8 нед лечения без применения резервной терапии; ** – «терапия спасения» и наступление клинически значимых кровотечений.

поливалентные катионы, снижает площадь под кривой концентрация-время (area under the curve, $AUC_{0-\infty}$) элтромбопага в плазме крови на 70% и максимальную концентрацию ($C_{\max}$) – на 70% [6]; употребление высококалорийной пищи с большим содержанием жиров снижает $AUC_{0-\infty}$ элтромбопага в плазме крови на 59% и $C_{\max}$ на 65% [6].

Для оценки типичной практики ведения больных хронической ИТП в РФ и получения информации об уровне комплаентности пациентов к длительной постоянной терапии и ее влиянии на эффективность проводимой терапии была разработана анкета для опроса экспертов – гематологов. В карту включали вопросы о распределении пациентов по частоте нарушений приема таблетированного препарата элтромбопаг, по частоте нарушений режима питания при приеме элтромбопага, по наличию снижения эффективности проводимой терапии на фоне несоблюдения режима приема и диеты. Аналогичные вопросы были составлены и для агониста ТПО-рецепторов ромиплостима. В ходе опроса были получены данные о том, что многие эксперты в своей практике часто отмечают несоблюдение длительного постоянного режима приема таблетированного препарата элтромбопаг, также нарушение в диете, влияющие на фармакокинетические характеристики препарата. По данным опроса более 90% пациентов пропускают прием таблеток хотя бы 1 раз в неделю, более 90% пациентов не соблюдают ограничения по диете более 2 раз в неделю. Многие эксперты отмечают снижение эффективности терапии элтромбопагом на фоне несоблюдения режима приема препарата и нарушений в диете.

Таким образом, с учетом вышеперечисленных фактов в модели было сделано допущение о том, что при нарушении режима приема препарата происходят колебания фармакокинетической кривой концентрации (из-за пропусков приема ЛП и несоблюдения диеты) со снижением получаемой дозы на 40% и, следовательно, эффективности принимаемого препарата до 28%, так как препарат элтромбопаг обладает дозозависимым эффектом [7]. С учетом необходимости

контроля терапии было сделано допущение, что пациент посещает врача в амбулаторно-поликлинических условиях 1 раз в неделю в течение первых 4 нед, затем ежемесячно, что обусловлено необходимостью контроля за терапией – оценки концентрации тромбоцитов (мониторинг эффективности) и оценки показателей печеночных ферментов (мониторинг безопасности) [6].

Так как временной интервал моделирования составил 1 год, в модель были включены наиболее распространенные и клинически значимые осложнения – применение «терапии спасения» и терапии клинически значимых кровотечений. «Терапия спасения» подразумевает под собой применение ЛП для купирования геморрагического синдрома в экстренных ситуациях – кровотечениях (маточные, желудочно-кишечные, почечные, внутрибрюшные, непрекращающиеся носовые) и кровоизлияниях в жизненно важные органы (головной мозг, яичники) в условиях стационара. Для каждого варианта терапии учитывали частоту назначения «терапии спасения» на основании крупных рандомизированных клинических исследований (РКИ) [3, 4]. Согласно действующим отечественным рекомендациям [8], рассматривали следующие варианты терапии:

- пульс-терапия метилпреднизолоном в дозе 1000 мг в день (внутривенная капельная инфузия в течение 1 ч), курс 5 дней;
- дексаметазон по 40 мг ежедневно в течение 4 последовательных дней;
- внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ) в дозе 2 г на 1 кг массы тела (курсовая доза), распределенная на два последовательных дня (было сделано допущение, что средняя масса тела пациента составит 75 кг).

В случае наступления клинически значимого кровотечения, не требующего назначения отдельных препаратов, было сделано допущение, что пациент может обратиться в амбулаторно-поликлиническое учреждение или при необходимости пройти курс стационарного лечения. Частота клинически значимых кровотечений (2–4-й класс по шкале ВОЗ) при применении агонистов ТПО-рецепторов была взята равной таковой значению из крупных РКИ для элтромбопага относительно плацебо 33% [4], для ромиплостима относительно плацебо 15% [9].

Модель строили с учетом того, что для каждого варианта терапии (ромиплостим и элтромбопаг) учитывалась вероятность как эффективной терапии, так и неэффективной. При эффективной терапии вероятность применения «терапии спасения» или необходимости терапии клинически значимых кровотечений была определена на основании данных проведенных крупных РКИ [3, 4, 9]. При неэффективной терапии вероятность наступления осложнений была принята равной таковой, как при применении плацебо. Общая характеристика модели представлена на рис. 2 и в табл. 1.

Оценку затрат на оказание помощи больным хронической ИТП проводили с учетом прямых медицинских затрат на:

- лекарственные препараты;
- введение ромиплостима;
- контроль за терапией;
- «терапию спасения»;
- терапию клинически значимых кровотечений;
- амбулаторно-поликлинический этап лечения – диспансерное наблюдение.

Таблица 1

Общая характеристика модели исследования

Вариант терапии	Частота ответа на терапию	Источник информации	Частота ответа на терапию при несоблюдении режима, %	Источник информации	Случаи «терапии спасения», %	Источник информации	Случаи кровотечений, %	Источник информации
Ромиплостим	83	[3]	83	[3]	21,7	[3]	15	[9]
Плацебо					59,5		34	
Элтромбопаг	67	[4]	28	[7]	18	[4]	33	[4]
Плацебо					40		53	

Для расчета затрат на ЛП были использованы тендерные цены, представленные маркетинговым агентством IMS за январь–апрель 2016 г.

Для **базовых расчетов** использовали следующие данные о ценах на ЛП:

- для ромиплостима, порошок для приготовления раствора для подкожного введения, 250 мкг (70 086,5 руб.);

- для элтромбопага, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 50 мг (121 904,48 руб.).

Стоимость курса препаратов рассчитывали с учетом дозировок, установленных официальной инструкцией по применению препаратов. Подробные данные представлены в **табл. 2**.

В стоимость затрат на введение препарата ромиплостим входило еженедельное посещение пациентом амбулаторно-поликлинического учреждения по поводу заболевания с проведением необходимого контроля за терапией – мониторинг эффективности в виде оценки концентрации тромбоцитов. При приеме элтромбопага для контроля за терапией пациент посещает амбулаторно-поликлиническое учреждение 1 раз в неделю в течение первых 4 нед терапии, затем ежемесячно [6]. Во время посещений врача проводят мониторинг эффективности терапии – оценку концентрации тромбоцитов, мониторинг безопасности – оценку показателей печеночных ферментов.

Стоимость «терапии спасения» включала в себя следующие пункты:

- затраты на лекарственные препараты;
- стоимость оказания скорой медицинской помощи (СМП);
- стоимость стационарного лечения с учетом коэффициента относительной затратоемкости.

Перечень ЛП для «терапии спасения» определяли с помощью действующих отечественных рекомендаций [8]. В модели учитывали основные инъекционные лекарственные формы препаратов. Так как используемые ЛП включены в перечень жизненно необходимых и важнейших ЛП (ЖНВЛП), то для расчетов были использованы предельные оптовые цены (с НДС) для г. Москвы.

Согласно постановлению Правительства Москвы от 24.02.10 № 163-ПП «Об установлении торговых надбавок к ценам на лекарственные средства, включенные в перечень ЖНВЛП», для ЛП стоимостью от 50 до 500 руб. включительно установлена предельная оптовая надбавка (15% от цены производителя без НДС), для ЛП стоимостью свыше 500 руб. – 10%. Налог на добавленную стоимость для ЛП в РФ составляет 10% (льготное налогообложение). Расчет цены для ЛП «терапии спасения» представлен в **табл. 3**.

Стоимость терапии клинически значимых кровотечений была рассчитана на основании допущения, что в течение 1 года пациент экстренно может дважды обратиться в амбулаторно-поликлиническое учреждение или пройти курс стационарного лечения.

Затраты на оказание всех видов помощи (стационарной, СМП, амбулаторной) рассчитывали на основании тарифов обязательного медицинского страхования (ОМС). В соответствии с рекомендациями Федерального фонда ОМС (ФФОМС) при оплате медицинской помощи, оказанной в стационарных условиях и в условиях дневного стационара, постановлением Правительства РФ от 19.12.15 № 1382 «О программе государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2016 год» установлен способ оплаты за законченный случай лечения заболевания, включенного в соответствующую группу заболеваний (в том числе клинко-статистические группы заболеваний) с учетом установленного коэффициента относительной затратоемкости [10]. В настоящей модели при расчете стоимости стационарного лечения учитывался коэффициент относительной затратоемкости № 25 – нарушения свертываемости крови – 1,04. Значения основных показателей, используемых в анализе, и источники информации представлены в **табл. 4**.

Результаты

В исследовании был рассмотрен не прямой сравнительный анализ [1, 2], в котором с использованием байесовской метарегрессивной модели было проведено сравнение эффективности применения двух агонистов ТПО-рецепторов у больных хронической ИТП. В ходе анализа проведен поиск литературы

Расчет затрат на терапию агонистами ТПО-рецепторов

Международное непатентованное название	Торговое название	Дозировка, мкг/мг	Количество единиц в упаковке	Стоимость 1 упаковки, руб.	Упаковок в неделю, шт.	Затраты на курс, руб.
Ромиплостим	Энплейт®	250 мкг	1	70 086,5	1	3 644 498
Элтромбопаг	Револейд®	50 мг	28	121 904,48	0,25	1 584 758

Таблица 3

Расчет затрат на «терапию спасения»

Препарат	Вводимая доза, мг	Стоимость 1 мг, руб.	Число введений на курс	Курсовая доза, мг	Затраты на курс, руб.
Внутривенные иммуноглобулины	75 000	1,75	2	150 000	262 500
Метилпреднизолон	1000	1,4	5	5000	7000
Дексаметазон	40	2,2	4	160	352

и отобрано 3 крупных РКИ, на основании данных которых и проводили сравнение (**табл. 5**).

В качестве анализируемых исходов были использованы общий ответ на терапию (устойчивая концентрация тромбоцитов не менее $50 \times 10^9/\text{л}$ в течение как минимум 4 нед лечения) и длительный ответ на терапию (устойчивая концентрация тромбоцитов не менее $50 \times 10^9/\text{л}$ в течение как минимум 6 из 8 нед лечения без применения резервной терапии).

Таким образом, проведенный не прямой сравнительный анализ с применением байесовского подхода, который считается наиболее надежным подходом для проведения непрямого анализа, показывает статистически значимое преимущество применения ромиплостима по сравнению с элтромбопагом для достижения общего ответа на терапию; при оценке достижения длительного ответа на терапию статистически значимых различий в применении препаратов не обнаружено.

Для оценки затрат на проведение терапии агонистами ТПО-рецепторов были учтены только прямые затраты (**табл. 6**); совокупные данные приведены в **табл. 7**.

Таблица 4

Затраты на оказание стационарной, амбулаторной, скорой медицинской помощи

Показатель	Значение	Источник информации (2016 г.)
Стоимость одного случая госпитализации, руб.	89 427,6	ПГТ
Коэффициент относительной затратоемкости КСГ/КПГ (нарушения свертываемости крови) № 25*	1,04	Рекомендации ФФОМС
Стоимость 1 посещения амбулаторно-поликлинического учреждения по поводу заболевания, руб.	2131,5	ПГТ
Стоимость 1 посещения амбулаторно-поликлинического учреждения с целью диспансерного наблюдения, руб.	647,1	ПГТ
Стоимость 1 посещения при оказании помощи в неотложной форме в амбулаторно-поликлинических условиях, руб.	459,2	ПГТ
Стоимость 1 вызова СМП, руб.	1747,7	ПГТ
Число посещений врача в амбулаторно-поликлиническом звене с целью диспансерного наблюдения в течение 1 года	12	Допущение

Примечание. КСГ – клинко-статистическая группа; КПГ – клинко-профильная группа; ПГТ – программа государственных гарантий; * – номер коэффициента относительной затратоемкости.

Таблица 5

Результаты непрямого сравнительного анализа ромиплостима и элтромбопага [1, 2]

Показатель	Данные исследований элтромбопага		Данные исследований ромиплостима		Элтромбопаг против ромиплостима, ОШ (ДИ)
	элтромбопаг	плацебо	ромиплостим	плацебо	
Общий ответ	У 91 (67%) из 135	У 8 (13%) из 62	У 69 (83%) из 83	У 3 (7%) из 42	ОШ 0,15 (0,02–0,84)
Длительный ответ	У 63 (47%) из 135	У 4 (6%) из 62	У 41 (49%) из 83	У 1 (2%) из 42	ОШ 0,2 (0,01–2,13)

Примечание. ОШ – отношение шансов.

Таблица 6

Прямые затраты на терапию хронической формы ИТП в течение 1 года

Показатель	Стоимость, руб.
Затраты на введение ЛП ромиплостим	110 838
Затраты на контроль за терапией	31 973
«Терапия спасения»:	
СМП	1748
стационарная помощь	93 005
лекарственные препараты	269 852
Итого...	364 604
Терапия клинически значимых кровотечений:	
амбулаторно-поликлиническая помощь	918
стационарная помощь	93 005
Итого...	93 923
Диспансерное наблюдение	7 765

Общие затраты на терапию одного больного хронической формой ИТП в течение 1 года выше при применении ромиплостима (3 895 692 руб.) по сравнению с элтромбопагом (1 788 537 руб.). Однако с учетом возможного низкого уровня комплаентности отдельных категорий пациентов к длительному самостоятельному ежедневному приему препарата элтромбопаг (таблетки 50 мг) в реальной клинической практике в РФ и вероятного снижения эффективности терапии, анализ «затраты-эффективность» показывает преимущество применения ромиплостима по сравнению с элтромбопагом – 4 693 605 руб. и 6 387 631 руб. за одного пациента с достигнутым ответом, соответственно. Разница составила 1 694 026 руб. в пользу препарата ромиплостим.

Таблица 7

Фармакоэкономический анализ применения различных агонистов ТПО-рецепторов в течение 1 года у больного хронической формой ИТП

Затраты	Ромиплостим	Элтромбопаг
На ЛП, руб.	3 644 498	1 548 758
На введение препарата и контроль за терапией, руб.	110 838	31 973
На «терапию спасения», руб.	113 988	120 254
На терапию клинически значимых кровотечений, руб.	18 603	43 787
На диспансерное наблюдение, руб.	7765	7765
Итого, руб.	3 895 692	1 788 537
Частота ответа на терапию, %*	83	28
Показатель затраты-эффективность, руб. на 1 случай эффективного лечения	4 693 605	6 387 631

Примечание. * – с учетом данных о комплаентности в реальной практике РФ.

Выводы

- В непрямом сравнительном анализе [1], а также в дополнении к нему – Update on Romiplostim and Eltrombopag Indirect Comparison [2] было установлено, что применение ромиплостима показывает статистически значимый более высокий общий ответ на терапию у больных хронической формой ИТП;
 - опрос врачей-гематологов показал, что применение ромиплостима сопряжено с более высокой комплаентностью у больных хронической формой ИТП;
 - общие затраты на терапию одного больного хронической формой ИТП в течение 1 года выше при применении ромиплостима – 3 895 692 руб. по сравнению со стоимостью терапии при применении элтромбопага – 1 788 537 руб.;
 - затратная эффективность ромиплостима выше по сравнению с элтромбопагом в случае снижения комплаентности при использовании последнего – 4 693 605 и 6 387 631 руб. за 1 случай эффективного лечения, соответственно. Разница составила 1 694 026 руб. в пользу препарата ромиплостим.
- Таким образом, применение ромиплостима в качестве препарата выбора агониста ТПО-рецепторов при терапии взрослых больных хронической формой ИТП является клинически эффективным и экономически оправданным способом проведения терапии в условиях реальной клинической практики в РФ у пациентов с низкой комплаентностью.

Финансирование. Исследование проведено при поддержке фирмы “Amgen”.

ЛИТЕРАТУРА

- Официальная инструкция по применению лекарственного препарата Революйд®. Государственный реестр лекарственных средств. http://grls.rosminzdrav.ru/Grils_View_v2.aspx?routingGuid=47fe644f-aba4-433d-91f3-7bcf620237cf&t= (дата обращения 09.11.2016)
- Клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуре (первичной иммунной тромбоцитопении) у взрослых. Национальное гематологическое общество. *Гематология и трансфузиология*. 2015; 60(1): 44–56. <http://www.minzdrav.ru/minzdrav/docs/itp.pdf> (дата обращения 09.11.2016)
- Методические рекомендации по способам оплаты медицинской помощи за счет средств системы обязательного медицинского страхования. Федеральный фонд обязательного медицинского страхования, 2015. <http://www.ffoms.ru/news/ffoms/o-metodicheskikh-rekomendatsiyakh-po-sposobam-oplaty-meditsinskoy-pomoshchi-za-schet-sredstv-obyazat/> (дата обращения 09.11.2016).

Остальные источники литературы см. в References

REFERENCES

- Cooper K.L., Fitzgerald P., Dillingham K., Helme K., Akehurst R. Romiplostim and eltrombopag for immune thrombocytopenia: methods for indirect comparison. *Int. J. Technol. Assess. Health Care*. 2012; 28(3): 249–58. doi: 10.1017/S0266462312000414.
- Cooper K.L., Matcham J., Helme K., Akehurst R. Update on romiplostim and eltrombopag indirect comparison. *Int. J. Technol. Assess. Health Care*. 2014; 30(1): 129–30. doi: 10.1017/S0266462313000767.
- Kuter D.J., Bussell J.B., Lyons R.M., Pullarkat V., Gernsheimer T.B., Senecal F.M., et al. Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: a double-blind randomized controlled trial. *Lancet*. 2008; 371(9610): 395–403. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60203-2.

4. Cheng G., Saleh M.H., Marcher C., Vasey S., Mayer B., Aivado M., et al. Eltrombopag for management of chronic immune thrombocytopenia (RAISE): a 6-month, randomised, phase 3 study. *Lancet*. 2011; 377(9763): 393–402. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60959-2.
5. Adherence to long-term therapies: Evidence for action. WHO. 2003. Available at http://www.who.int/chp/knowledge/publications/adherence_report/en/ (accessed 09 Nov 2016)
6. Official instructions for use of the drug Revoley®. State Register of Medicinal Products. Available at http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=47fe644f-aba4-433d-91f3-7bcf620237cf&t= (accessed 09 Nov 2016). (in Russian)
7. Bussel J.B., Cheng G., Saleh M.N., Psaila B., Kovaleva L., Meddeb B., et al. Eltrombopag for the treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *N. Engl. J. Med.* 2007; 357(22): 2237–47.
8. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura (primary immune thrombocytopenia) in adults. The National Society of Hematology. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i Transfusiologiya)*. 2015; 60(1): 44–56. Available at <http://www.minzdrav.ru/minzdrav/docs/itp.pdf> (accessed 09 Nov 2016)
9. Gernsheimer T.B., George J.N., Aledort L.M., Tarantino M.D., Sunkara U., Matthew Guo D., Nichol J.L. Evaluation of bleeding and thrombotic events during long-term use of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenia (ITP). *J. Thromb Haemost.* 2010; 8(6): 1372–82. doi: 10.1111/j.1538-7836.2010.03830.x.
10. Guidelines for health care payment methods at the expense of the compulsory health insurance system. Federal Compulsory Medical Insurance Fund. 2015. Available at <http://www.ffoms.ru/news/ffoms/o-metodicheskikh-rekomendatsiyakh-po-sposobam-oplaty-meditsinskoy-pomoshchi-za-schet-sredstv-obyazat/> (accessed 09 Nov 2016)

Поступила 20.10.16

Принята к печати 10.02.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.155.392.2-053.2-078.33

Турбасова Н.В., Фролова О.В., Соловьев В.С.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет» Минобрнауки России, 625003, г. Тюмень, Россия

Проанализировано функциональной активности фагоцитов периферической крови у 63 детей (36 мальчиков и 17 девочек) в возрасте от 1 года до 14 лет, больных острым лимфобластным лейкозом. Все больные получали химиотерапию. Контрольную группу составили 79 здоровых детей (35 мальчиков и 44 девочки) в возрасте от 10 до 14 лет. Выявлено наличие миелосупрессивного воздействия программной химиотерапии при остром лимфобластном лейкозе у детей, что сопровождалось уменьшением среднего цитохимического коэффициента при определении содержания катионного белка и снижением фагоцитарной и метаболической активности нейтрофилов в пробах с нитросиним тетразолием.

Ключевые слова: дети; острый лимфобластный лейкоз; метаболическая активность нейтрофилов; катионный лизосомальный белок.

Для цитирования: Турбасова Н.В., Фролова О.В., Соловьев В.С. Оценка состояния метаболической активности нейтрофилов у детей, больных острым лимфобластным лейкозом. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 25–28. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-25-28>

Turbasova N.V., Frolova O.V., Soloviev V.S.

ESTIMATION OF THE STATE OF METABOLIC ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN CHILDREN WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

Tyumen State University, Tyumen, 625003, Russian Federation

The functional activity of phagocytes of peripheral blood was analyzed. 63 children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) were included in the study. The age of the patients (36 male and 17 female) was from 1 to 14 years. All patients received chemotherapy. The control group consisted from 79 healthy children (35 male and 44 female, aged from 10 to 14 years). The effect of myelosuppression of the chemotherapy in ALL children was revealed, which was manifested as the decline of the average cytochemical coefficient under the detection of the content of cationic complex protein and the decrease of phagocytic and metabolic activity of neutrophils in the nitro blue tetrazolium test.

Key words: metabolic activity of neutrophils; cationic complex lysosomal protein; acute lymphoblastic leukemia; children.

For citation: Turbasova N.V., Frolova O.V., Soloviev V.S. Estimation of the state of metabolic activity of neutrophils in children with acute lymphoblastic leukemia. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2017; 62(1): 25–28. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-25-28>

Acknowledgments. The authors thanks N.V. Polivtseva for her help with the laboratory research.

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

Received 19 November 2016

Accepted 10 February 2017

Для корреспонденции:

Турбасова Наталья Вячеславовна, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры анатомии и физиологии человека и животных ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет» Министерство образования и науки Российской Федерации, 625043, г. Тюмень, Россия. E-mail: turbasowa@mail.ru.

For correspondence:

Turbasova Natalia V., MD, PhD, Docent, Associate Professor of the Department of Human and Animals Anatomy and Physiology of Tyumen State University, Tyumen, 625043, Russian Federation. E-mail: turbasowa@mail.ru.

Information about authors:

Turbasova N.V., <http://orcid.org/0000-0003-3982-8908>; Frolova O.V., <http://orcid.org/0000-0001-8725-561X>; Soloviev V.S., <http://orcid.org/0000-0002-9477-4941>.

В структуре детской онкологической заболеваемости острый лейкоз занимает ведущее место, на его долю приходится более 30% всех опухолей у детей [1, 2].

Самым распространенным среди злокачественных заболеваний кроветворной ткани у детей является острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), составляя 80–90% случаев острого лейкоза [3, 4]. По данным Тюменского областного гематологического центра, заболеваемость гемобластозами увеличивается в 2 раза каждые 10 лет. Ежегодно стационарное лечение в гематологическом центре получает около 1000 больных, из них треть – дети [5].

Все виды острых лейкозов среди злокачественных заболеваний у детей в Тюменском регионе находятся на первом месте. Ежегодно в Тюменской области впервые выявляется до 20 детей с лейкозами и лимфомами [5].

В Тюменской области за период 2013–2015 гг. среди детей 0–14 лет произошел рост заболеваемости болезнями крови и кроветворных органов (среднегодовой темп прироста +4,7%) [6].

Введение в практику современных интенсивных программ химиотерапии привело к существенному улучшению прогноза у детей, страдающих ОЛЛ, 5-летняя безрецидивная выживаемость составляет от 70 до 84% [7].

Несмотря на совершенствование цитостатической и сопроводительной терапии, инфекционные осложнения на сегодняшний день являются ведущей причиной смертности, не связанной с прогрессированием основного заболевания [8–11]. Факторами, определяющими высокий риск развития инфекций грибковой, вирусной и бактериальной этиологии [8] являются последствия воздействия цитостатических препаратов в виде индуцированной аплазии кроветворения, повреждения эпителиальных барьеров, снижения продукции иммуноглобулинов, нарушения целостности защитных барьеров, подавления нормальной микрофлоры слизистых оболочек [12–14].

Способность организма защищаться от инфекций зависит не только от сохранности количественного состава, но и от качественных характеристик функционально компетентных фагоцитирующих клеток и лимфоцитов.

Лейкоциты крови (включая полиморфно-ядерные нейтрофилы) больных гемобластомами имеют функциональные дефекты уже на начальном этапе заболевания и лечения [15]. Цитостатики, глюкокортикоидные гормоны, лучевая терапия приводят к резкому усугублению дисфункции фагоцитов (снижение хемотаксиса фагоцитов, уменьшение содержания лизоцима в клетках) [15].

Нейтрофилы, обладая уникальной функцией фагоцитоза, составляют 1-ю линию неспецифической противомикробной защиты. Одна из наиболее важных особенностей нейтрофилов – «респираторный взрыв», результатом которого является продукция активных форм кислорода, от которых зависит эффективная внутриклеточная гибель микробов, поглощенных фагоцитами. Способность к генерации активных форм кислорода характеризует функциональную активность нейтрофилов, а именно – возможность осуществления завершеного фагоцитоза [16].

Цель работы – изучение состояния функциональной и метаболической активности нейтрофилов у детей от 1 года до 14 лет, больных ОЛЛ.

Материал и методы

Мы исследовали кровь, полученную от 63 детей, больных ОЛЛ, в возрасте от 1 года до 14 лет, находящихся на лечении в отделении гематологии и химиотерапии Областной клинической больницы № 1 г. Тюмени. Всех детей разделили на 4 группы: 1-я группа – 12 девочек в возрасте от 1 года до 7 лет, 2-я группа – 16 мальчиков в возрасте от 1 года до 7 лет, 3-я группа – 15 девочек в возрасте от 8 до 14 лет, 4-я группа – 20 мальчиков в возрасте от 8 до 14 лет.

Все дети были с первично установленным диагнозом ОЛЛ, преимущественно L1-варианта по FAB-классификации – цитохимическая реакция лимфоидных клеток на миелопероксидазу была отрицательная, а PAS-реакция – положительная. У детей, больных ОЛЛ, выделено два варианта: В-ОЛЛ у 60 (95%), Т-ОЛЛ у 3 (5%) (иммунологические подварианты ОЛЛ у больных детей мы не определяли),

Все дети находились на индукционной программной химиотерапии (ПХТ). Химиотерапию дети, больные ОЛЛ, получали по схеме ALL IC-BFM-02. В схему лечения входили цитостатики: винкристин, циклофосфан. Забор крови для исследований проводили после 1-го индукционного курса химиотерапии (64 дня) на 65-й день. Деление больных на группы проведено согласно возрастной периодизации онтогенеза человека [17]: 1-я и 3-я группы – дети раннего детства и дошкольного возраста; мальчики и девочки 2-й и 4-й групп – дети раннего и старшего школьного возраста.

Были сформированы две контрольные группы сравнения – 5-я (44 здоровые девочки) и 6-я (35 здоровых мальчика) группы контроля в возрасте от 10 до 14 лет.

О фагоцитарной и синтетической активности фагоцитов мы судили по среднему цитохимическому коэффициенту (СЦК) в спонтанном и активированном тесте с нитросиним тетразолием (НТ-тест) и лизосомально-катионном тесте (ЛК-тест). В основе спонтанного и активированного НТ-теста лежит принцип поглощения гранулоцитами нитросинего тетразолия и восстановления его в формазан, выявляемый в виде гранул синего цвета [18].

Методически НТ-тест выполняли следующим образом: в 2 пластиковые центрифужные пробирки (объем 10 мл), содержащие 50 мкл раствора гепарина, вносили по 100 мкл капиллярной крови и после перемешивания в одну из них добавляли 50 мкл продигозана (бактериальный полисахарид, выделенный из микроорганизма *Bacterium prodigiosum*) для стимуляции нейтрофилов, в другую – 50 мкл буферного раствора. В обе пробирки вносили по 50 мкл раствора нитросинего тетразолия с осторожным перемешиванием компонентов и затем инкубировали 30 мин при температуре 37 °С, повторное перемешивание проводили через каждые 5 мин. Далее пробирки охлаждали проточной водой примерно до 29–30 °С и центрифугировали при 450g 5 мин. Надосадочную жидкость удаляли, осадок аккуратно перемешивали в центрифужной пробирке. Мазки готовили на обезжиренных стеклах. Приготовленные мазки сушили на воздухе, затем фиксировали 10 мин в 96% этиловом спирте. Высушенные после фиксации мазки дофиксировали над пламенем спиртовки (температура около 800 °С). Окраску проводили, нанося на стекла 350 мкл сафранина. Через 5 мин добавляли такое же количество дистиллированной воды. Выдерживали 3 мин, промывали, высушивали и просматривали под микроскопом в иммерсионной системе при увеличении 90.

Различают спонтанный и стимулированный НТ-тест. Результаты спонтанного теста указывают на количество активированных нейтрофилов в крови больного, например под влиянием инфекции [16, 18].

Результаты стимулированного теста дают представление о способности исследуемых нейтрофилов к активации *in vitro*. Этот тест фактически характеризует их бактерицидную способность. Соответственно снижение активности и интенсивности фагоцитоза расценивают как показатель снижения фагоцитирующей способности нейтрофилов, метаболического резерва, как недостаточности их противомикробной функции. Этот тест следует проводить при сниженном числе спонтанных НТ-положительных клеток у больного с бактериальной инфекцией, чтобы выявить наличие или отсутствие дефекта кислородзависимого механизма киллинга бактерий и микроорганизмов стимулированными нейтрофилами.

В основе ЛК-теста лежит принцип избирательной окраски катионных белков бромфеноловым синим [19]. На свежие мазки наносили 300 мкл сульфосалициловой кислоты и фиксировали в течение 1,5 мин. Тщательно промывали дистиллированной водой и высушивали. Окрашивали 0,1% раствором бромфенолового синего в течение 1–2 мин. На мазки наносили по 100 мкл красителя. Краситель 3-кратно смывали 100 мкл боратного буфера, докрашивали раствором основного фуксина в течение 1 мин. Остатки красителя отмывали проточной водой и после высыхания микроскопировали под объективом (ув. 90) с масляной иммерсией. Катионный белок выявлялся в цитоплазме нейтрофилов в виде синих гранул. Тест позволяет оценить активность кислороднезависимого механизма бактерицидности фагоцитов по уровню катионных белков в лизосомах полиморфно-ядерных нейтрофилов, которые способны нейтрализовать фагоцитированные бактерии [20].

Для проведения тестов использовали наборы реактивов ООО «Реаккомплекс» (Чита, Россия).

В НТ-тесте и ЛК-тесте для оценки метаболической активности нейтрофилов использовали СЦК, основанный на выявлении различной степени интенсивности специфической окраски. В зависимости от нее исследуемые элементы делили на 4 группы: с отрицательной реакцией (-); слабopоложительной (+); положительной (++) ; резко положительной (+++) [7].

Таблица 1

СЦК катионного лизосомального белка в фагоцитах периферической крови у здоровых и больных ОЛЛ детей ($M \pm m$)

Группа детей	СЦК катионного лизосомального белка, усл. ед. (норма $1,23 \pm 0,015$ усл. ед.)
1-я ($n = 12$)	$0,51 \pm 0,06$
2-я ($n = 16$)	$0,62 \pm 0,07$
3-я ($n = 15$)	$0,51 \pm 0,04^*$ (3-я; 5-я)
4-я ($n = 20$)	$0,71 \pm 0,03^{**}$ (3-я; 4-я)
5-я ($n = 44$)	$1,29 \pm 0,16$
6-я ($n = 35$)	$1,30 \pm 0,34$

Примечание. * – $p < 0,05$ – статистическая значимость различий по сравнению со здоровыми девочками; ** – $p < 0,01$ – статистическая значимость различий по сравнению с больными девочками; n – число детей в выборке; в скобках указаны группы детей, между которыми зарегистрированы статистически значимые различия.

Все результаты обработаны статистически с помощью программ Biostat и Microsoft Excel 2007 с определением средней арифметической (M) и ошибки средней арифметической (m). Статистическую значимость различий оценивали по t -критерию Стьюдента.

Результаты

В нашем исследовании фагоцитарную активность определяли на фоне лечения больных детей цитостатическими препаратами, которые способны негативно изменять неспецифические защитные механизмы организма, в частности способность нейтрофилов к фагоцитозу.

Таким образом, о подавлении активности полиморфно-ядерных нейтрофилов, мы судили по СЦК катионного лизосомального белка в фагоцитах детей, больных ОЛЛ.

Для сравнения изучали СЦК катионного лизосомального белка в фагоцитах у детей группы контроля.

Анализ данных показал, что у детей, больных ОЛЛ, происходило снижение СЦК катионного лизосомального белка как по сравнению с нормой, так и по сравнению с показателями группы контроля (табл. 1). У обследованных девочек 1-й и 2-й групп СЦК лизосомального катионного белка составил $0,51 \pm 0,06$ и $0,51 \pm 0,04$ усл. ед. соответственно относительно нормы ($1,23 \pm 0,015$ усл. ед.).

Отмечалось снижение СЦК как в спонтанном, так и в активированном тесте поглощения НТ у больных детей всех четырех групп по сравнению с нормой (табл. 2): у девочек 1–7 и 8–14 лет СЦК спонтанного НТ-теста составил $5,52 \pm 0,37$ и $5,58 \pm 0,91$ усл. ед. соответственно; у мальчиков 2-й и 4-й групп СЦК спонтанного НТ-теста составил $5,53 \pm 0,39$ и $5,11 \pm 0,45$ усл. ед. соответственно, что значительно ниже нормы ($9,34$ усл. ед.).

У девочек 1-й и 3-й групп и мальчиков 2-й и 4-й групп в активированном варианте НТ-теста СЦК также был ниже нормы ($13,3$ усл. ед.): у девочек $6,96 \pm 0,33$ и $6,86 \pm 0,78$ усл. ед. соответственно; у мальчиков $6,95 \pm 0,45$ и $6,22 \pm 0,43$ усл. ед. соответственно.

Кроме того, у детей, больных ОЛЛ, метаболическая активность нейтрофилов в активированном НТ-тесте была незначительно выше, чем в спонтанном варианте НТ-теста.

Снижение поглотительной и бактерицидной функции фагоцитов мы связываем с меньшей активностью ферментных систем (НТ-тест) и уменьшением содержания лизосомального катионного белка в результате миелосупрессивного воздействия ПХТ при ОЛЛ у детей.

Обсуждение

Инфекционные осложнения являются одной из самых частых причин смерти больных лейкозами. Поэтому в последние годы уделяют все больше внимание изучению неспецифического иммунитета при лейкозах [21–26].

Полученные данные мы интерпретируем на основании исследования коллектива авторов НИИ детской гематологии Минздрава РФ (Москва) во главе с Е.Б. Владимирской [27, 28].

Таблица 2

СЦК спонтанного и активированного НСТ-теста у детей, больных ОЛЛ ($M \pm m$)

Группа детей	СЦК НСТ-теста, усл. ед.	
	спонтанного (норма $9,34$ усл. ед.)	активированного (норма $13,3$ усл. ед.)
1-я ($n = 12$)	$5,52 \pm 0,37$	$6,96 \pm 0,33^{***}$
2-я ($n = 16$)	$5,53 \pm 0,39$	$6,95 \pm 0,45^*$
3-я ($n = 15$)	$5,58 \pm 0,91$	$6,86 \pm 0,78$
4-я ($n = 20$)	$5,11 \pm 0,45$	$6,22 \pm 0,43$

Примечание. * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$ – статистическая значимость различий по сравнению с СЦК спонтанного НСТ-теста; n – число детей в выборке.

В результате проведенного ими исследования было установлено, что ПХТ, столь эффективная в лечении ОЛЛ, не действует избирательно только на опухолевые клетки, а оказывает генерализованное цитостатическое влияние. Было показано, что нормальный лейкоцитарный состав периферической крови сочетается с серьезными нарушениями секреторной функции полиморфно-ядерных нейтрофилов.

Можно с достаточным основанием утверждать, что именно эти миелоидные клетки являются объектом неспецифического влияния ПХТ [27, 28].

В наших наблюдениях ПХТ при ОЛЛ у детей вызвала нарушение функции нейтрофилов, что приводило к уменьшению СЦК катионных лизосомальных белков и снижению фагоцитарной и метаболической активности нейтрофилов в НТ-тесте.

Наши данные согласуются с результатами Г.А. Ермакова [29], который выявил у детей с В-линейным ОЛЛ независимо от наличия инфекционного осложнения и выраженности нейтропении, достоверное снижение активности нейтрофильных фагоцитов в спонтанном и индуцированном НТ-тесте.

Т.Г. Кадричева и соавт. [7, 21] у детей, больных ОЛЛ, получавших программную ПХТ, отметили более низкий, чем у здоровых детей, ответ на стимуляцию зимозаном нейтрофилов (в методе люминолзависимой хемилюминесценции), что характеризует снижение функциональных резервов нейтрофильных гранулоцитов.

О.В. Смирнова и В.Т. Манчук [10] отметили, что хемилюминесцентная активность нейтрофилов больных ОЛЛ снижается на стадии наступления полной ремиссии и повторного рецидива, что, вероятно, обусловлено истощением внутренних резервов организма.

Угнетение функциональной активности нейтрофилов на фоне химиотерапии при ОЛЛ наблюдали и Е.В. Борисова и соавт. [15]. Изменения сопровождались повышением интенсивности процессов перекисного окисления липидов. Отмеченная авторами сниженная функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов у больных ОЛЛ на фоне ПХТ и во время ремиссии служила predisposing фактором для развития тяжелых инфекционных осложнений [10].

Таким образом, миелосупрессивное воздействие ПХТ при ОЛЛ у детей сопровождалось уменьшением СЦК катионных белков и снижением фагоцитарной и метаболической активности нейтрофилов в НТ-тесте.

Благодарности. Авторы выражают благодарность Н.В. Поливцевой за помощь в лабораторных исследованиях.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корабельникова И.С., Гребенникова И.В. Распространенность острых лимфобластных лейкозов у детей Воронежской области. *Международный студенческий вестник*. 2015; 2: 113–5.
2. Борисова Е.В., Гончарук З.Н., Таранушенко Т.Е., Кадричева Т.Г. Структура и частота встречаемости лейкозов у детей Красноярского края за 1991–2004 г. *Вопросы современной педиатрии*. 2006; 5: 72–3.
3. Румянцев А.Г. Масчан А.А., Жуковская Е.А., ред. *Детская гематология. Клинические рекомендации*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.

4. Рукавицын О.А. ред., *Гематология. Национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.
5. У истоков областной гематологии. <http://tumen.bezformata.ru/listnews/u-istokov-oblastnoj-gematologii/7685515/>
6. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Тюменской области в 2015 году. Тюмень: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Тюменской области; 2016. <http://72.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/9ba/9baa6aa8c8bc0f1df7769b8288ac59ee4.pdf>
7. Кадричева Т.Г., Манчук В.Т., Шагарова С.Г. Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов у детей с острым лимфобластным лейкозом. *Медицинская иммунология*. 2011; 13(6): 631–4.
8. Ермаков Г.А. Этиологический аспект инфекционных осложнений гемобластозов у детей. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2010; 2: 33–7.
9. Смирнова О.В., Манчук В.Т., Савченко А.А. Иммуно-патогенетические клинические проявления характеристика клинические проявления острого лимфобластного лейкоза. *Сибирское медицинское обозрение*. 2009; 57(3): 33–8.
10. Смирнова О.В., Манчук В.Т. Особенности прогнозирования возникновения инфекционных осложнений после проведения химиотерапии у больных острыми лейкозами. *Медицинская иммунология*. 2012; 14(4–5): 403–8.
11. Кадричева Т.Г., Манчук В.Т., Шагарова С.Г. Особенности инфекционных осложнений у детей с острым лимфобластным лейкозом на фоне цитостатической терапии. В сборнике материалов XV Конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии». Москва, 14–17 февраля 2011. Москва; 2011. <http://www.spr-journal.ru/sc5/wa-data/public/site/files/TezisyFevral2011.pdf>
12. Урмаева М.М. Инфекционные осложнения у детей с гемобластозами. *Гематология и трансфузиология*. 1999; 44(1): 38–9.
13. Тихомиров Д.С., Гаража Т.А., Туполева Т.А., Троицкая В.В., Галстян Г.М., Филатов Ф.П. Факторы, влияющие на частоту возникновения вирусных пневмоний у онкогематологических больных. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(1): 37–42.
14. Джумбаева Б.Т., Бирюкова Л.С. Нephротоксичность противоопухолевых препаратов, коррекция их дозы при лечении больных лимфо-пролиферативными и онкологическими заболеваниями, ассоциированными с почечной недостаточностью. *Гематология и трансфузиология*. 2015; 60(4): 30–5.
15. Борисова Е.В., Кратнов А.Е., Маршук В.И., Иванова Н.Н. Изменение функциональной активности нейтрофилов периферической крови под действием химиотерапии у детей с острым лимфобластным лейкозом. *Вопросы современной педиатрии*. 2006; 5: 71–2.
16. Беляева А.С., Ванько Л.В., Матвеева Н.К. Нейтрофильные гранулоциты, как регуляторы иммунитета. *Иммунология*. 2016; 37(2): 129–33.
17. Никитюк Б.А., Чтецов В.П., ред. *Морфология человека*. М.: Московский государственный университет; 1990.
18. Меньшиков В.В., ред. *Лабораторные методы исследования в клинике*. М.: Медицина; 1984.
19. Пигаревский В.Е. Лизосомально-катионный тест. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 1975; 3: 86–8.
20. Безрукова Е.В., Симбирцев А.С., Хмельницкая Н.М. Применение лизосомально-катионного теста для оценки эффективности комплексного лечения больных, страдающих гнойным риносинуситом. *Цитокины и воспаление*. 2013; 12(1–2): 137–42.
21. Кадричева Т.Г. Особенности функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у детей с острым лимфобластным лейкозом. *Сибирский онкологический журнал*. 2011; 44(2): 62–6.
22. Смирнова О.В., Манчук В.Т. Особенности клеток иммунной системы при остром лимфобластном лейкозе. *Медицинская иммунология*. 2013; 15(6): 577–84.
23. Владимирская Е.Б., Казначеев К.С., Осипова Е.Ю., Волюнец М.Д., Мадзаев С.Р., Байдун Л.В. Позднее миелосупрессивное воздействие программной химиотерапии при остром лимфобластном лейкозе у детей. *Гематология и трансфузиология*. 2000; 45(1): 3–6.
24. Казначеев К.С., Владимирская Е.Б. Спонтанная гибель клеток костного мозга и периферической крови при ремиссии острого лимфобластного лейкоза у детей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2002; 11: 551–4.
25. Ермаков Г.А. Сравнительный анализ иммунологического профиля детей с острым лимфобластным лейкозом и лимфогранулематозом. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2010; 4: 26–9.
4. Rukavitsin O.A., ed. *Hematology. National Manual*. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. (in Russian)
5. At the beginnings of the regional hematology. <http://tumen.bezformata.ru/listnews/u-istokov-oblastnoj-gematologii/7685515/> (in Russian)
6. On the state sanitary and epidemiological welfare of the population in the Tyumen region in 2015. Tyumen; 2016. <http://72.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/9ba/9baa6aa8c8bc0f1df7769b8288ac59ee4.pdf> (in Russian)
7. Kadrichева T.G., Manchuk V.T., Shagarova S.G. The functional activity of neutrophilic granulocytes in children with acute lymphoblastic leukemia. *Medical Immunology. Russian journal (Meditsinskaya immunologiya)*. 2011; 13(6): 631–4. (in Russian)
8. Ermakov G.A. The etymological aspect of infectious complications leukemia in children. *Far East Medical Journal. Russian journal (Dalnevostochnyy meditsinskii zhurnal)*. 2010; 2: 33–7. (in Russian)
9. Smirnova O.V., Manchuk V.T., Savchenko A.A. Immuno-pathogenetic clinical manifestations characteristic of the clinical manifestations of acute lymphoblastic leukemia. *Siberian medical review. Russian journal (Sibirskoe meditsinskoe obozrenie)*. 2009; 57(3): 33–8. (in Russian)
10. Smirnova O.V., Manchuk V.T. Features predicting the occurrence of infectious complications after chemotherapy in patients with acute leukemia. *Medical Immunology. Russian journal (Meditsinskaya immunologiya)*. 2012; 14(4–5): 403–8. (in Russian)
11. Kadrichева T.G., Manchuk V.T., Shagarova S.G. Features of infectious complications in children with acute lymphoblastic leukemia due to the cytostatic therapy. In: Collected materials XII Congress of Pediatricians of Russia with international participation "Actual problems of pediatrics". Moscow; 14–17 Febr 2011. Moscow; 2011. <http://www.spr-journal.ru/sc5/wa-data/public/site/files/TezisyFevral2011.pdf> (in Russian)
12. Urmaeva M.M. Infectious complications in children with hematological malignancies. *Hematology and transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiology)*. 1999; 44(1): 38–9. (in Russian)
13. Tikhomirov D.S., Garanzha T.A., Tupoleva T.A., Troitskaya V.V., Galstyan G.M., Filatov F.P. Factors affecting the incidence of viral pneumonia in patients with hematological malignancies. *Hematology and transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiology)*. 2016; 61(1): 37–42. (in Russian)
14. Dzhumbabaeva B.T., Biryukova L.S. Nephrotoxicity of antitumor drugs and correction of their doses in therapy of patients with lymphomas and cancer associated with renal failure. *Hematology and transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiology)*. 2015; 60(4): 30–5. (in Russian)
15. Borisova E.V., Kratnov A.E., Marshukov V.I., Ivanova N.N. Changes in functional activity of peripheral blood neutrophils under the influence of chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Current Pediatrics. Russian journal (Voprosy Sovremennoi Pediatrii)*. 2006; 5: 71–2. (in Russian)
16. Belyaeva A.S., Vanko L.V., Matveeva N.K. Neutrophil granulocytes as immune regulators. *Immunology. Russian journal (Immunologiya)*. 2016; 37(2): 129–33. (in Russian)
17. Nikityuk B.A., Chetsov V.P., eds. *The Morphology of human*. Moscow: Moscow State University; 1990. (in Russian)
18. Menshikov V.V., ed. *Laboratory techniques of research in clinic*. Moscow: Medicine; 1984. (in Russian)
19. Pigarevskiy V.E. Lysosomal-cationic test. *Pathological physiology and experimental therapy. Russian journal (Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya)*. 1975; 18(3): 86–8. (in Russian)
20. Bezrukova E.V., Simbircev A.S., Hmelitskaya N.M. Application of lysosomal cationic test to assess the effectiveness of complex treatment of patients with purulent rhinosinusitis. *Cytokines and Inflammation. Russian journal (Tsitokiny i vospalenie)*. 2013; 12(1–2): 137–42. (in Russian)
21. Kadrichева T.G. Features of the functional activity of neutrophilic granulocytes in children with acute lymphoblastic leukemia. *Siberian Journal of Oncology. Russian journal (Sibirskii onkologicheskii zhurnal)*. 2011; 44(2): 62–6. (in Russian)
22. Smirnova O.V., Manchuk V.T. Features of immune cells in acute lymphoblastic leukemia. *Medical Immunology. Russian journal (Meditsinskaya immunologiya)*. 2013; 15(6): 577–84. (in Russian)
23. Jaffe E.S., ed. *WHO Classification of Tumours*. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon; 2001.
24. Loughton S.J., Ashton L.J., Kwan E., Norris M.D., Haber M., Marshall G.M. Early responses to chemotherapy of normal and malignant hematologic cells are prognostic in children with acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(10): 2264–71.
25. Pui C.H., Robison L.L., Look A.T. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet*. 2008; 371(9617): 1030–43.
26. Vrooman L.M., Silverman L.B. Childhood acute lymphoblastic leukemia: update on prognostic factors. *Curr. Opin. Pediatr.* 2009; 21(1): 1–8.
27. Vladimirovskaya E.B., Kaznacheev K.S., Osipova E.Yu., Volynets M.D., Madzaev S.R., Baidun L.V. Later myelosuppressive effect of program chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Hematology and transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiology)*. 2000; 45(1): 3–6. (in Russian)
28. Kaznacheev K.S., Vladimirovskaya E.B. Spontaneous death of bone marrow and peripheral blood during remission of acute lymphoblastic leukemia in children. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine. Russian journal (Bulliten eksperimentalnoy biologii i meditsiny)*. 2002; 11: 551–4. (in Russian)
29. Ermakov G.A. Immunological analysis of children with acute lymphoblastic leukemia and Hodgkins disease. *Far East Medical Journal. Russian journal (Dalnevostochnyy meditsinskii zhurnal)*. 2010; 4: 26–9. (in Russian)

Остальные источники литературы см. в References

REFERENCES

1. Korabelnikova I.S., Grebennikova I.V. The prevalence of acute lymphoblastic leukemia in children Voronezh region. *International Student Bulletin. Russian journal (Mezhdunarodnyi studencheskii vestnik)*. 2015; 2: 113–5. (in Russian)
2. Borisova E.V., Goncharuk Z.N., Taranushenko T.E., Kadrichева T.G. The structure and the incidence of leukemia in children of the Krasnoyarsk Territory during 1991–2004 years. *Current Pediatrics. Russian journal (Voprosy Sovremennoi Pediatrii)*. 2006; 5: 72–3. (in Russian)
3. Rumyantsev A.G., Maschan A.A., Zhukovskaya E.A., eds. *Pediatric hematology. Clinical recommendations*. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. (in Russian)

Поступила 27.05.16
Принята к печати 10.02.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.4-006-085.361.4-013.3:614.2

Хамаганова Е.Г., Кузьмина Е.П., Паровичникова Е.Н., Кузьмина Л.А.,
Чугреева Т.П., Чапова Р.С., Юшкова А.А., Савченко В.Г.

ВЕРОЯТНОСТЬ НАХОЖДЕНИЯ HLA-ИДЕНТИЧНОГО РОДСТВЕННОГО ДОНОРА ДЛЯ БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СИСТЕМЫ КРОВИ ИЗ СЕМЕЙ С РАЗНЫМ ЧИСЛОМ ДЕТЕЙ

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

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток – наиболее эффективный метод лечения гемобластозов и некоторых других заболеваний системы крови, целью которого является излечение больного. Предпочтительные доноры аллогенных гемопоэтических стволовых клеток – HLA-идентичные сиблинги (потомки одних и тех же родителей), так как они наследуют не только одинаковые с больным HLA-гены, но и одни и те же HLA-гаплотипы (HLA-гаплотип – совокупность генов HLA, лежащих на одной хромосоме). Целями работы являлись анализ распределения HLA-идентичных с больным, HLA-гаплоидентичных и расходящихся по обоим HLA-гаплотипам сиблингов у больных с заболеваниями системы крови из семей с разным числом детей и оценка вероятности нахождения HLA-идентичного родственного донора для больного. Установлено, что в семьях пациентов, нуждающихся в трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, HLA-гаплотипы наследуются в соответствии с менделевским типом наследования независимо от числа детей в семье. Примерно четверть сиблингов HLA-идентичны с больным, около половины совпадают с больным только по одному HLA-гаплотипу (HLA-гаплоидентичны), остальные расходятся с больным по обоим HLA-гаплотипам. С увеличением числа сиблингов шансы нахождения HLA-идентичного родственного донора для больного повышаются. Так, вероятность нахождения HLA-идентичного родственного донора для больного с одним сиблингом составила 27%, для больного с двумя сиблингами – 37%, для больного с тремя сиблингами – 47%. Однако HLA-идентичный родственный донор может отсутствовать у больного, нуждающегося в аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, при любом числе сиблингов в семье.

Ключевые слова: трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток; HLA-гаплотип; сиблинг; менделевский тип наследования; распределение HLA-гаплотипов.

Для цитирования: Хамаганова Е.Г., Кузьмина Е.П., Паровичникова Е.Н., Кузьмина Л.А., Чугреева Т.П., Чапова Р.С., Юшкова А.А., Савченко В.Г. Вероятность нахождения HLA-идентичного родственного донора для больных с заболеваниями системы крови из семей с разным числом детей. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 29-32. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-29-32>

*Khamaganova E.G., Kuzminova E.P., Parovichnikova E.N., Kuzmina L.A.,
Chugreeva T.P., Chapova R.S., Yushkova A.A., Savchenko V.G.*

PROBABILITY OF THE FINDING THE HLA-IDENTICAL RELATED DONOR FOR PATIENTS WITH HEMATOLOGICAL DISORDERS FROM FAMILIES WITH DIFFERENT NUMBERS OF CHILDREN

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

Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells is the most effective therapy for patients with hematological malignancies and other hematological disorders. The most preferable donors of allogeneic hematopoietic stem cells are the HLA-identical siblings (descendants of the same parents) because they inherit the identical with patient HLA-haplotypes. The aim of the article was to analyze the segregation of HLA-haplotypes in families of patients with hematological disorders and assessment of the probability to find HLA-identical related donor for patients from families with different number of siblings. HLA-haplotypes are inherited in accordance with Mendelian inheritance regardless of number of siblings in the family of patient with hematological disorder. The more number of siblings, the higher the probability to find HLA-identical related donor. Thus, the probability of the finding of HLA-identical related donor for patients with one sibling accounted near 27%, for patients with two siblings – 37%, for patients with three siblings – 47%. However, HLA-identical related donor can be absent for the patient in need of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation regardless of number of his/her siblings.

Key words: transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells; HLA-haplotype; sibling; Mendelian inheritance; distribution of haplotypes.

For citation: Khamaganova E.G., Kuzminova E.P., Parovichnikova E.N., Kuzmina L.A., Chugreeva T.P., Chapova R.S., Yushkova A.A., Savchenko V.G. Probability of the finding the HLA-identical related donor for patients with hematological disorders from families with different numbers of children. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(1): 29-32. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-29-32>

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 29 June 2016

Accepted 10 February 2017

Для корреспонденции:

Хамаганова Екатерина Георгиевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: ekhamag@mail.ru.

For correspondence:

Khamaganova Ekaterina G., MD, PhD, DSc., leading researcher of the Laboratory of Molecular Hematology of the National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: ekhamag@mail.ru.

Information about authors:

Khamaganova E.G., <http://orcid.org/0000-0002-0110-3314>, Scopus Author ID: 7801399544; Parovichnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>; Kuzmina L.A., <http://orcid.org/0000-0001-6201-6276>; Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>, ID: 8532861000.

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – наиболее эффективный метод лечения гемобластозов и некоторых других заболеваний системы крови [1]. Предпочтительный донор при алло-ТГСК – HLA-идентичный сиблинг или сибс (сибсы – потомки одних и тех же родителей, от *англ.*: sibs – sisters/brothers), так как они наследуют не только одинаковые HLA-гены, но и одни и те же HLA-гаплотипы [2]. HLA-гаплотипом называют совокупность генов HLA, лежащих на одной хромосоме, HLA-генотипом – совокупность генов HLA на обеих хромосомах. Поскольку наследование гаплотипов HLA подчиняется законам Менделя, вероятность совпадения (также как и полного несовпадения) HLA-генотипов у сиблингов составляет 25%, вероятность совпадения одного из HLA-гаплотипов – 50% (рис. 1). Увеличение числа сиблингов повышает шансы найти среди них HLA-идентичного донора гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) для больного. В подавляющем большинстве субъектов Российской Федерации, как и в большинстве европейских стран, многодетными считаются семьи с тремя и большим числом детей.

Имеются отдельные наблюдения, в которых сообщается о неравновесном распределении родительских гаплотипов системы HLA в семьях, где имеется ребенок, больной лейкозом, и более частом, чем следует из менделевского расщепления, нахождении в таких семьях HLA-идентичных сиблингов [3, 4].

Цели исследования – анализ распределения HLA-идентичных с больным, HLA-гаплоидентичных и расходящихся по обоим гаплотипам сиблингов у больных заболеваниями системы крови из семей с разным числом детей и оценка вероятности нахождения HLA-идентичного родственного донора для больного.

Материал и методы

С 01 января 2011 г. по 31 декабря 2015 г. в ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (ГНЦ) были HLA-типированы 523 больных различными заболеваниями системы крови (282 лица мужского пола и 241 женского) в возрасте от 16 до 64 лет (медиана 38,5 года), из них острыми миелоидными лейкозами 195 больных, острыми лимфобластными лейкозами 87, миелодиспластическими синдромами 79, апластической анемией 43, хроническим миелолейкозом 40, множественной миеломой 22, неходжкинскими лимфомами 17, Rh-негативными миелоэритроцитарными заболеваниями 16, хроническим лимфолейкозом 15, лимфогранулематозом 7, анемией Даймонда–Блекфена 1, талассемией 1.

С целью поиска HLA-идентичного родственного донора для алло-ТГСК HLA-типированы 712 сиблингов этих больных, из них мужчин 382 (53,6%), женщин 330 (46,4%). Возраст потенциальных родственных доноров составил от 9 до 65 лет (медиана 37,5 года).

В зависимости от числа сиблингов больные были разделены на четыре группы:

1-я группа – 393 больных с одним сиблингом;

2-я группа – больные с двумя сиблингами (95 больных, 190 сиблингов);

Отец		Мать	
a	b	c	d
A1	A3	A24	A2
C7	C7	C4	C6
B8	B7	B35	B13
DR3	DR15	DR1	DR7
DQ2	DQ6	DQ5	DQ2

Ребенок 1		Ребенок 2		Ребенок 3		Ребенок 4	
a	c	a	d	b	c	b	d
A1	A24	A1	A2	A1	A24	A3	A1
C7	C4	C7	C6	C7	C4	C7	C6
B8	B35	B8	B13	B7	B35	B7	B13
DR3	DR1	DR3	DR7	DR15	DR1	DR15	DR7
DQ2	DQ5	DQ2	DQ2	DQ6	DQ5	DQ6	DQ2

Рис. 1. Менделевский тип наследования HLA-гаплотипов.
a и b – HLA-гаплотипы отца; c и d – HLA-гаплотипы матери.

3-я группа – 19 больных, которые имели по три сиблинга (всего 57);
4-я группа – 16 больных, у которых было четыре и более сиблингов (всего 72).

ДНК получали из венозной крови, взятой в пробирки с этилендиаминетрауксусной кислотой (ЭДТА). Выделение ДНК проводили с помощью набора «Arrow Blood DNA 500» (NorDiag ASA, Norway) на приборе для автоматического выделения нуклеиновых кислот NorDiagArrow или с помощью набора DNA Isolation Kit («Life Technologies», США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции с сиквент-специфическими праймерами (PCR-SSP) по 5 генам HLA – *HLA-A*-B*-C*-DRB1*-DQB1** с использованием наборов Olerup («Olerup SSPAB», Швеция). В соответствии с EFLI-стандартами во всех случаях HLA-геноидентичность HLA-фенотипически идентичного донора была подтверждена или выведением всех четырех родительских HLA-гаплотипов (при типировании родителей и ближайших родственников), или типированием при высоком разрешении (с разрешением на уровне аллелей по позициям, кодирующим пептидсвязывающий сайт молекул HLA) генов HLA класса II, а также тех генов HLA класса I, по которым при низком разрешении выявлялось отсутствие второго аллеля.

При расхождении по одному из вариантов хотя бы одного гена HLA больной и его сиблинг считались HLA-гаплоидентичными, при расхождении по обоим вариантам хотя бы одного гена HLA больной и его сиблинг считались расходящимися по обоим HLA-гаплотипам.

Статистическую значимость различий наблюдаемого и теоретического расщепления HLA-гаплотипов проводили с использованием таблиц сопряженности и критерия χ^2 [5]. Пороговый уровень статистической значимости – 0,05.

Результаты

В 1-й группе (больные, имеющие одного сиблинга) из исследования были исключены 4 больных с HLA-идентичным родственным донором, поскольку было известно, что они ранее HLA-типировались в других клиниках и в ГНЦ этим парам пациент – родственник донор типирование проводили повторно с целью подтверждения HLA-идентичности перед алло-ТГСК. Также из исследования были исключены две пары больной–сиблинг, которые при обследовании оказались однойцевыми близнецами. Таким образом, в 1-ю группу пациентов вошли 387 больных заболеваниями системы крови, имевших одного сиблинга, не являвшегося однойцевым близнецом. Распределение HLA-идентичных с больным, HLA-гаплоидентичных и расходящихся по обоим гаплотипам братьев/сестер у больных с разным числом сиблингов представлено в таблице.

Поскольку 1-я группа охватывала наиболее значительное число больных (75%), для этой группы был проведен отдельный анализ статистической значимости различий наблюдаемого и теоретического распределения HLA-гаплотипов. Анализ показал, что в группе больных, имеющих только одного сиблинга, наблюдаемое расщепление HLA-гаплотипов у сиблингов больных статистически незначимо по сравнению с ожидаемым (теоретическим). 27% сиблингов совпали с больным по обоим HLA-гаплотипам, 52% – по одному HLA-гаплотипу, 21% расходились с больным по обоим HLA-гаплотипам.

Из многодетных семей были 130 (25%) больных. Сохранялся вопрос: происходит ли наследование HLA-гаплотипов по законам Менделя в семьях больных из многодетных семей? В совокупности 130 больных имели 319 сиблингов, из которых HLA-идентичны с больным были 22%, совпадали с больным по одному HLA-гаплотипу – 56%, 22% сиблингов расходились с больным по обоим HLA-гаплотипам. Таким образом, полученные данные показали, что и в многодетных семьях сохраняется менделевское расщепление HLA-гаплотипов.

Итак, из всех 706 сиблингов 517 включенных в исследование больных 173 (24%) сиблинга были HLA-идентичны с больным, 380 (54%) сиблингов расходились с больным по одному HLA-гаплотипу, а 153 (22%) сиблинга не имели с больным общих HLA-гаплотипов. Следовательно, наблюдаемое расщепление HLA-гаплотипов у больных заболеваниями системы крови и их сиблингов практически совпало с ожидаемым (теоретическим) расщеплением в соответствии с менделевским типом наследования.

Распределение HLA-идентичных, HLA-гаплоидентичных и расходящихся по обоим гаплотипам с больным сиблингов у больных из семей с разным числом детей

Больные	Число больных	Сиблинги			
		HLA-идентичные с больным	HLA-гаплоидентичные с больным	расходящиеся по обоим HLA-гаплотипам с больным	всего сиблингов в группе
Больные с одним сиблингом	387 (75%)	104 (27%)	200 (52%)	83 (21%)	387
<i>p</i>		0,55	0,64	0,23	
Больные из многодетных семей:					
с двумя сиблингами	95 (18%)	41 (22%)	106 (56%)	43 (21%)	190
с тремя сиблингами	19 (4%)	11 (19%)	32 (56%)	14 (25%)	57
с четырьмя сиблингами и более	16 (3%)	17 (24%)	42 (58%)	13 (18%)	72
Всего ...	130 (25%)	69 (22%)	180 (56%)	70 (22%)	319
<i>p</i>		0,30	0,11	0,30	
Итого ...	517 (100%)	173 (24%)	380 (54%)	153 (22%)	706 (100%)
<i>p</i>		0,81	0,15	0,13	

Примечание. *p* – статистическая значимость различий с теоретическим расщеплением.

Естественно, что для больных из многодетных семей увеличиваются шансы найти HLA-идентичного родственного донора. К тому же больной из многодетной семьи может иметь не одного, а нескольких HLA-идентичных доноров. Однако в многодетных семьях сиблинги больного часто HLA-идентичны друг с другом, но не с больным, поэтому даже для больных с несколькими сиблингами не всегда удается подобрать HLA-идентичного родственного донора.

HLA-идентичного донора имели 27% больных 1-й группы (с одним сиблингом), **рис. 2**. Во 2-й группе (с двумя сиблингами) больных с HLA-идентичными родственными донорами было 37% (различия между группами статистически значимы; $p = 0,05$). В 3-й группе больных с тремя сиблингами HLA-идентичного донора имели 47% больных. В 4-й группе больных с четырьмя и большим числом сиблингов доля HLA-идентичных родственных доноров достигала 63%. Отсутствие статистической значимости различий между 2-й и 3-й группами ($p = 0,39$), а также между 3-й и 4-й группами ($p = 0,37$), вероятно, связано с незначительным числом больных в 3-й и 4-й группах (всего 19 и 16 пациентов соответственно).

Больные 4-й группы ($n = 16$) имели не менее 4 сиблингов (от 4 до 7, всего 72). В этой группе обязательно имелись HLA-идентичные между собой сиблинги, так как в этих семьях было 5 детей и больше, а вариантов наследования HLA-гаплотипов в соответствии с менделевским расщеплением возможно только 4 (см. **рис. 1**), исключая случаи кроссинговера. Однако и в этой группе не для всех больных находился HLA-идентичный сиблинг. HLA-идентичный родственный донор был найден только для 10 (63%) пациентов, у 6 (37%) больных HLA-идентичный сиблинг отсутствовал.

Обсуждение

Проведенное исследование показало, что в семьях больных с заболеваниями системы крови (при этом более 50% исследованных нами пациентов составляли больные острыми лейкозами) наследование HLA-гаплотипов происходит в соответствии с менделевским типом наследования. Примерно четверть сиблингов независимо от числа детей в семье HLA-идентична с больными.

Полученные нами данные говорят против неравновесного наследования HLA-гаплотипов в семьях больных с заболеванием системы крови. Конечно, наблюдаемое в семьях наших больных распределение HLA-гаплотипов не полностью совпадает с теоретическим расщеплением, хотя и не имеет с ним статистически достоверных различий. Некоторое снижение доли HLA-идентичных с больным сиблингов может быть связано с таким явлением, как кроссинговер. Рекомбинантная хромосома, образующаяся вследствие кроссинговера в районе комплекса HLA-генов, делает ее носителя неHLA-

идентичным с носителями нормальных (некроссоверных) родительских хромосом. К сожалению, в данном исследовании HLA-типирование родителей больных проводили не всегда, поэтому выявить доказанный по раскладке родительских HLA-гаплотипов кроссинговер не представлялось возможным. Однако поскольку известно, что частота рекомбинаций в HLA-комплексе не превышает 0,94% [6], возможное проявление неучтенных рекомбинаций не могло оказать существенно влияния на наблюдаемое распределение HLA-гаплотипов.

Незначительное понижение доли сиблингов, расходящихся с больным по обоим HLA-гаплотипам, и повышение доли HLA-гаплоидентичных сиблингов возможно было также связано с тем, что в отличие от HLA-идентичных с больным сиблингов, неHLA-идентичным сиблингам не проводилось подтверждающее типирование с высоким разрешением, так как они были отведены в качестве HLA-идентичных доноров уже по результатам HLA-типирования при низком разрешении. Поэтому теоретически в число HLA-гаплоидентичных сиблингов могли попасть некоторые сиблинги на самом деле расходящиеся с больным по обоим HLA-гаплотипам на уровне высокого разрешения.

Можно предполагать, что причиной заключения о неравновесном распределении родительских HLA-гаплотипов в семьях, где имеется ребенок, больной лейкозом, и более частом, чем следует из менделевского расщепления, нахождении в таких семьях HLA-идентичных сиблингов [3], могла быть небольшая выборка исследования (всего 101 семья,

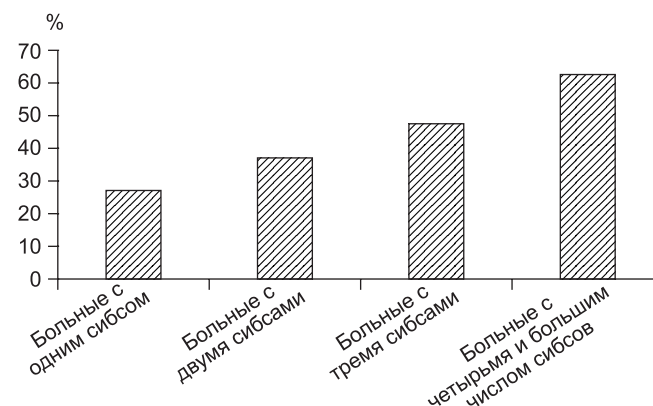


Рис. 2. Больные, имеющие HLA-идентичного родственного донора, среди пациентов с разным числом сиблингов.

По оси абсцисс – больные из семей с разным числом сиблингов; по оси ординат – больные с HLA-идентичным родственным донором.

из которых в 50 было два ребенка: больной + сиблинги). К тому же широкое внедрение в практику методов ДНК-типирования HLA-системы в последние десятилетия значительно улучшило качество HLA-типирования.

С увеличением числа сиблингов повышается шанс нахождения HLA-идентичного с больным родственного донора. Вероятность нахождения HLA-идентичного родственного донора для больного с одним сиблингом составила 27%, для больного с двумя сиблингами – 37%, для больного с тремя сиблингами – 47%. Однако HLA-идентичный с больным донор может отсутствовать при любом числе сиблингов. Для больных, у которых отсутствует HLA-идентичный родственный донор, необходим поиск HLA-совместимого неродственного донора. Следует иметь в виду, что число многодетных семей постоянно сокращается, понижается средний коэффициент рождаемости, поэтому число больных, для которых имеется возможность подобрать HLA-идентичного родственного донора, постоянно снижается.

Таким образом, в семьях больных с заболеваниями системы крови HLA-гаплотипы наследуются в соответствии с менделевским расщеплением независимо от числа детей в семье.

С увеличением числа сиблингов шансы нахождения HLA-идентичного родственного донора повышаются. Вероятность нахождения HLA-идентичного родственного сиблинга у больных с одним сиблингом близка к 25% (27%), около 37% у больных с двумя сиблингами и возрастает до 47% для больных с тремя сиблингами. Однако HLA-идентичный родственный донор может отсутствовать у больного, нуждающегося в трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, при любом числе сиблингов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Савченко В.Г., ред. *Программное лечение заболеваний системы крови: Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови*. М.: Практика; 2012.
2. Tiercy J.M. Immunogenetics of allogeneic HCST. In: The EBMT Handbook 2008. Available at <http://www.ebmt.org/Contents/Resources/Library/EBMTESHhandbook/> (Accessed 25 February 2016)
3. Зотиков Е.А., Красникова Н.А., Кутына Р.М., Удовиченко А.И., Любимова Л.С. Неменделевский тип наследования комплекса HLA. *Иммунология*. 1989; 6: 20–3.
4. Зарецкая Ю.М., Алешченко С.М., Леднев Ю.А., Мамиляева З.Х., Чугреева Т.П., Хамаганова Е.Г. и др. Неожиданные эффекты в наследовании антигена HLA-A19. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2005; 2: 26–30.
5. Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. М.: Практика; 1998.
6. Martin M., Mann D., Carrington M. Recombination rates across the HLA complex: use of microsatellites as a rapid screen for recombinant chromosomes. *Hum. Mol. Genet.* 1995; 4(3): 423–8.

REFERENCES

1. Savchenko V.G., ed. *Program treatment of blood diseases: Diagnostic and treatment protocols for hematological diseases*. Moscow: Praktika; 2012. (in Russian)
2. Tiercy J. M. Immunogenetics of allogeneic HCST. In: The EBMT Handbook 2008. Available at <http://www.ebmt.org/Contents/Resources/Library/EBMTESHhandbook/> (accessed 25 February 2016)
3. Zotikov E.A., Krasnikova N.A., Kutina R.M., Udovichenko A.I., Lubimova L.S. Non Mendelian inheritance of HLA complex. *Immunology. Russian Journal (Immunologiya)*. 1989; 6: 20–3. (in Russian)
4. Zaretskaya Yu.M., Aleshchenko S.M., Lednev Yu.A., Mamilyaeva Z.Kh., Chugreeva T.P., Khamaganova E.G., et al. Unexpected effects in the inheritance of HLA-A19 antigen. *Bulletin of Transplantology and Artificial Organs. Russian Journal (Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov)*. 2005; 2: 26–30. (in Russian)
5. Glants S. *Bio-medical statistics*. Moscow: Praktika; 1998. (In Russian)
6. Martin M., Mann D., Carrington M. Recombination rates across the HLA complex: use of microsatellites as a rapid screen for recombinant chromosomes. *Hum. Mol. Genet.* 1995; 4(3): 423–8.

Поступила 29.06.16
Принята к печати 10.02.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017
УДК 616.36-002-022-032:611-018.5]:615.38

Туполева Т.А., Романова Т.Ю., Гуляева А.А., Тихомиров Д.С., Игнатова Е.Н., Овчинникова Е.Н., Ярославцева Н.Г., Абакаров Р.Р., Мисько О.Н., Гапонова Т.В., Савченко В.Г.

ОПАСНОСТЬ ПЕРЕДАЧИ ВИРУСОВ ГЕПАТИТОВ В И С С КРОВЬЮ ДОНОРОВ

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

Остаточный риск трансфузионного инфицирования вирусами гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС) в России в несколько десятков раз выше, чем в США. В развитых странах уже много лет широко применяется тестирование с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) как индивидуальных образцов крови доноров, так и в формате минипулов. Это выгодное экономическое решение, поскольку снижает стоимость заготавливаемых компонентов крови. Актуальным остается вопрос – обеспечивает ли такой подход должный уровень вирусной безопасности? Молекулярные маркеры вирусов выявляли в серонегативных образцах плазмы доноров ($n = 33\,799$) в пулах из 6. Количественно охарактеризованы 72 позитивных образца: 21 по ДНК ВГВ, 51 – РНК ВГС. Исследованы 17 экспериментально приготовленных пулов плазмы, содержащих ДНК ВГВ- или РНК ВГС-позитивный образец. Использованы коммерческие наборы реагентов. За весь период исследования ПЦР-тестирование позволило дополнительно определить наличие инфицирования ВГВ у 3 доноров и ВГС у 3. Низкие значения концентрации ДНК ВГВ зарегистрированы в 14 из 21 образца крови доноров, а в 4 образцах концентрация находилась на пороговом уровне чувствительности тест-системы. Низкие концентрации РНК ВГС определены в 14 из 51 образца крови доноров. Высокие значения концентрации РНК ВГС преобладали (в 37 образцах). Все 5 пулов из 6 и из 12 образцов, содержащих РНК ВГС-позитивный образец плазмы, были положительными. ДНК ВГВ была выявлена в 7 из 10 пулов из 6 образцов, а 2 пула из 12 образцов оказались отрицательны. Учитывая полученные нами данные по высокой частоте низких концентраций ДНК ВГВ (66,67% случаев), тестирование донорской крови методом ПЦР в формате минипулов может приводить к недо выявлению инфицированных образцов при использовании тест-систем, обладающих недостаточной чувствительностью.

К л ю ч е в ы е с л о в а: вирусы гепатитов В и С; донорская кровь; молекулярные маркеры.

Для цитирования: Туполева Т.А., Романова Т.Ю., Гуляева А.А., Тихомиров Д.С., Игнатова Е.Н., Овчинникова Е.Н., Ярославцева Н.Г., Абакаров Р.Р., Мисько О.Н., Гапонова Т.В., Савченко В.Г. Опасность передачи вирусов гепатитов В и С с кровью доноров. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 32–36. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-32-36>

Tupoleva T.A., Romanova T.Yu., Gulyaeva A.A., Tikhomirov D.S., Ignatova E.N., Ovchinnikova E.N.,
Yaroslavl'tseva N.G., Abakarov R.R., Misko O.N., Gaponova T.V., Savchenko V.G.

RISK OF TRANSMISSION OF HEPATITIS B AND C VIRUSES BY BLOOD TRANSFUSION

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

The residual risk of transfusion infection by hepatitis B virus (HBV) and C (HCV) in Russia is several tens of times higher than in the USA. In developed countries for many years there is widely used the testing the blood samples by means of the polymerase chain reaction (PCR) of individual donors and mini-pools. This is an advantageous economic decision, because it reduces the cost of preparing of blood components.

The aim of the study was to analyze the proper level of the viral safety. Molecular markers of viruses were detected in plasma samples of seronegative donors ($n = 33,799$) in pools out of 6. The levels of viral molecular markers were calculated in 72 positive samples: 21 – HBV DNA, 51 – HCV RNA. There were investigated prepared experimentally 17 plasma pools contained HBV DNA, HCV RNA positive specimen. Commercial reagent kits were used.

Key words: hepatitis B and C viruses; blood donations; molecular markers.

For citation: Tupoleva T.A., Romanova T.Yu., Gulyaeva A.A., Tikhomirov D.S., Ignatova E.N., Ovchinnikova E.N., Yaroslavl'tseva N.G., Abakarov R.R., Misko O.N., Gaponova T.V., Savchenko V.G. Risk of transmission of hepatitis B and C viruses by blood transfusion. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i Transfusiology)*. 2017; 62(1): 32-36. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-32-36>

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 15 September 2016

Accepted 10 February 2017

До 1970 г. около 6% реципиентов компонентов крови в мире были инфицированы ВГВ, поскольку каждая 1000-я донорская порция содержала вирус [1]. Работы по расчету риска передачи с кровью вирусов гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС), иммунодефицита человека (ВИЧ) и человеческого Т-лимфотропного вируса 1-го типа появились в конце XX века [2–4]. По данным Р. Рогер и соавт. [5], в странах Европы в расчете на 1 000 000 кроводач остаточный риск трансфузионного инфицирования (ОРТИ) для ВГВ, ВГС и ВИЧ составлял 6,92 (1,15–40,8); 15 (0,62–36,9); 0,58 (0–1,27) соответственно. В России первые подобные работы были выполнены в ГНЦ в 2000 г., когда на основании анализа данных инфицированности вирусными агентами донорской крови за 4 года (1996–1999), выявлено,

что на каждые 100 донорских порций приходился 1 случай возможной передачи вирусов гепатитов В или С [6]. В 2004 г. проведен расчет риска контаминации препаратов «Плазма для фракционирования» и «Криопреципитат» при отрицательных результатах тестирования исходного сырья на стандартные маркеры вирусных инфекций. Для плазмы риск контаминации по HBsAg составлял 1:288, анти-HCV 1:186, анти-VII_{1,2} 1:2472, для криопреципитата – 1:151, 1:184, 1:7330 соответственно [7]. Более поздние оценки ОРТИ, рассчитанные на основе анализа данных обследования доноров крови, мониторинга реципиентов множественных трансфузий и контрольного тестирования плазмы крови для производства ее препаратов, составляют для ВГС 940, 1600 и 630 на 1 млн кроводач, трансфузий и единиц плазмы соответственно [8], что, по данным исследований 2014 г., в несколько десятков раз выше, чем в США [9, 10].

Введение молекулярных методов диагностики в рутинную практику больших трансфузионных центров существенно повышает вирусную безопасность крови в отношении передачи ВГВ и ВГС, поскольку РНК ВГС определяется в плазме уже через 1–2 нед после контакта с вирусом и достигает высоких уровней ко времени повышения концентрации аланинаминотрансферазы (АЛТ) и сероконверсии (7–8 нед) [11, 12], а обнаружение ДНК ВГВ позволяет сократить негативное окно до 15 дней и сохраняется при остром гепатите в определяемой концентрации более 3 мес [13]. Тем не менее нулевой риск инфицирования ВГВ, ВГС и ВИЧ при переливании компонентов донорской крови до настоящего времени не достигнут.

За последнее десятилетие было опубликовано много работ, посвященных особенностям патогенеза ВГВ- и ВГС-инфекций [14–17]. Одной из таких особенностей является транзитный характер присутствия в крови различных компонентов вирусов и антител к вирусным белкам. Например, HBsAg, который является основным маркером вирусного гепатита В при рутинной лабораторной диагностике, может периодически не определяться в кровотоке у больных хронической формой инфекции, в том числе в фазе обострения [14]. Кроме того, широко распространены скрытые формы вирусных гепатитов В и С [18, 19]. По мнению F. Hollinger [18], в США, распространенность скрытой ВГВ-инфекции среди доноров крови составляет 2,4%, а в схожих группах доноров, проживающих на эндемичных территориях, достигает 6%. Скрытая ВГС-

Для корреспонденции:

Туполева Татьяна Алексеевна, кандидат медицинских наук, заведующий научно-клиническим отделом вирусологической диагностики, врач-вирусолог ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: ttupoleva@mail.ru.

For correspondence:

Tupoleva Tatiana A., MD, PhD, head of the research and clinical virology diagnostic department, physician virologist National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: ttupoleva@mail.ru.

Information about authors:

Tupoleva T.A., <http://orcid.org/0000-0003-4668-9379>, ID: 6505936805; Romanova T.Yu., <http://orcid.org/0000-0001-7182-2296>; Gulyaeva A.A., <http://orcid.org/0000-0002-0888-6147>; Tikhomirov D.S., <http://orcid.org/0000-0002-2553-6579>, ID: 22735552300; Ignatova E.N., <http://orcid.org/0000-0003-3121-037X>, ID: 7003301655; Ovchinnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0002-9254-8916>; Yaroslavl'tseva N.G., <http://orcid.org/0000-0001-8198-7326>, ID: 6603707331; Abakarov R.R., <http://orcid.org/0000-0002-0650-2779>; Misko O.N., <http://orcid.org/0000-0002-4728-2610>; Gaponova T.V., <http://orcid.org/0000-0002-9684-5045>, ID: 6504211991; Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>, ID: 8532861000.

Таблица 1
Результаты ПЦР-тестирования пулированных образцов
плазмы доноров

№	Величина и содержание пула	Результат ПЦР-тестирования
1	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
2	5 ДНК- и 1 ДНК+	–
3	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
4	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
5	5 ДНК- и 1 ДНК+	–
6	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
7	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
8	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
9	5 ДНК- и 1 ДНК+	+
10	5 ДНК- и 1 ДНК+	–
11	11 ДНК- и 1 ДНК+	–
12	11 ДНК- и 1 ДНК+	–
13	5 РНК- и 1 РНК+	+
14	5 РНК- и 1 РНК+	+
15	5 РНК- и 1 РНК+	+
16	11 РНК- и 1 РНК+	+
17	11 РНК- и 1 РНК+	+

инфекция встречается у 3,3% лиц без диагностированной патологии печени и повышения уровней аминотрансфераз [20].

В развитых странах уже много лет широко применяют тестирование с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) как индивидуальных образцов крови доноров, так и в формате минипулов и больших производственных пулов плазмы. В России применение молекулярных методов в службе крови носило рекомендательный характер и использовалось ограниченно до 2013 г., когда было введено обязательное обследование на наличие РНК ВГС доноров крови и ее компонентов, органов и тканей при каждой донорской или каждой взятии донорского материала согласно санитарно-эпидемиологическим правилам 3.1.3112-13 «Профилактика вирусного гепатита С». Использование пулирования для данного обследования представляется выгодным экономическим решением, поскольку снижает стоимость диагностики, следовательно, и заготавливаемых компонентов крови. Актуальным остается вопрос – обеспечивает ли такой подход должный уровень вирусной безопасности?

Цель настоящего исследования – изучить возможность пропуска инфицированных ВГВ и ВГС доз крови при лабораторном тестировании маркеров этих вирусов.

Материал и методы

Скрининговое исследование на наличие нуклеиновых кислот ВИЧ, ВГС и ВГВ серонегативных образцов плазмы доноров проводили в пулах из 6 проб с помощью автоматических анализаторов Cobas Ampliprep и Cobas Taqman («Roche», Швейцария) с использованием мультиплексного дискриминационного теста Cobas TaqScreen MPX Test, version 2.0. Заявленная аналитическая чувствительность мультиплексного дискриминационного теста Cobas TaqScreen MPX Test, version 2.0 составляет 13,8 МЕ/мл для ДНК ВГВ и 40,8 МЕ/мл для РНК ВГС при тестировании в формате минипулов из 6 образцов. Количество исследованных образцов крови доноров составило 33 799 в 2009 и 2012–2016 гг.

Количественно охарактеризованы 72 ПЦР-позитивных образца (21 по ДНК ВГВ и 51 по РНК ВГС) с помощью коммерческих наборов реагентов производства ЦНИИЭ: «Рибо-преп», АмплиСенс HCV-Монитор-FRT и -FL, АмплиСенс HBV-Монитор-FRT и -FL. Амплификацию с детекцией флуоресцентного сигнала в режиме реального времени проводили на приборах RG 3000 и Rotor Gene Q («Corbett Research»).

Исследованы 17 экспериментально приготовленных пулов плазмы. Плазму пулировали, смешивая в пробирке по одному

позитивному образцу с концентрацией ДНК ВГВ от менее $1,5 \times 10^2$ до 10^3 МЕ/мл ($n = 12$) или РНК ВГС от 10^4 до 10^7 МЕ/мл ($n = 5$) с отрицательными образцами плазмы в равных объемах. Было приготовлено 13 пулов из 6 образцов и 4 из 12 образцов. Выделение нуклеиновых кислот проводили с помощью наборов реагентов «Рибо-преп» и «Магно-сорб» согласно прилагаемым инструкциям. Для амплификации использовали коммерческие наборы реагентов АмплиСенс HCV-FRT и HCV-FL, АмплиСенс HBV-FRT и HBV-FL.

Результаты

В 2009 г. было протестировано 1200 серонегативных образцов крови доноров на ДНК ВГВ, РНК ВГС и ВИЧ в пулах из 6 проб. Был выявлен 1 образец крови донора, содержащий РНК ВГС. В 2013 г. в тех же условиях были исследованы 4736 образцов крови доноров, что составило 36,3% от общего числа донаций (13 047). В 2 из них была определена ДНК ВГВ в концентрации менее $1,5 \times 10^2$ МЕ/мл. Примечательно, что в обоих образцах присутствовали антитела к ядерному антигену ВГВ (анти-НВс). В то же время в 2014 г., когда на молекулярные маркеры вирусных инфекций было протестировано 77,5% кроводач (9128 из 11 781), а в 2015 г. все 100% (12 677), ни в одном случае не было зарегистрировано положительной реакции. За 6 мес 2016 г. исследовано 6058 серонегативных образцов крови доноров, получено 2 положительных сигнала по РНК ВГС (концентрация РНК ВГС составляла $1,7 \times 10^5$ и 4×10^6 МЕ/мл) и в 1 случае выявлена ДНК ВГВ. При попытке количественно охарактеризовать концентрацию ДНК в последнем образце с помощью набора реагентов с линейным диапазоном измерения 75–100 000 000 МЕ ВГВ/мл был получен отрицательный результат, кроме того, отсутствовали все серологические маркеры вируса гепатита В (НВsAg, анти-НВс, НВeAg, анти-НВe; суммарные анти-НВс, анти-НВс IgM). Через 16 дней в образце крови этого донора концентрация АЛТ была 14 единиц, а концентрация ДНК ВГВ при выделении из 500 мкл плазмы составила $1,4 \times 10^3$ МЕ/мл, серологические маркеры не обнаружены. Со слов донора, через 2,5 мес с момента первичного выявления ДНК ВГВ у него появились тошнота, затем темная моча, жидкий стул, концентрация АЛТ составила 2100 ед., а затем наблюдалось постепенное снижение этого показателя в течение 1 мес до значений 1600 и 400 ед. Через 4 мес концентрация АЛТ была 24 ед., результат исследования образца крови на наличие НВsAg, суммарные анти-НВс, анти-НВс IgM, анти-НВe был положительный, НВeAg, анти-НВс – отрицательные; ДНК ВГВ выявлена в концентрации $1,1 \times 10^3$ МЕ/мл. Данный донор относился к категории «активный повторный донор», совершал ежемесячные донации, и результаты исследования образцов его крови на молекулярные и серологические инфекционные маркеры ранее были отрицательными. Таким образом, на момент последней донации донор находился в начальной стадии заболевания вирусным гепатитом В – «негативного окна».

С целью оценки возможного пропуска инфицированных ВГВ или ВГС образцов крови при тестировании методом ПЦР в пулах из 6 и более образцов мы приготовили 17 пулов. Один из образцов в пуле был положительным по ДНК ВГВ или РНК ВГС. Результаты тестирования представлены в табл. 1.

Все 5 пулов и из 6 и из 12 образцов, содержащие РНК ВГС-позитивный образец плазмы, были положительными. ДНК ВГВ выявлена в 7 из 10 пулов из 6 образцов, а 2 пула из 12 образцов оказались отрицательными.

Для уточнения уровней вирусной нагрузки были количественно охарактеризованы по ДНК ВГВ и РНК ВГС 72 ПЦР-позитивных образца крови доноров. Как следует из представленных в табл. 2 данных, ДНК ВГВ выявлена в концентрации менее $1,5 \times 10^2$ МЕ/мл в 4 (19,05%) образцах, в диапазоне от $1,5 \times 10^2$ до 10^3 МЕ/мл – также в 4 (19,05%) образцах, в 6 (28,57%) случаях – в диапазоне от 10^3 до 10^4 МЕ/мл. Высокие концентрации ДНК ВГВ в диапазоне от 10^4 до 10^5 МЕ/мл отмечены в 4 (19,05%) случаях, в диапазоне от 10^5 до 10^6 МЕ/мл – в 1 (4,76%) случае и более 10^6 МЕ/мл – в образцах плазмы 2 (9,52%) доноров.

Как следует из табл. 3, низкие концентрации РНК ВГС определены в 27,5% образцов крови доноров: менее 300 МЕ/мл

Таблица 2

Количественная характеристика ДНК ВГВ-позитивных образцов крови доноров

Концентрация ДНК ВГВ	Количество	%	Степень концентрации
Менее $1,5 \times 10^2$ МЕ/мл	4	19,05	Низкая 66,67%
От $1,5 \times 10^2$ до 10^3 МЕ/мл	4	19,05	
От 10^3 до 10^4 МЕ/мл	6	28,57	
От 10^4 до 10^5 МЕ/мл	4	19,05	
От 10^5 до 10^6 МЕ/мл	1	4,76	
Более 10^6 МЕ/мл	2	9,52	Высокая 33,33%
Всего...	21	100	

в 1 (1,96%) случае, в диапазоне от 10^3 до 10^4 МЕ/мл в 2 (3,92%), в диапазоне от 10^4 до 10^5 МЕ/мл в 11 (21,57%) случаях. Высокие значения концентрации РНК ВГС определены в 72,55% случаев, при этом в диапазоне от 10^5 до 10^6 МЕ/мл выявлены в 17 (33,33%) образцах и более 10^6 МЕ/мл – в 20 (39,2%).

Обсуждение

Методы, выявляющие белковые маркеры вирусов гепатитов В и С (HBsAg и анти-ВГС), и методы детекции нуклеиновых кислот этих вирусов не являются альтернативными, но дополняют друг друга [21]. По результатам исследований образцов крови доноров ФГБУ ГНЦ в период с 2007 по 2008 г. в половине случаев HBsAg-позитивных образцов крови выявлена и ДНК ВГВ, в то время как при исследовании HBsAg-негативных образцов ДНК ВГВ зарегистрирована в 9 (2%) случаях. Дополнительно обнаруженные 2% инфицированных ВГВ доноров могли находиться как в период «серологического окна», так и иметь скрытую форму гепатита В. Для уточнения стадии инфекционного процесса были проведены дополнительные исследования на широкий спектр маркеров ВГВ. Обнаружено, что 2 из 9 образцов содержали антитела к ВГВ (анти-HBs и в сочетании с анти-HBc), что характерно для скрытой формы гепатита, а остальные были серонегативны, что можно объяснить ранней фазой заболевания. При исследовании крови на маркеры ВГС получены следующие данные: РНК ВГС выявлена в 60% анти-ВГС-позитивных образцов крови доноров и лишь в 0,2% анти-ВГС-негативных. Таким образом, тестирование на РНК ВГС образцов крови доноров дополнительно выявило около 0,2% инфицированных лиц [21].

Суммируя данные, полученные в ходе данного исследования, установлено, что использование ПЦР-тестирования в рутинной практике позволило дополнительно определить наличие инфицирования ВГВ или ВГС почти у 0,02% доноров, образцы крови которых были негативны по рутинным скрининговым маркерам, что существенно меньше по сравнению с предыдущими результатами. Данный факт можно объяснить введением с 2014 г. тестирования крови доноров на анти-HBc. Поскольку ДНК ВГВ может периодически снижаться ниже детектируемого уровня, отмечена необходимость анти-HBc-тестирования для выявления скрытых форм ВГВ-инфекции. Следовательно, образцы крови доноров с серопозитивным вариантом скрытого гепатита В были исключены уже на этапе иммунохимического скрининга. Полученные данные находят подтверждение и в литературе, поскольку среди доноров существенно чаще встречаются лица со скрытым гепатитом В по сравнению с донорами, находящимися в ранней серонегативной фазе инфекции (42 и 8 случаев соответственно) [22]. После введения рутинного скрининга образцов крови доноров на анти-HBc только в 3 случаях получен положительный сигнал при ПЦР-тестировании. Все 3 образца крови принадлежали «активным повторным донорам», которые к моменту последней кроводачи находились в ранней фазе инфекционного заболевания, представляли инфекционную опасность и только благодаря ПЦР-исследованию с использованием

Таблица 3

Количественная характеристика РНК ВГС-позитивных образцов крови доноров

Концентрация РНК ВГС	Количество	%	Степень концентрации
Менее 300 МЕ/мл	1	1,96	Низкая 27,45%
От 10^3 до 10^4 МЕ/мл	2	3,92	
От 10^4 до 10^5 МЕ/мл	11	21,57	
От 10^5 до 10^6 МЕ/мл	17	33,33	
Более 10^6 МЕ/мл	20	39,22	Высокая 72,55%
Всего...	51	100	

высокочувствительной тест-системы компоненты крови, заготовленные от этих доноров, не были допущены до клинического применения.

По результатам экспериментального исследования разведения образцов в 6 и 12 раз не повлияло на выявление РНК ВГС, но привело к недовыявлению инфицированных ВГВ образцов крови в 5 (41,7%) из 12 случаев. Данный эксперимент был выполнен с помощью наборов реагентов с заявленной аналитической чувствительностью согласно инструкции 100 МЕ/мл для РНК ВГС и ДНК ВГВ при объеме экстракции из 100 мкл плазмы. Чувствительность теста, используемого для рутинного скрининга молекулярных маркеров вирусов, составляет 13,8 МЕ/мл для ДНК ВГВ и 40,8 МЕ/мл для РНК ВГС при тестировании в формате минипулов из 6 образцов, что позволяет осуществлять более полное выявление инфицированных образцов. Так, в 2013 г. выявлено 2 образца плазмы крови доноров с низкими уровнями ДНК ВГВ (менее $1,5 \times 10^2$ МЕ/мл), а в 2016 г. – 1 образец, в котором даже не удалось получить положительный сигнал при попытке количественно охарактеризовать уровень ДНК.

Низкие значения концентрации ДНК ВГВ зарегистрированы в $\frac{2}{3}$ образцов крови доноров, положительных по этому маркеру, а в $\frac{1}{5}$ части образцов концентрация находилась на пороговом уровне чувствительности тест-системы. Полученные данные подтверждают данные литературы о широком распространении скрытых форм ВГВ, для которых характерна низкая вирусная нагрузка [18, 22]. В отношении РНК ВГС отмечена противоположная закономерность. Низкие концентрации РНК ВГС определены в 27,5% образцов крови доноров. Высокие значения концентрации РНК ВГС определены в 72,55% случаев. Полученные данные свидетельствуют, что разведение в шесть раз при ПЦР-скрининге образцов плазмы доноров не критично для выявления РНК ВГС, поскольку большая часть образцов демонстрировала высокую вирусную нагрузку. В то же время отмечены низкие показатели ДНК ВГВ в большинстве исследованных образцов крови доноров, что может приводить к недовыявлению инфицированных ВГВ доз крови при тестировании в формате минипулов, что подтверждается результатами нашего экспериментального исследования, когда было недовыявлено более 40% пулов, содержащих ДНК ВГВ-позитивный образец. Пулирование исследуемых донорских образцов, безусловно, снижает экономические затраты на проведение анализа, но одновременно снижает чувствительность метода, приводя к подпороговым уровням концентрации ДНК ВГВ и, следовательно, оставляя их за аналитической чувствительностью используемой тест-системы.

Таким образом, ПЦР-исследование необходимо при обследовании доноров крови на наличие вирусных маркеров, поскольку позволяет наиболее полно выявить инфицированных лиц. Учитывая полученные нами данные по высокой частоте низких концентраций ДНК ВГВ (66,67% случаев), тестирование донорской крови методом ПЦР в формате минипулов может приводить к недовыявлению инфицированных образцов при использовании тест-систем, обладающих недостаточной чувствительностью.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Голосова Т.В., Туполева Т.А., Сомова А.В., Ярославцева Н.Г., Багрянцева С.Ю., Гуляева А.А., Овчинникова Е.Н., Филатов Ф.П. Оценка риска передачи вирусных инфекций при гемотрансфузиях. *Вестник службы крови России*. 2000; 2: 25–33.
- Карякин А.В., Терентьева Л.А. Статистика выявления антител к вирусу гепатита С среди доноров РФ. *Новое в трансфузиологии*. 2004; (38): 29–34.
- Куликов С.М., Гармаева Т.Ц., Зингерман Б.В., Филатов Ф.П., Судариков А.Б. и др. Вирусная безопасность гемотрансфузий и методы ее оценки. *Гематология и трансфузиология*. 2008; 53(4): 3–5.
- Белякова В.В., Гукасян И.А., Донская О.В., Иванова Н.В., Майорова О.А., Дашкова Н.Г., Рагимов А.А. Остаточные риски трансфузионно-трансмиссивной передачи ВИЧ-инфекции и вирусного гепатита С в Московском регионе при лабораторном скрининге донорской крови с использованием NAT-технологий. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59(1): 15–8.
- Губанова М.Н., Мадзаев С.Р., Аветисян К.С., Бахметьев А.В., Зарубин М.В., Караваев А.В. и др. Расчетный остаточный риск инфицирования при переливании крови. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59(1, Прил. 1): 89–90. <http://cyberleninka.ru/article/n/raschetnyy-ostatochnyy-risk-infitsirovaniya-pri-perelivani-nii-krovi#ixzz4lQqIH9Pp>.
- Туполева Т.А., Богословская Е.В., Грумбкова Л.О., Башкирова Л.Ю., Зайцев В.С., Ярославцева Н.Г. и др. Использование ПЦР для детекции ВГВ и ВГС на станции переливания крови. В сборнике трудов 6-й Всероссийской конференции «Молекулярная диагностика 2007». Москва, 28–30 ноября 2007 г. 2007; 3: 230–8. <http://www.cmd-online.ru/upload/iblock/27c/ispolzovanie-ptsr-dlya-detektzii-vgv-i-vgs-na-stantsii-perelivaniya-krovi.pdf>.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Niederhauser C. Reducing the risk of hepatitis B virus transfusion-transmitted infection. *J. Blood Med.* 2011; 2: 91–102. doi: 10.2147/JBM.S12899.
- Holland P. Viral testing of blood donors: where will it end? VI regional European congress of the international society of Blood transfusion. Jerusalem; 1999.
- Ramsey G., Sherman L.A. Blood component recalls in the United States. *Transfusion*. 1999; 39(5): 473–8. doi: 10.1046/j.1537-2995.1999.39050473.x
- Schreiber G.B., Busch M.P., Kleinman S.H., Korelitz J.J. The risk of transfusion-transmitted viral infections. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. *N. Engl. J. Med.* 1996; 334(26): 1685–90. doi:10.1056/NEJM199606273342601.
- Rogers P.M., Saldanha J., Allain J.P. Report of EPFA/NIBSC workshop 'nucleic acid amplification tests (NAT) for the detection of blood-borne viruses' held on 31 October 1996 in Amsterdam, The Netherlands. *Vox Sang.* 1997; 72(4): 199–206. doi: 10.1046/j.1423-0410.1997.7240199.x.
- Golosova T.V., Tupoleva T.A., Somova A.V., Yaroslavl'tseva N.G., Bagryantseva S.Yu., Gulyaeva A.A., et al. Assessment of risk of transmission of viral infections in transfusion. *Bulletin of Russian blood service. Russian Journal (Vestnik sluzhby krovi Rossii)*. 2000; 2: 25–33. (in Russian)
- Karyakin A.V., Terent'eva L.A. Statistics detection of antibodies to hepatitis C virus among Russian donors. *New in Transfusiology. Russian Journal (Novoe v transfuziologii)*. 2004; (38): 29–34. (in Russian)
- Kulikov S.M., Garmaeva T.Ts., Zingerman B.V., Filatov F.P., Sudarikov A.B., et al. Viral safety of blood transfusions and methods of evaluation. *Gematology and transfuziologia. Russian Journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2008; 53(4): 3–5. (in Russian)
- Belyakova V.V., Gukasyan I.A., Donskaya O.V., Ivanova N.V., Maiorova O.A., Dashkova N.G., Ragimov A.A. Residual risks of transfusion transmissible transfer of HIV infection and viral hepatitis C in the Moscow region in laboratory screening of donor blood by NAT technologies. *Gematology and transfuziologia. Russian Journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2014; 59(1): 15–8. (in Russian)
- Gubanova M.N., Madzaev S.R., Aветисян K.C., Bakhmetiev A.V., Zarubin M.V., Karavaev A.V., et al. Estimated residual risk of infection through blood transfusion. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2014; 59(1, Suppl. 1): 89–90. <http://elibrary.ru/download/13332650.pdf>. (in Russian)
- Busch M.P., Rawal B.D., Feibig E.W., Operskalski E.A., Mosley J.W. Dynamics of HCV viremia and seroconversion in transfusion-acquired HCV infections. In: 51st Annual Meeting of the American Association of Blood Banks. Philadelphia, Pennsylvania. October 31–November 4, 1998 Abstracts. *Transfusion*. 1998; 38(10, Suppl): 72S.
- Cardoso M.S., Koerner K., Kubanek B. Mini-pool screening by nucleic acid testing for hepatitis B virus, hepatitis C virus, and HIV: preliminary results. *Transfusion*. 1998; 38(10): 905–7. doi:10.1046/j.1537-2995.1998.381098440853.x.
- Vermeulen M., Dickens C., Lelie N., Walker E., Coleman C., Keyter M., et al. Hepatitis B virus transmission by blood transfusion during 4 years of individual-donation nucleic acid testing in South Africa: estimated and observed window period risk. *Transfusion*. 2012; 52(4): 880–92. doi:10.1111/j.1537-2995.2011.03355.x.
- Stramer S.L., Zou S., Notari E.P., Foster G.A., Krysztos D.E., Musavi F., Dodd R.Y. Blood donation screening for hepatitis B virus markers in the era of nucleic acid testing: are all tests of value? *Transfusion*. 2012; 52(2): 440–6. doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03283.x.
- Tseng T.C., Liu C.J., Yang H.C., Su T.H., Wang C.C., Chen C.L., et al. Determinants of spontaneous surface antigen loss in hepatitis B e antigen-negative patients with a low viral load. *Hepatology*. 2012; 55(1): 68–76. doi: 10.1002/hep.24615.
- Allison R.D., Conry-Cantilena C., Koziol D., Schechterly C., Ness P., Gible J., et al. A 25-year study of the clinical and histologic outcomes of hepatitis C virus infection and its modes of transmission in a cohort of initially asymptomatic blood donors. *J. Infect. Dis.* 2012; 206(5): 654–61. doi:10.1093/infdis/jis410.
- Chen D.S. Hepatitis B vaccination: the key towards elimination and eradication of hepatitis B. *J. Hepatol.* 2009; 50(4): 805–16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2009.01.002>.
- Hollinger F.B. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion*. 2008; 48(5): 1001–26. doi:10.1111/j.1537-2995.2008.01701.x.
- Carreño V., Bartolomé J., Castillo I., Quiroga J.A. New perspectives in occult hepatitis C virus infection. *Wld J. Gastroenterol.* 2012; 18(23): 2887–94. doi: 10.3748/wjg.v18.i23.2887.
- De Marco L., Gillio-Tos A., Fiano V., Ronco G., Krogh V., Palli D., et al. Occult HCV infection: an unexpected finding in a population unselected for hepatic disease. *PloS one*. 2009; 4(12): e8128. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0008128>.
- Tupoleva T.A., Bogoslovskaya E.V., Grumbkova L.O., Bashkirova L.Yu., Zaytsev V.S., Yaroslavl'tseva N.G., et al. The use of PCR for the detection of HBV and HCV in the blood transfusion station. In: Proceedings of the 6th All-Russian conference "Molecular Diagnostics 2007". Moscow, 28–30 November. 2007; 3: 230–8. (in Russian) <http://www.cmd-online.ru/upload/iblock/27c/ispolzovanie-ptsr-dlya-detektzii-vgv-i-vgs-na-stantsii-perelivaniya-krovi.pdf>.
- Kiely P., Margaritis A.R., Seed C.R., Yang H.; Australian Red Cross Blood Service NAT Study Group. Hepatitis B virus nucleic acid amplification testing of Australian blood donors highlights the complexity of confirming occult hepatitis B virus infection. *Transfusion*. 2014; 54(8): 2084–91. doi: 10.1111/trf.12556.

Поступила 07.09.16

Принята к печати 10.02.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 615.387.014.413.074

Азимова М. Х., Галстян Г.М., Гапонова Т.В., Карякин А.В., Крюкова Г.Н.,
Нехаевская С.С., Скоцелас Е.Д., Флегонтов П.А.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КОНЦЕНТРАТОВ ДОНОРСКИХ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ХРАНЕНИИ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ИНАКТИВАЦИИ ПАТОГЕНОВ С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ АМОТОСАЛЕН + УЛЬТРОФИОЛЕТОВОЕ ОБЛУЧЕНИЕ СПЕКТРА А *IN VITRO*

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

Представлены результаты изучения влияния технологии редукции патогенов амотосален+ультрафиолетовое облучение спектра А (УФА) на биохимические показатели среды хранения донорских тромбоцитов, суспендированных в цельной плазме донора и в добавочном растворе SSP+, замещающем 70% донорской плазмы, при хранении до 7 сут. Проведение патогенредукции не влияет на потребление глюкозы и содержание цитрата, ускоряет накопление лактата и снижает pH среды хранения концентратов донорских тромбоцитов. В образцах тромбоцитов с добавочным раствором SSP+ изменения биохимических показателей были выражены в меньшей степени.

Ключевые слова: концентрат тромбоцитов; редукция патогенов; технология амотосален+УФА; добавочный раствор SSP+; pH; содержание глюкозы, лактата, цитрата.

Для цитирования: Азимова М. Х., Галстян Г.М., Гапонова Т.В., Карякин А.В., Крюкова Г.Н., Нехаевская С.С., Скоцелас Е.Д., Флегонтов П.А. Биохимические параметры концентратов донорских тромбоцитов при хранении после проведения инактивации патогенов с помощью технологии амотосален + ультрафиолетовое облучение спектра А *in vitro*. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 37-40. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-37-40>

Azimova M.Kh., Galstyan G.M., Gaponova T.V., Karyakin A.V., Kryukova G.N., Nekhaevskaya S.S., Skotselyas E.D., Flegontov P.A.

BIOCHEMICAL PARAMETERS OF DONOR PLATELET CONCENTRATES DURING THE STORAGE AFTER PATHOGEN INACTIVATION WITH THE AID OF TECHNOLOGY "AMOTOSALEN + ULTRA-VIOLET A IRRADIATION" *IN VITRO*

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

Pathogen inactivation (PI) treatment of platelet concentrates (PCs) improves the transfusion safety. PI technology allows to store of PCs up to 7 days. The usage of platelet additive solution (PAS) reduces the risk of non-hemolytic transfusion reactions and enhances platelet quality during storage. The influence of the combinations of PI and PAS and PI and 100% plasma on the biochemical parameters of PCs remained unclear. The aim of the study was to analyze the impact PI technology on the biochemical parameters and functional activity of platelets suspended in 100% plasma or 70% PAS and 30% plasma. The pathogens reduction does not influence on the glucose consumption and citrate content, accelerates the accumulation of lactate and lowers the pH of the medium storage donor platelet concentrates. In the samples with additive solution SSP+ changes of biochemical parameters were expressed to a lesser degree.

Key words: platelet concentrate; reduction of pathogens; technology amotosalen + UVA; incremental solution SSP+; pH; glucose; lactate; citrate; P-selectin; antigen CD62P+.

For citation: Azimova M.Kh., Galstyan G.M., Gaponova T.V., Karyakin A.V., Kryukova G.N., Nekhaevskaya S.S., Skotselyas E.D., Flegontov P.A. Biochemical parameters of donor platelet concentrates during the storage after pathogen inactivation with the aid of technology "amotosalen + ultra-violet A irradiation *in vitro*". *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2017; 62(1): 37-40. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-37-40>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Received 07 October 2016

Accepted 10 February 2017

Концентрат тромбоцитов (КТ) – необходимый компонент для коррекции тромбоцитопении. Поскольку до настоящего времени компоненты крови являются источниками возможного заражения вирусами человеческого иммунодефицита, гепатитов В и С, цитомегаловирусами, Т-лимфотропными вирусами человека, а также вновь появляющимися патогенами [1], пациенты – реципиенты с множественными трансфузиями, относятся к группе высокого риска возможного инфицирования гемотрансмиссивными вирусными инфекциями вследствие большого количества переливаемых компонентов

донорской крови от огромного числа доноров [2]. Существует ряд мероприятий, которые помогают снизить риски заражения гемотрансмиссивными инфекциями (ГТИ): безвозмездная донация, качественный отбор доноров, применение новых и более чувствительных методов серологического анализа и введение методики амплификации нуклеиновых кислот (НАТ) [3]. Однако даже после внедрения обязательного НАТ-скрининга в Германии был зарегистрирован случай гемотрансмиссивного заражения ВИЧ, причинами которого явились аномальная структура ДНК и снижение концентрации вируса в минипулах [4].

Для корреспонденции:

Азимова Мухайёхон Ходжиевна, врач-трансфузиолог отделения клинической трансфузиологии ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: maya-azim@mail.ru.

For correspondence:

Asimova Muhayyokhon Kh., MD, transfusionist of the National Research Center for Hematology, Moscow, Russia. E-mail: maya-azim@mail.ru.

Information about authors:

Azimova M. H., <http://orcid.org/0000-0003-4453-7187>; Galstyan G.M., <http://orcid.org/0000-00031-8818-8949>; Gaponova T.V., <http://orcid.org/0000-0002-9684-5045>; Karyakin A.V., <http://orcid.org/0000-0002-6927-0418>; Kryukova G.N., <http://orcid.org/0000-0001-9261-0399>; Nekhaevskaya S.S., <http://orcid.org/0000-0002-7964-2393>; Skotselyas E.D., <http://orcid.org/0000-0002-4256-2605>; Flegontov P.A., <http://orcid.org/0000-0001-9812-034x>.

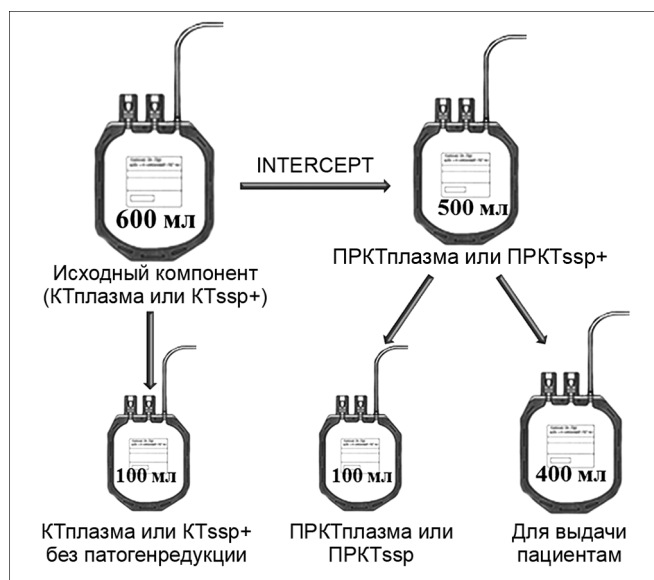


Рис. 1. Схема отделения образцов КТ для исследования.

Для минимизации рисков инфицирования пациентов ГТИ в последние 10 лет помимо всех ранее перечисленных методов начали применять методы редукции патогенов. Одним из способов редукции патогенов в КТ является технология системы INTERCEPT, включающая воздействие химического вещества – амотосалена и ультрафиолетового облучения спектра А (УФА). Амотосален является синтетическим псораленом S-59, наиболее эффективным фотосенсибилизатором для редукции патогенов в КТ. Молекула амотосалена связывается с одинарными или двойными цепями ДНК/РНК и под воздействием УФА образует необратимую ковалентную связь, блокирующую процессы репликации, транскрипции и репарации нуклеиновых кислот патогенов [5].

Пациенты – реципиенты с множественными трансфузиями, как правило сенсибилизированы донорскими лейкоцитами [6, 7]. С целью снижения риска иммунологических осложнений, помимо проведения лейкоредукции и использования ограничительной тактики трансфузий, существует метод заготовки КТ с пониженным до 30–40% содержанием плазмы, замененной добавочным раствором [8, 9].

Исследования по оценке влияния инактивации патогенов на биохимические показатели сред хранения КТ на разных сроках хранения недостаточно, что послужило основанием для проведения собственного исследования [10, 11].

Цель настоящей работы – изучить влияние на биохимические показатели сред хранения КТ в зависимости от технологии инактивации патогенов.

Материал и методы

Сбор тромбоцитов проводили на сепараторе клеток Trima Accel (“Cardian”, США) в соответствии с инструкцией изготовителя. Концентраты исследуемых донорских тромбоцитов суспендировали двумя способами: 1) 25 КТ в 100% собственной плазме донора, который в данной работе был обозначен как КТплазма; 2) 24 КТ с замещением донорской плазмы добавочным раствором (КТssp+) в соотношении 1:3 (30% плазмы и 70% добавочного раствора). В качестве добавочного раствора был применен раствор SSP⁺, который добавляли к гиперконцентрированному КТ по окончании процедуры заготовки с использованием устройств для стерильного запаивания трубок пластиковых гемоконтейнеров TSCD-II (“Terumo”, США) в расчете не менее 40 мл на $0,6 \times 10^9$ /клеток. Все КТ подвергали лейкоредукции с помощью встроенной камеры для лейкоредукции LRC (“Terumo”, США) и проводили стандартный контроль: ABO, CcEe, Kell, RhD, анти-ВИЧ 1 и 2, HBsAg, a-HBc, a-HCV, DNA HBV, RNA HCV и RNA антитела к ВИЧ. Помимо этого, проводили контроль всех заготовленных КТ на соответствие критериям качества по техническому регламенту (http://www.consultant.ru/document/cons_doc_

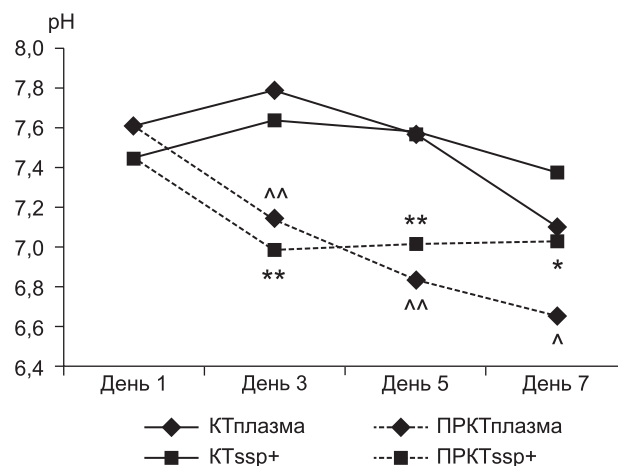


Рис. 2. Изменение pH сред КТ при хранении (указаны средние значения для каждого вида КТ).

* – $p > 0,001$; ^ – $p > 0,005$.

LAW_96793/). Все КТ с содержанием тромбоцитов 8×10^{11} /клеток были заготовлены в объеме 600 мл. От исходного КТ в день заготовки с помощью стерилконнектора отделяли в полимерные контейнеры, обеспечивающие доступ кислорода клеткам, по 100 мл КТ и КТssp+ и использовали в качестве контроля. Оставшиеся 500 мл подвергали обработке по технологии Амотосален + УФА. 400 мл использовали для трансфузии больным, а 100 мл – для проведения исследований. Схема отделения образцов КТ для проведения исследований приведена на рис. 1.

Редукцию патогенов обоих видов КТ проводили после получения отрицательных результатов тестов на гемотрансмиссивные инфекции с использованием системы амотосален+УФА (“Blood System”, www.cerus.com; www.амотосален+УФА.bloodsystem.com). Данный метод включает в себя три этапа. На первом этапе контейнер с КТ соединяли с одноразовым комплектом INTERCEPT для редукции патогенов, в который добавляли амотосален до концентрации 150 мкМ. Следующий этап – облучение УФА в дозе 3,6 Дж/см² с помощью аппарата INT100. После УФА-облучения проводили 3-й этап – адсорбцию остаточного амотосалена и продуктов фотораспада с помощью адсорбирующего элемента CAD. Контейнер КТ с адсорбирующим элементом помещали в тромбомиксер в режиме постоянного встряхивания при температуре 20–24 °C на время, указанное производителем с учетом среды суспендирования (www.cerus.com; www.амотосален+УФА.bloodsystem.com). Учитывая использованные нами среды суспендирования, продолжительность инкубации с адсорбентом CAD составила 16 ч.

Таким образом, на 2-й день после заготовки были получены 4 вида образцов КТ: 1) КТплазма; 2) КТssp+; 3) патоген редуцированный КТ в плазме (ПРКТплазма); 4) патоген редуцированный КТ с замещением плазмы добавочным раствором SSP⁺ (ПРКТssp+). Все образцы хранили в тромбомиксере при температуре 20–24 °C в режиме постоянного встряхивания. Для исследования биохимических параметров сред КТ отбирали пробы в день заготовки, на 3, 5 и 7-й дни хранения.

Определение биохимических параметров проводили в среде инкубации тромбоцитов после их осаждения центрифугированием при 4 °C на центрифуге Sigma 2-16K (“Sigma Laborzentrifugen”, Германия) при 5000 об/мин в течение 30 мин. В полученных пробах определяли pH, содержание глюкозы, лактата и цитрата. pH измеряли с помощью микроэлектродов на pH-метре SevenMulti (“Mettler Toledo”). Определение метаболитов проводили с помощью наборов для ферментативного УФ-метода определения (“r-Biopharm”, Германия), каталожные номера: глюкоза – 10 716 251 035; лактат – 11 112 821 035 и цитрат – 10 139 076 035 в соответствии с инструкциями производителя. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре UV-1800 (“Shimadzu”, Япония).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программных пакетов StatView for Windows ver 5.0.1, SPSS VER и Microsoft Excel.

Результаты

На рис. 2 представлена динамика изменения pH в средах хранения КТ. Исходное значение pH среды КТплазма в день сбора было 7,6, а КТssp+ 7,4. В обоих типах контрольных

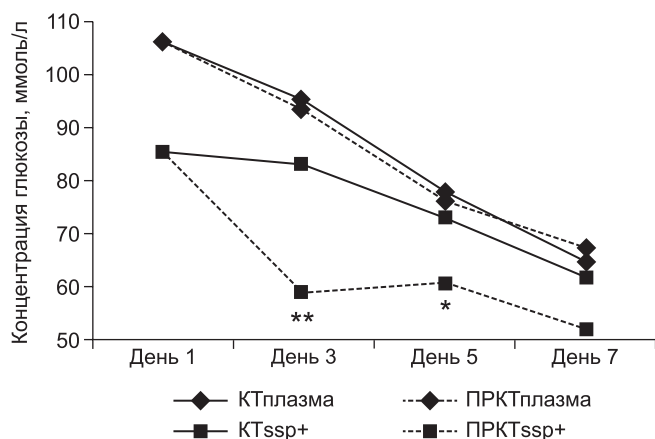


Рис. 3. Содержание глюкозы в средах инкубации КТ при хранении (указаны средние значения для каждого вида КТ).

образцов отмечена тенденция к увеличению pH на 3-й день и последующее снижение к 7-му дню в образцах КТssp+ до исходного значения 7,4, а в образцах КТплазма – до 7,1. Во всех образцах после проведения редукции патогенов на 3-й день отмечено снижение pH до 7,0. Это значение не изменялось на 5-й и 7-й дни в образцах ПРКТssp+ и постепенно снижалось до 6,6 в образцах ПРКТплазма.

Метаболическую активность анаэробных процессов в КТ оценивали по скорости утилизации глюкозы и накоплению лактата в среде инкубации тромбоцитов (рис. 3, 4). Утилизация глюкозы и скорость ее потребления в КТ, суспендированных в плазме, практически не изменялись после проведения редукции патогенов: в КТплазма за весь срок наблюдения 41,36 ммоль (5,9 ммоль/сут) и в ПРКТплазма 38,8 ммоль (5,5 ммоль/сут). В КТssp+ общая утилизация глюкозы была снижена до 23,84 ммоль, а в образцах после проведения редукции патогенов выявлено ее увеличение до 33,3 ммоль, причем основное количество (26,8 ммоль) было потреблено в течение первых 3 дней.

Общее накопление лактата в КТ, суспендированных в плазме за весь срок наблюдения составило 21,4 ммоль в КТплазма и 18,8 ммоль в ПРКТплазма. После проведения редукции патогенов скорость накопления лактата была достоверно выше в первые 5 дней (2,7 ммоль/сут для КТплазма и 3,9 ммоль/сут для ПРКТплазма). В случае добавления в среду хранения КТ добавочного раствора SSP+, в контрольных образцах КТssp+ образование лактата было снижено и составило 13,7 ммоль за весь срок наблюдения, а в ПРКТssp+ общее образование лактата увеличилось до 18,1 ммоль, причем скорость его накопления в первые 3 дня в ПРКТssp+ была значительно выше (1,4 ммоль/сут в образцах КТssp+ и 3,0 в образцах ПРКТssp+).

Содержание цитрата в средах хранения КТ, суспендированных в плазме, практически не изменялось на всех сроках хранения, а в образцах ПРКТплазма статистически значимо снижалось к 5-му дню. В случае замещения плазмы в среде хранения КТ раствором SSP+ как в контрольных, так и в образцах после проведения редукции патогенов выявлено постепенное незначительное недовольное снижение содержания цитрата (см. рис. 5).

Обсуждение

Применение технологий инактивации патогенов, дает возможность увеличить срок хранения КТ до 7-ми суток и исключить проведение бактериального скрининга, а также ввиду того, что обладает широким спектром инактивации вирусов, особенно вновь появляющихся, открывает большие возможности в области инфекционной безопасности трансфузий донорских тромбоцитов. Помимо инфекционной безопасности, данная технология обеспечивает и иммунологическую безопасность путем инактивации остаточных, донорских лейкоцитов, тем самым исключая проведение γ -облучения КТ. В данной работе для исследования были применены КТ,

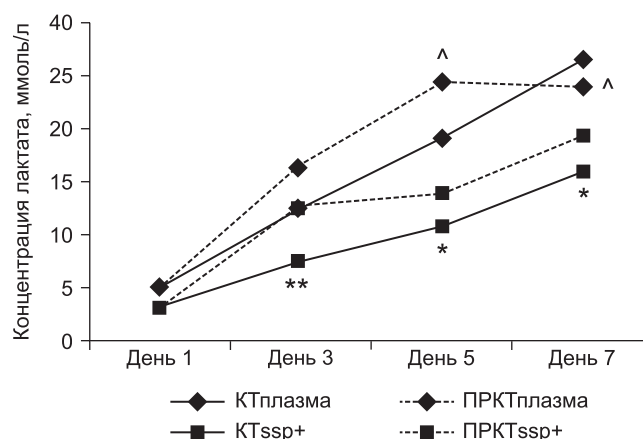


Рис. 4. Содержание лактата в средах инкубации КТ на различных сроках хранения (указаны средние значения для каждого вида КТ).

заготовленные методом афереза, суспендированные в 100% донорской плазме и в добавочном растворе SSP+, который замещал 70% плазмы (www.macopharma.com). В настоящее время добавочный раствор для хранения тромбоцитов рассматривают [13, 14] как дополнительный способ иммунологической, вирусной защиты и доступности больших объемов плазмы для фракционирования. Несколькими исследователями были описаны преимущества применения аддитивных растворов, которые лучше сохраняют целостность мембраны тромбоцитов и стабильно поддерживают уровень pH в течение всего срока хранения, уменьшают скорость потребления глюкозы и накопление молочной кислоты [12–14]. Тем не менее влияние технологии редукции патогенов на метаболизм сред хранения тромбоцитов не изучено. В данной работе проанализированы изменения биохимических показателей среды хранения КТ в зависимости от времени хранения и технологии редукции патогенов. Для оценки биохимических показателей среды хранения КТ были исследованы: изменение pH, потребление глюкозы, накопление молочной кислоты (лактат) и уровень цитрата. Окислительный стресс является одной из причин снижения эффективности тромбоцитов, сокращая срок их хранения [15]. В работе K. Manasa и R. Vani [15] представлены результаты наблюдения за изменениями в тромбоцитах, происходящими в процессе их хранения в течение 12 дней. В ней показано, что тромбоциты выдерживали окислительный стресс до 6-го дня хранения за счет антиоксидантной системы, начиная с 8-го дня эта защита снижалась.

Уровень pH изменялся в процессе хранения во всех исследуемых образцах, но был в пределах, соответствующих требованиям технического регламента Российской Федерации, предъявляемым к качеству КТ и рекомендациям Совета Европы (pH > 6,4; http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_96793/).

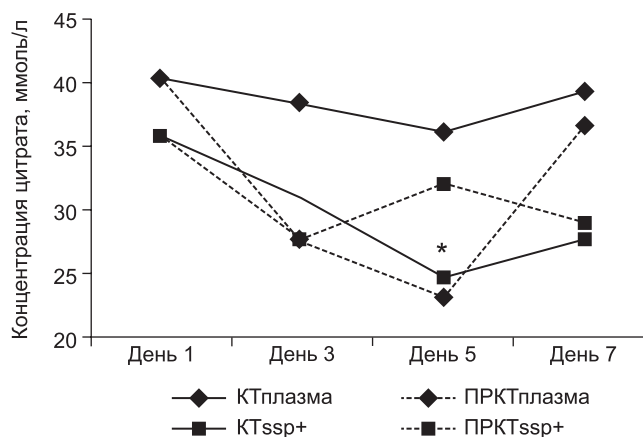


Рис. 5. Содержание цитрата в средах инкубации КТ при хранении (указаны средние значения для каждого вида КТ).

Статистически значимых изменений pH КТ, хранившихся в разных видах сред, не прошедших процедуру инактивации патогенов, в зависимости от сроков хранения не выявлено, о чем свидетельствуют результаты исследования контрольных групп КТ (КТплазма/КТssp+): 7,6/7,4; 7,8/7,6; 7,6/7,6; 7,4/7,1 на 1, 3, 5 и 7-й дни хранения соответственно. Обработка амотосаленом приводила к статистически значимому снижению pH как в ПРКТплазма, так и в ПРКТssp+ на 3-й день хранения, что согласуется с данными P. Sandgren и B. Diedrich [12], согласно которым после применения амотосалена + УФА также наблюдалось статистически значимое снижение pH (7,272 против 7,085; $p < 0,01$). В последующем на 5-й и 7-й дни хранения в ПРКТплазма наблюдалось дальнейшее снижение pH (с 6,8 до 6,6), в то время как в ПРКТssp+ pH сохранялся на одном уровне на 3-й день хранения, не снижаясь и на 5-й и 7-й дни хранения (pH 7,0). Следует отметить, что в КТssp+ в отличие от КТплазма на 5-й день хранения pH стабильно поддерживалось и к 7-му дню хранения наблюдалось незначительное снижение, в то время как в КТплазма отмечено стойкое его снижение. Стабильное поддержание pH в ПРКТssp+ и КТssp+ в течение всего срока хранения связано с адаптированным буферным и анионным составом добавочного раствора SSP+ [13, 14]. По данным T. Shimizu и S. Murphy [13], изучавших роль ацетата и фосфата при хранении тромбоцитов в добавочном растворе Setosol, наличие ацетата способствовало стабильному поддержанию pH на уровне 7,0 даже к 7-му дню хранения, как только ацетат был удален pH снизился до уровня 6,4 уже на 5-й день хранения, т.е. ацетат действует как субстрат окислительного метаболизма, а также является компонентом буфера. В работе B. Hechler и соавт. [10] при хранении в течение 7 дней контрольных и патогенредуцированных КТ с помощью системы амотосален + УФА выявлено незначительное снижение pH с 7,1 до 6,9, а по результатам исследования S. Bashir и соавт. [11], при хранении в течение 7 дней КТ, обработанных методом облучения УФ-спектра C, изменений pH сред не выявлено. В нашей работе наблюдалось значимо высокое потребление глюкозы в КТ, суспендированных в плазме, (КТплазма за весь срок наблюдения 41,36 ммоль, по 5,9 ммоль/день и в ПРКТплазма – 38,8 ммоль, по 5,5 ммоль/день), чем в КТ с раствором SSP+ (23,84 ммоль), и не менялось в течение всего срока хранения. Однако после проведения патогенредукции тромбоцитов, суспендированных в SSP+ (ПРКТssp+), скорость потребления глюкозы увеличилась до 33,3 ммоль в первые 3 дня хранения, что согласуется с динамикой накопления лактата на этих сроках хранения и как следствие со снижением уровня pH. Быстрое расходование глюкозы в КТ, суспендированных в плазме, может быть причиной снижения уровня pH в этой среде по сравнению с КТ, суспендированными добавочным раствором. Динамика накопления лактата была прямо пропорциональна скорости потребления глюкозы, т.е. содержание молочной кислоты в КТплазма, ПРКТплазма было выше, чем в КТssp+ и ПРКТssp+. Присутствие в составе SSP+ калия и магния привело к снижению гликолиза и менее выраженному накоплению лактата, о чем сообщалось H. Gulliksson и соавт. [14] в многоцентровом исследовании, показавшем положительное влияние калия и магния на хранение донорских тромбоцитов. Аналогичные данные отмечены в работе P. Sandgren и B. Diedrich [12], исследовавших метаболическую активность пулированных КТ патогенредуцированных с помощью технологии амотосален + УФА, и с результатами работы S. Bashir и соавт. [11], в которой исследовали биохимические параметры пулированных КТ, обработанных УФ-облучением спектра G. Сообщений об изменении концентрации цитрата в процессе хранения КТ и влияния на нее технологии редукции патогенов в литературе нет. Согласно нашим данным, наибольшее потребление цитрата происходило в ПРКТплазма, в то время как в КТплазма, КТssp+ и ПРКТssp+ наблюдалось постепенное статистически незначимое снижение содержания цитрата. Возможно, обработка амотосаленом и последующее облучение УФА приводит к повышенной потере цитрата плазмы, которую мы не наблюдали в КТ, не прошедших обработку, а также в КТ, прошедших обработку с добавочным раствором (ПРКТssp+). Данный расход цитрата был менее выражен в прошедших

обработку КТ, суспендированных в SSP+ (в ПРКТssp+), что может быть связано с наличием цитрата в составе добавочного раствора, компенсирующего его быструю утилизацию.

Таким образом, технология редукции патогенов не влияет на биохимические параметры тромбоцитов, заготовленных как в 100% донорской плазме, так и в добавочном растворе SSP+, что открывает новые возможности использования данной технологии в практике для больных, которым часто переливают КТ. Сочетанное применения технологии редукции патогенов с заготовкой КДТ в добавочном растворе, замещающем 70% донорской плазмы, обеспечивает не только инфекционную и иммунологическую безопасность, но и дает возможность фракционирования больших объемов плазмы. Однако сделанное заключение ограничивается результатами исследований, проведенных *in vitro*. Необходимо проведение исследований клинической эффективности применения КТ.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

2. Савченко В.Г., Гармаева Т.Ц., Куликов С.М., Филатов Ф.П., Судариков А.Б., Михайлова Е.А. Эффективность и безопасность трансфузионной терапии гематологических больных. *Терапевтический архив*. 2006; 7: 12–8.
7. Шевченко Ю.Л., Жибурт Е.Б. Безопасное переливание крови: руководство для врачей. СПб.: ПИТЕР, 2000.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

1. Dodd R.Y. Will blood products be free of infectious agents? In: Nanse S.J., ed. *Transfusion Medicine*. Arlington; 1990: 223–51.
2. Savchenko V.G., Garmaeva T.Ts., Kulikov S.M., Filatov F.P., Sudarikov A.B., Mikhaylova E.A. The efficacy and safety of transfusion therapy of hematological diseases. *Therapeutic archive. Russian Journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2006; 7: 12–8. (in Russian)
3. Bryant B.J., Klein H.G. Pathogen inactivation: the definitive safeguard for the blood supply. *Arch. Pathol. Lab. Med*. 2007; 131(5): 719–33.
4. Schmidt M., Korn K., Nubling C.M., Chudy M., Kress J., Horst H.A., et al. First transmission of human immunodeficiency virus type 1 by a cellular blood product after mandatory nucleic acid screening in Germany. *Transfusion*. 2009; 49(9): 1836–44.
5. Irsch J., Lin L. Pathogen inactivation of platelet and plasma blood components for transfusion using the INTERCEPT Blood System™. *Transfus. Med. Hemother.* 2011; 38(1): 19–31.
6. Ahrens N. Transfusion – related immune reactions: pathogenesis and prevention. *Vox Sang.* 2009; 4(2): 230–5.
7. Shevchenko Yu.L., Zhiburt E.B. Safe blood transfusions: a guide for physicians. St. Petersburg: PITER; 2000. (in Russian)
8. Council of Europe. Guide to the preparation, use and Quality – Assurance of Blood Components. 17th ed. Strasbourg: Council of Europe Press; 2013.
9. Dumont L.J., Cancelas J.A., Graminske S., Friedman K.D., Vassallo R.R., Whitley P.H., et al. In vitro and in vivo quality of leukoreduced apheresis platelets stored in a new platelet additive solution. *Transfusion*. 2013; 53(5): 972–80. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03841.x.
10. Hechler B., Ohlmann P., Chafey P., Ravanat C., Eckly A., Maurer E., et al. Preserved functional and biochemical characteristics of platelet components prepared with amotosalen and ultraviolet A for pathogen inactivation. *Transfusion*. 2013; 53(6): 1187–200. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03923.x.
11. Bashir S., Cookson P., Wiltshire M., Hawkins L., Sonoda L., Thomas S., et al. Pathogen inactivation of platelets using ultraviolet C light: effect on in vitro function and recovery and survival of platelets. *Transfusion*. 2013; 53(5): 990–1000.
12. Sandgren P., Diedrich B. Pathogen inactivation of double-dose buffy-coat platelet concentrates photochemically treated with amotosalen and UVA light: preservation of in vitro function. *Vox Sangunis*. 2015; 108(4): 340–9. doi: 10.1111/vox.12232.
13. Shimizu T., Murphy S. Roles of acetate and phosphate in the successful storage of platelet concentrates prepared with an acetate-containing additive solution. *Transfusion*. 1993; 33(4): 304–10.
14. Gulliksson H., AuBuchon P., Cardigan R., Van Der Meer P.F., Murphy S., Prowse C., et al. Storage of platelets in additive solutions: a multicentre study of the *in vitro* effects of potassium and magnesium. *Vox Sang.* 2003; 85(3): 199–205. doi:10.1046/j.1423-0410.2003.00356.x.
15. Gupta A., Chandra T., Kumar A. In vitro function of random donor platelets stored for 7 days in composol platelet additive solution. *Asian J. Transfus. Sci.* 2011; 5(1): 11–4. doi:10.4103/0973-6247.7569.
16. Freedman J., Loscalzo J., Barnard R., Alpert C., Keaney F., Michelson A. Nitric oxide released from activated platelets inhibits platelet recruitment. *J. Clin. Invest.* 1997; 100(2): 350–6.
17. Manasa K., Vani R. Influence of oxidative stress on stored platelets. *Adv. Hematol.* 2016; (2016): 4091461. doi:10.1155/2016/4091461.

Поступила 07.11.16

Принята к печати 10.02.17

© КУПРЯШОВ А.А., БИРЮКОВА Т.В., 2017

УДК 615.38:614.2

Купряшов А.А., Бирюкова Т.В.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НЕИНВАЗИВНОЙ ГЕМОГЛОБИНОМЕТРИИ ДЛЯ СКРИНИНГА ДОНОРОВ

ФГБУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Минздрава России,
121552, Москва, Россия

Применение устройств point-of-care для определения концентрации гемоглобина с целью допуска донора к кроводаче способно уменьшить время первичного анализа и его инвазивность, снизить стоимость донорции. Внедрение новых методов определения содержания гемоглобина требует их клинической валидации.

Цель настоящего исследования – сопоставление результатов определения концентрации гемоглобина в капиллярной и венозной крови с помощью абсорбционного фотометра HemoCue® и чрескожного отражательного спектрометра Haemospect, а также определение для последнего пороговых значений для допуска донора к кроводаче.

Материал и методы. В исследование включены 484 здоровых добровольных донора. Всем донорам содержание гемоглобина определяли в венозной и капиллярной крови с помощью портативного абсорбционного фотометра HemoCue Hb 201+ и неинвазивно при помощи отражательного спектрометра Haemospect.

Результаты. При оценке согласия средняя разность в паре Haemospect–венозная кровь составила -2,7 г/л, в паре Haemospect–капиллярная кровь – -2,1 г/л. Чувствительность неинвазивной гемоглобинометрии для допуска донора к кроводаче соответствовала 55,7%, специфичность – 89,9%. Прогностическая ценность положительного результата для Haemospect составила 51,8%, отрицательного – 91,2%, отношение правдоподобия (в виде отношения шансов) – 11,2.

Заключение. Неинвазивный гемоглобинометр Haemospect, сопоставимый по степени согласия и предсказательной ценности с другими аналогичными портативными устройствами, можно использовать для скрининга доноров с установлением ограничения допуска к кроводаче мужчин при концентрации гемоглобина менее 135 г/л, женщин – менее 117 г/л.

Ключевые слова: неинвазивная гемоглобинометрия; отбор доноров; допуск к кроводаче.

Для цитирования: Купряшов А.А., Бирюкова Т.В. Возможности применения неинвазивной гемоглобинометрии для скрининга доноров. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 41-46. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-41-46>

Kupryashov A.A., Biryukova T.V.

POSSIBLE APPLICATIONS OF NONINVASIVE HEMOGLOBIN SCREENING FOR DONOR DEFERRALS

A.N. Bakulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery, Moscow, 121552, Russian Federation

Introduction The application of point-of-care devices for the hemoglobin measurement with the aim of admission to donor blood donations can decrease the time of the primary analysis and its invasiveness, reduce the cost of the donation. Introduction of new methods of hemoglobin measurement requires their clinical validation.

The purpose of this study was to compare the results of hemoglobin determination in capillary and venous blood with the use of an absorption photometer HemoCue® and percutaneous reflective spectrometer Haemospect, as well as detection thresholds for donation admission for the latter approach.

Material and Methods. The study included 484 healthy volunteer donors. Hemoglobin levels were measured in the venous and capillary blood samples. The portable absorbent photometer HemoCueHb 201+ was used. For non-invasive measurement was performed by reflective spectrometer Haemospect.

Results. The mean differences of hemoglobin levels between non-invasive spectrometric and invasive photometric measurements were -2.7 g/l for venous blood and -2.1 g/l for capillary blood (goodness of fit chi-square test). The sensitivity of noninvasive hemoglobin measurement was 55.7%, specificity was 89.9%. The positive predictive value for Haemospect was 51.8%, negative – 91.2%, with the likelihood ratio (in the form of odds ratios) – 11.2.

Conclusion. Noninvasive hemoglobinometer Haemospect, comparable to the chi-square test (for goodness of fit) and predictive value with other similar portable devices, can be used for screening of donors with the establishment of restrictions to the admission donations for men with hemoglobin less than 135 g/l, for women – less than 117 g/l.

Key words: non-invasive haemoglobin measurement; donor selection; access to blood donations.

For citation: Kupryashov A.A., Biryukova T.V. Possible applications of noninvasive hemoglobin screening for donor deferrals. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2017; 62(1): 41-46. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-41-46>

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

Acknowledgments The study had no sponsorship.

Received 19 October 2016

Accepted 10 February 2017

Для корреспонденции:

Купряшов Алексей Анатольевич, доктор мед. наук, заведующий отделением переливания крови ФГБУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Минздрава России, 121552, Москва, Россия. E-mail: kupriashov2007@rambler.ru.

For correspondence:

Kupryashov Aleksey A., MD, PhD, DSc., Head of the Department of Blood Transfusion of the A.N. Bakulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery, Moscow, 121552, Russian Federation. E-mail: aakupryashov@bakulev.ru.

Information about authors:

Kupryashov A.A., orcid.org/0000-0001-7673-4762; Biryukova T.V., orcid.org/0000-0002-4109-1020.

Дефицит железа у потенциального донора может негативно отразиться как на его собственном состоянии и угрожать развитием железодефицитной анемии, так и на качестве заготавливаемых компонентов крови, а, следовательно, и эффективности их применения [1]. Несмотря на наличие чувствительных тестов (растворимый рецептор трансферрина [2], ферритин [3], гепсидин [4]), а также все известные ограничения применения оценки концентрации гемоглобина в производственной трансфузиологии (слабая связь между ней и запасом железа, зависимость референсных значений данного показателя от демографических/антропометрических характеристик, источника исследуемых образцов и методики измерения), именно последняя является непереносимым условием допуска донора к кроводаче. Применение с этой целью устройств point-of-care способно уменьшить время первичного анализа и его инвазивность, снизить стоимость донации. В настоящее время для скрининга доноров апробирован достаточно широкий спектр как инвазивных (HemoCue, DiaSpect, HemoControl), так и неинвазивных (Rad-87, Pronto-7, Radical-7, NBM-200) устройств. Однако внедрение новых методов определения концентрации гемоглобина требует их клинической валидации, определение репрезентативных пороговых значений.

Целью настоящего исследования явилось сопоставление результатов определения концентрации гемоглобина в капиллярной

и венозной крови с помощью абсорбционного фотометра HemoCue (HemoCue, "Angelholm", Швеция) и чрескожного отражательного спектрометра Haemospect (MBR Optical Systems, "Herdecke", Германия) и определение для последнего пороговых значений для допуска донора к кроводаче.

Материал и методы

В исследование включены 484 здоровых добровольных донора – 400 (82,6%) мужчин и 84 (17,4%) женщины, последовательно осмотренных в течение февраля–марта 2014 г. Объективным ограничением данного исследования является существенно меньшая доля женщин. От всех доноров было получено устное согласие на участие в исследовании.

Допуск к кроводаче осуществляли в соответствии с приказом Минздрава России № 364 от 14.09.01 «Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов» на основании концентрации гемоглобина в венозной крови у мужчин более 130 г/л, у женщин более 120 г/л.

Всем донорам концентрацию гемоглобина определяли в венозной и капиллярной крови с помощью портативного абсорбционного фотометра HemoCue Hb 201+ (HemoCue AB, "Angelholm", Швеция) и неинвазивно при помощи отражательного спектрометра Haemospect ("MBR Optical Systems GmbH & Co KG of Wuppertal", Германия).

Таблица 1

Параметры концентрации гемоглобина в венозной, капиллярной крови и определенной неинвазивно

Показатель	Образец крови								
	венозная кровь			капиллярная кровь			Haemospect		
	в целом	мужчины	женщины	в целом	мужчины	женщины	в целом	мужчины	женщины
Среднее арифметическое, г/л	144,8	150	129,6	144,3	146,8	131,7	142,1	145	128,6
Среднеквадратичное отклонение, г/л	18,4	17,0	17,2	13,9	12,5	13,6	14,9	13,2	15,5
Коэффициент вариации, %	12,7	11,3	13,3	9,6	8,5	10,3	10,5	9,1	12,1
Коэффициент асимметрии	-0,162	-0,069	-0,118	0,174	0,315	1,121	-0,147	0,036	0,453
Коэффициент эксцесса	0,306	0,513	-0,318	-0,337	-0,170	0,755	0,084	0,342	-0,302

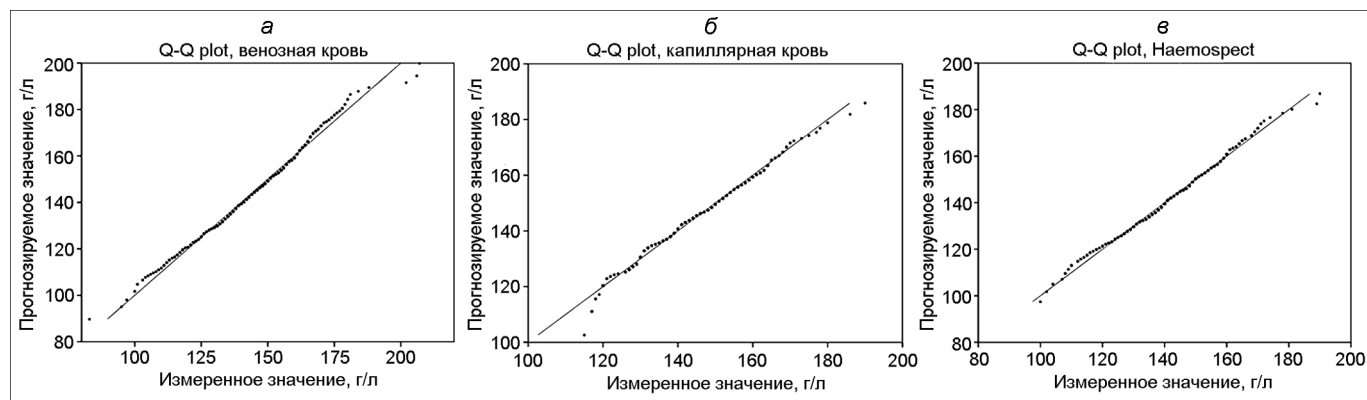


Рис. 1. Q–Q plot проверки на нормальность концентрации гемоглобина в венозной (а), капиллярной (б) крови и неинвазивно (в).

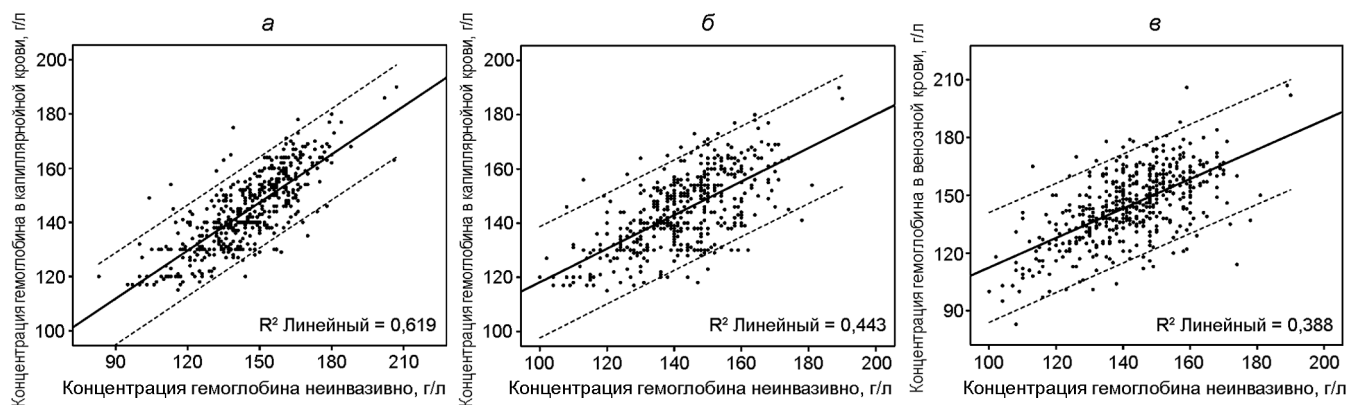


Рис. 2. Диаграммы рассеяния концентрации гемоглобина.

Здесь и на рис. 3, 4: а – в капиллярной и венозной крови; б – в капиллярной крови и неинвазивно; в – в венозной крови и неинвазивно.

При проведении инвазивной гемоглобинометрии образцом капиллярной и венозной крови заполняли микрокувету, которую помещали в анализатор HemoCue. Максимум через 50 с результаты появлялись на экране аппарата. Неинвазивную гемоглобинометрию проводили на среднем пальце кисти после удаления загрязнений. Время до получения результата составляло максимум 25 с.

Для статистического анализа результатов использовали пакеты статистических программ SPSS 22.0 и StatsDirect. Для описания распределения полученных результатов измерения концентрации гемоглобина использовали среднее арифметическое, среднее квадратичное отклонение, коэффициенты вариации, асимметрии, эксцентриситета. Оценку силы связи между полученными данными проводили с помощью корреляции Спирмена, степени согласия – анализа Бланда–Альтмана. Прогностическую значимость методик оценки концентрации гемоглобина в капиллярной крови для допуска донора к кроводаче проводили путем расчета чувствительности, специфичности, прогностической ценности положительного и отрицательного результатов, отношения правдоподобия, а также построения ROC-кривых.

Результаты

Сопоставление результатов трех методов определения концентрации гемоглобина. Результаты всех методов соответствовали нормальному распределению (рис. 1). Наибольший коэффициент вариации независимо от гендерной принадлежности был присущ образцам венозной крови, наименьший – капиллярной (табл. 1). Для образцов капиллярной крови женщин было характерно наибольшее количество выскакивающих вариант с выраженной асимметрией вправо; то же отмечалось и в мужских образцах при условии их компактного распределения. Велика была доля выскакивающих вариант в образцах венозной крови мужчин. Наиболее компактное распределение как в целом, так и по отдельным гендерным группам было характерно для неинвазивной гемоглобинометрии. При этом, так же как и при исследовании капиллярной крови у женщин, отмечалась заметная асимметрия вправо.

Наиболее тесная корреляция существовала между образцами венозной и капиллярной крови ($r = 0,777$; $p = 0,0001$), наименьшая –

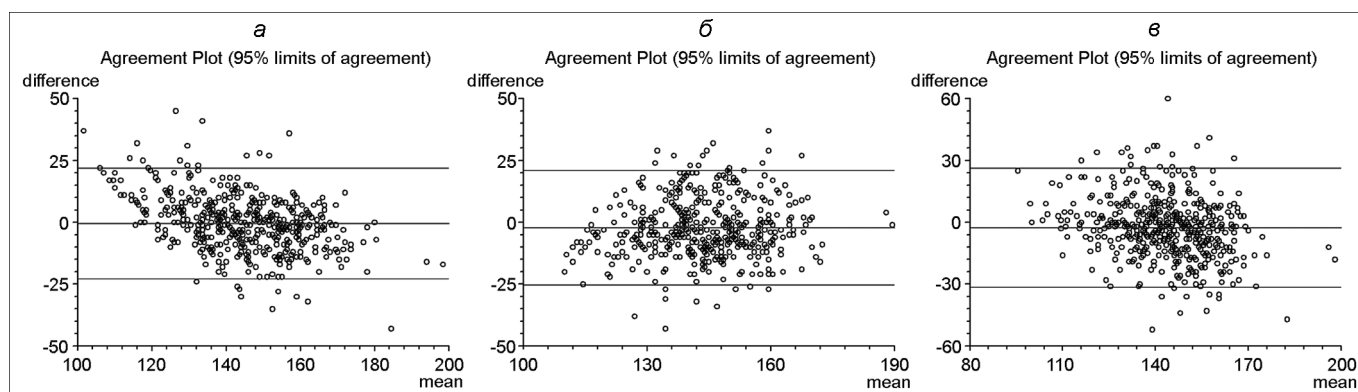


Рис. 3. Диаграммы согласия концентрации гемоглобина.

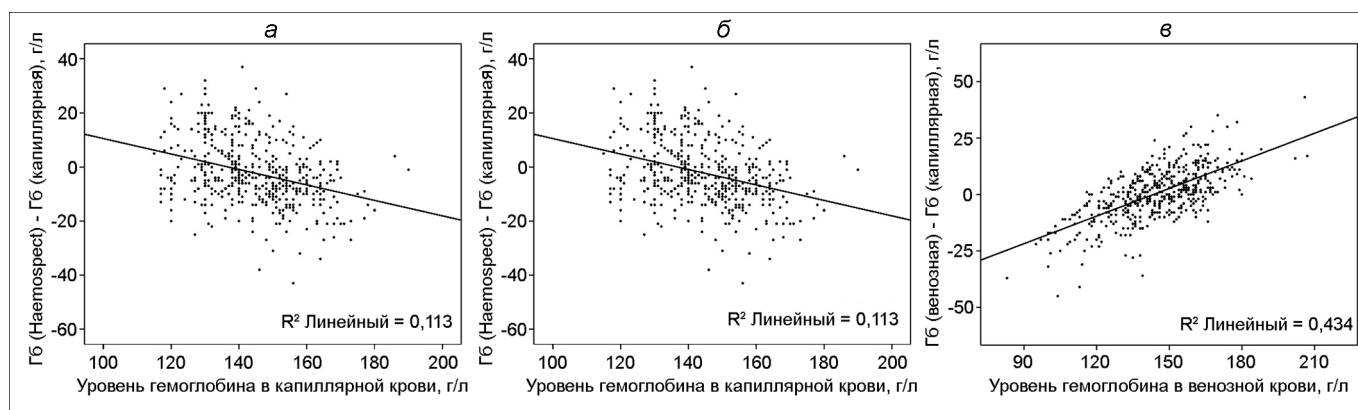


Рис. 4. Диаграммы рассеяния разности концентрации гемоглобина при двух методах его оценки в зависимости от результата одного из них.

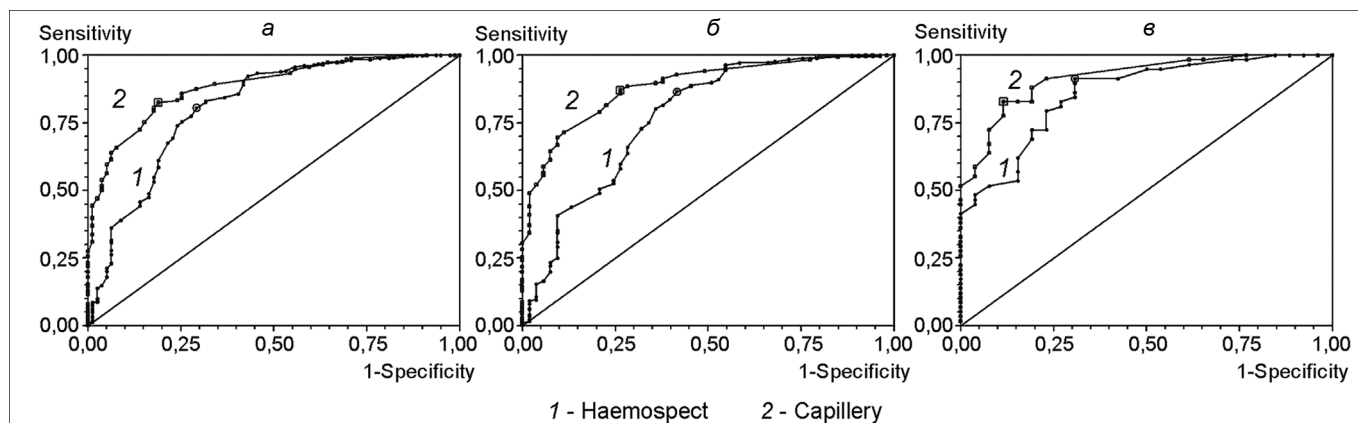


Рис. 5. ROC-кривые прогноза допуска донора к кроводаче

а – в целом; б – мужчины; в – женщины.

Таблица 2

Сопоставление показателей разных инвазивных и неинвазивных гемоглобинометров с концентрацией гемоглобина в венозной крови и прогностической их ценности для допуска донора к кроводаче

Анализатор	Источник	Коэффициент вариации, %	По сравнению с венозной кровью на анализаторе			В допуске доноров к кроводаче (нижняя граница)				
			смещение, г/л	95% ГС, г/л	ВКК	чувстви- тельность, %	специфичность, %	прогностическая ценность результата, %		
								положительного	отрицательного	
Инвазивные:										
DiaSpect	[6]	2,2	-1,8	-20,5–16,8	0,78	—	—	—	—	
HemoControl	[6]	2,5	-2,2	-21,5–17	0,77	—	—	—	—	
	[7]	9,5	8	-9–25	0,79	—	—	—	—	
		9,9	3	-2,1–8,1	0,981	—	—	—	—	
HemoCue	[8]	—	—	—	—	♂ 13,2 ♀ 32,1	♂ 99,9 ♀ 99,8	♂ 88,5 ♀ 96,9	♂ 94,6 ♀ 86,4	
	[5]	3,23	4,3	-8,1–16,7	—	—	—	—	—	
	[7]	10,1			0,763	—	—	—	—	
		♂ 8,3 ♀ 6,5	-7,2 5,4	-25,8–11,5 0–10,8	♂ 0,758 ♀ 0,610	—	—	—	—	
		9,7			0,958	—	—	—	—	
	[9]	—	5,3	-15–25,6	—	—	—	—	—	
	[10]	15,8: ♂ 8,7 ♀ 12,1				79,5	100	100	97,2	
		15,1: ♂ 8,5 ♀ 11				64	100	100	95	
			—	—	—					
	[11]	10,7 9,4	6,9 3,8	—	—	—	—	—	—	
	[12]	9,8	-3	-17–11	0,86	42,7	98,6	—	—	
	[13]	—	8,3	5,4–22	—	99	99,5	—	—	
	[14]	—	5,0	-8,3–18,3	—	96,2	99,4	—	—	
	Неинвазивные:									
Pronto-7	[5]	2,73	-5,9	-25,7–13,9	—	—	—	—	94,3	
	[9]	—	1,8	-29–32,6	—	—	—	—	—	
	[13]	—	-5,3	-25,7–15,1	—	93	83	—	—	
	[14]	—	4,0	17–25	—	91,2	98,7	—	—	
	[15]	3,5	5,6	-18,4–29,4	0,8	—	—	—	—	
	[16]	—	-5	-24,4–14,3	—	—	—	—	—	
	[17]	8,3	2	—	—	—	—	—	—	
Radical-7	[9]	-	-1,1	-32,6–30,4	—	—	—	—	—	
NBM-200	[6]	4,3	-6,6	-33,9–20,9	0,43	—	—	—	—	
	[8]	—	—	—	—	♂ 14,47 ♀ 32,34	♂ 98,89 ♀ 95,12	♂ 42,59 ♀ 61,9	♂ 95,3 ♀ 85,15	
	[12]	9,9	-1	-23–21	0,69	38,6	93,6	—	—	
	[13]	—	2,9	-16,4–22,1	—	98	97	—	—	
	[14]	—	4,0	-17–25	—	94,3	97,5	—	—	
	[15]	5,9	2,1	-30,1–34,2	0,69	—	—	—	—	
	[16]	—	-1,2	-23,5–21,1	—	—	—	—	—	
	Haemospect	[14]	—	1,0	-24–23	-	93,1	98,7	-	—
	[16]	—	-2,2	-26,4–22,1	—	—	—	—	—	
	[18]	15,9	—	—	—	< 120: 88 < 130: 97	< 120: 98 < 130: 100	< 120: 96 < 130: 97	< 120: 94 < 130: 97	
Rad-87	[18]	12,4	—	—	—	< 120: 90 < 130: 92	< 120: 69 < 130: 44	< 120: 62 < 130: 61	< 120: 92 < 130: 86	

Примечание. ГС – граница согласия; ВКК – внутриклассовый коэффициент корреляции; ■ – образцы капиллярной крови; ■ – образцы венозной крови; ♂ – мужчины; ♀ – женщины.

между образцами венозной крови и неинвазивной гемоглобинометрией ($r = 0,59$; $p = 0,0001$; **рис. 2**).

При оценке согласия анализируемых методов наибольшие средние разности отмечены в парах Наemospect–венозная кровь и Наemospect–капиллярная кровь: $-2,7$ г/л (95% граница согласия (ГС) $-31,7$ – $26,3$ г/л, внутрикласовый коэффициент корреляции (ВКК) $-0,602$) и $-2,1$ г/л (95% ГС $-25,3$ – 21 г/л, ВКК $-0,655$) соответственно (**рис. 3**). Для пары капиллярная кровь–венозная кровь эта величина соответствовала $-0,5$ г/л (95% ГС $-22,8$ – $21,8$ г/л, ВКК $-0,758$). Связь между результатами исследований, а также их средними и их разностью в паре Наemospect–капиллярная кровь, отсутствовала. Тогда как существовала отрицательная связь между концентрацией гемоглобина в венозной крови и показателями неинвазивной гемоглобинометрии ($r = 0,613$; $p < 0,0001$) и капиллярной крови ($r = 0,659$; $p < 0,0001$) (**рис. 4**).

Сопоставление диагностической ценности разных методов определения концентрации гемоглобина для допуска донора к кроводаче. На основании показателей венозной крови от кроводачи было отведено 79 (16,3%) доноров, из них 53 (13,3%) мужчины и 26 (31%) женщины. Чувствительность неинвазивной гемоглобинометрии для допуска донора к кроводаче соответствовала 55,7% (от 44,1 до 66,9%; у мужчин 47,1%, у женщин 73,1%), специфичность – 89,9% (от 86,5 до 92,6%; у мужчин 91,1%, у женщин 82,8%). Аналогичные характеристики для капиллярной крови составили 59,5% (от 47,9 до 70,4%; у мужчин 50,9%, у женщин 76,9%) и 93,8% (от 91 до 96%; у мужчин 94,2%, у женщин 91,4%) соответственно. Прогностическая ценность положительного результата для Наemospect составляла 51,8% (от 40,1 до 62,7%, у мужчин 44,6%, у женщин 65,5%), отрицательного – 91,2% (от 88 до 93,8%, у мужчин 91,8%, у женщин 87,2%), отношение правдоподобия (в виде отношения шансов) – 11,2. Прогностическая ценность положительного результата для капиллярной крови составляла 65,3% (от 53,1 до 76,1%; у мужчин 57,4%, у женщин 80%), отрицательного – 92,2% (от 89,2 до 94,6%; у мужчин 92,6%, у женщин 89,8%), отношение правдоподобия (в виде отношения шансов) – 23,3. Концентрация гемоглобина в капиллярной крови продемонстрировала несколько более высокую диагностическую ценность по сравнению с неинвазивной гемоглобинометрией (площадь под кривой 0,89 (95% ДИ 0,85–0,92) против 0,81 (95% ДИ 0,75–0,87) (**рис. 5**). При использовании Наemospect у мужчин точка разделения соответствовала 135 г/л, у женщин – 117 г/л. При исследовании капиллярной крови у мужчин точка разделения соответствовала 137 г/л, у женщин – 126 г/л.

Обсуждение

Неинвазивная гемоглобинометрия обладает рядом преимуществ перед исследованием капиллярной и венозной крови. Она не требует реактивов и расходных материалов, квалифицированного персонала, обладает высокой мобильностью, исключается дискомфорт донора, риск инфицирования и т.д. Особую актуальность она приобретает в работе выездных бригад.

Концентрация гемоглобина при неинвазивном измерении и в капиллярной крови характеризуется меньшей дисперсией значений, меньшим коэффициентом вариации. Показатели неинвазивной гемоглобинометрии наиболее тесно связаны с концентрацией гемоглобина в капиллярной крови, что проявляется в синхронности характеристик их распределения, в наличии более тесных связей и большем согласии результатов по сравнению с венозной кровью, что позволяет считать два этих метода тождественными. Они имеют сопоставимую диагностическую ценность при незначительном преимуществе исследования капиллярной крови, характеризуются ограниченной чувствительностью при высокой специфичности.

Очевидно, что в плане прогноза качества эритроцитосодержащих компонентов донорской крови приоритетное значение имеет концентрация гемоглобина в венозной крови [5]. Однако признание равенства между показателями венозной и капиллярной крови, измеренной как инвазивно, так и неинвазивно, не вполне правомочно, так как существует прямая корреляционная связь между концентрацией гемоглобина в венозной крови и разностью этого уровня в венозном и капиллярном образцах. Иными словами, при больших значениях концентрации гемоглобина в венозной крови можно ожидать заниженные показатели концентрации гемоглобина в капиллярной крови, а при низких – их завышение. Эта зависимость прослеживается как при инвазивной, так и неинвазивной оценке, следовательно, не зависит от технических условий исследования капиллярной крови. По-видимому, она носит физиологический характер, определяющий большее постоянство содержания кислороданосителя в капиллярной крови, нежели в венозной, находящейся под влиянием большего числа факторов. Следовательно, применение любых методов оценки капиллярной крови для скрининга доноров необходимо

проведение валидации и определение референсных значений для данной конкретной методики.

На сегодняшний день представлен достаточно широкий спектр портативных инвазивных и неинвазивных гемоглобинометров, отличающихся принципами детекции. Среди неинвазивных можно отметить окклюзионную и отражательную спектроскопию, пульсовую СО-оксиметрию, среди инвазивных – абсорбционную и безреагентную фотометрию, а также гемоглобинометрию, базирующуюся на расчете концентрации гемоглобина путем измерения гематокрита, основанного на определении электрического сопротивления (плазма – проводник, клетки крови – изоляторы). Очевидно, что любые аналитические методики не лишены недостатков. Неинвазивные зависят от структуры, толщины, пигментации кожи и степени ее загрязненности, распределения капилляров, температуры конечности, характера изменения кровотока в процессе измерения (поза, положение конечности). Инвазивные зависят от качества получаемого образца крови, увеличения доли плазмы в нем. Расчетные зависят от точности модели расчета и имеют дополнительную долю инструментальной ошибки.

Апробированные для применения в службе крови методики инвазивной гемоглобинометрии point-of-care, из которых наиболее распространенной является HemoCue, характеризуются по сравнению с неинвазивным способом большим средним смещением (около 5 г/л против 2,5 г/л), меньшими 95% ГС (около 30 г/л против около 60 г/л) с преимущественным сдвигом вправо (**табл. 2**). Разброс значений неинвазивной гемоглобинометрии для большинства методик носит симметричный характер. Таким образом, инвазивная гемоглобинометрия имеет тенденцию несколько завышать концентрацию гемоглобина в капиллярной крови по сравнению с венозной, однако неинвазивная имеет меньший диапазон воспроизводимости результатов. Наemospect по своей специфичности сопоставим с NBM-200 [8], и оба они превосходят Rad-87 [18]. Повысить прогностическую ценность неинвазивной гемоглобинометрии возможно за счет применения последовательного применения разных методик у отдельных групп доноров (женщин, доноров с анемией или железодефицитным состоянием в анамнезе и т.д.) [8]. Так, последовательное применение неинвазивной гемоглобинометрии и последующее исследование капиллярной крови у доноров с субнормальными показателями первого измерения повышало суммарную специфичность с 89,9 до 97,8% (у мужчин с 91,1 до 98%, у женщин с 82,8 до 96,6%). При использовании Наemospect можно рекомендовать дополнительную оценку концентрации гемоглобина с использованием капиллярной крови при получении значений у мужчин менее 135 г/л, у женщин менее 117 г/л.

Среди практических преимуществ использования неинвазивной гемоглобинометрии можно отметить простоту метода, быстроту получения результатов, отсутствие угрозы инфицирования персонала, что определяет актуальность применения данной методики при большом потоке доноров, а также выездными бригадами. При проведении измерения необходимо обращать внимание на правильность позы донора, отсутствие загрязнений на пальце, на температуру конечности.

Таким образом, неинвазивный гемоглобинометр Наemospect, сопоставимый по степени согласия и предсказательной ценности с другими аналогичными портативными устройствами, можно использовать для скрининга доноров с установлением ограничения допуска к кроводаче мужчин при концентрации гемоглобина менее 135 г/л, женщин – менее 117 г/л.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия Л.А., Самуилова Д.Ш., Шведунова В.Н., Злочевская Е.В., Путятю Н.А., Горбенко И.Ю. и др. Гематологический стресс-синдром после радикальной коррекции врожденных пороков сердца в условиях искусственного кровообращения. *Анналы хирургии*. 2003; 2: 24–8.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

1. Bockeria L.A., Samuilova D.Sh., Shvedunova V.N., Zlochevskaya E.V., Putyato N.A., Gorbenko I.Yu., et al. Hematology stress syndrome after radical correction of congenital heart disease with cardiopulmonary bypass. *Ann. Surgery. Russian Journal (Annaly khirurgii)*. 2003; 2: 24–8. (in Russian)
2. Pasricha S.R., McQuilten Z.K., Keller A.J., Wood E.M. Hemoglobin and iron indices in nonanemic premenopausal blood donors predict future deferral from whole blood donation. *Transfusion*. 2011; 51(12): 2709–13.
3. Stern M., O'Meara A., Infanti L., Sigle J.P., Buser A. Prognostic value of red blood cell parameters and ferritin in predicting deferral due to low hemoglobin in whole blood donors. *Ann. Hematol.* 2012;91(5): 775–80.
4. Mast A.E., Schlumpf K.S., Wright D.J., Johnson B., Glynn S.A., Busch M.P.,

- et al. Haptoglobin level predicts hemoglobin concentration in individuals undergoing repeated phlebotomy. *Haematologica*. 2013; 98(8): 1324–30.
5. Sumnig A., Hron G., Westphal A., Petersmann A., Kohlmann T., Greinacher A., Thiele T. The impact of noninvasive, capillary, and venous hemoglobin screening on donor deferrals and the hemoglobin content of red blood cells concentrates: a prospective study. *Transfusion*. 2015; 55(12): 2847–54.
 6. Singh A., Dubey A., Sonker A., Chaudhary R. Evaluation of various methods of point-of-care testing of haemoglobin concentration in blood donors. *Blood Transfus.* 2015; 13(2): 233–9.
 7. Rudolf-Oliveira R.C., Goncalves K.T., Martignago M.L., Mengatto V., Gaspar P.C., Ferreira Jdos S., et al. Comparison between two portable hemoglobinometers and a reference method to verify the reliability of screening in blood donors. *Transfus. Apher. Sci.* 2013; 49(3): 578–82. doi:10.1016/j.transci.2013.09.004.
 8. Pagliaro P., Belardinelli A., Boko V., Salamon P., Manfro .S., Tazzari P.L. A non-invasive strategy for hemoglobin screening of blood donors. *Blood Transfus.* 2014; 12(4): 458–63.
 9. Hiscock R., Kumar D., Simmons S.W. Systematic review and meta-analysis of method comparison studies of Masimo pulse co-oximeters (Radical-7™ or Pronto-7™) and HemoCue® absorption spectrometers (B-Hemoglobin or 201+) with laboratory haemoglobin estimation. *Anaesth. Intensive Care*. 2015; 43(3): 341–50.
 10. Shahshahani H.J., Meraat N., Mansouri F. Evaluation of the validity of a rapid method for measuring high and low haemoglobin levels in whole blood donors. *Blood Transfus.* 2013; 11(3): 385–90.
 11. Patel A.J., Wesley R., Leitman S.F., Bryant B.J. Capillary versus venous haemoglobin determination in the assessment of healthy blood donors. *Vox Sang.* 2013; 104(4): 317–23.
 12. Kim M.J., Park Q., Kim M.H., Shin J.W., Kim H.O. Comparison of the accuracy of noninvasive hemoglobin sensor (NBM-200) and portable hemoglobinometer (HemoCue) with an automated hematology analyzer (LH500) in blood donor screening. *Ann. Lab. Med.* 2013; 33(4): 261–7.
 13. Belardinelli A., Benni M., Tazzari P.L., Pagliaro P. Noninvasive methods for haemoglobin screening in prospective blood donors. *Vox Sang.* 2013; 105(2): 116–20.
 14. Herraiz A., Gambarte J., Lopez B., Maqueda C., Coello de Portugal C., del Valle Flores San Maria. A comparative study of three non-invasive systems for measurement of hemoglobin with HemoCue System Having Coulter LH750 as reference value. *Hematology Transfus. Inter. J.* 2015; 1(3): 00016. doi:10.15406/htij.2015.01.00016. <http://medcraveonline.com/HTIJ/HTIJ-01-00016.pdf>
 15. Gayat E., Aulagnier J., Matthieu E., Boisson M., Fischler M. Non-invasive measurement of hemoglobin: assessment of two different point-of-care technologies. *PLoS One*. 2012; 7(1): e30065.
 16. Ardin S., Stormer M., Radojska S., Oustianskaia L., Hahn M., Gathof B.S. Comparison of three noninvasive methods for hemoglobin screening of blood donors. *Transfusion*. 2015; 55(2): 379–87.
 17. Al-Khabori M., Al-Riyami A.Z., Al-Farsi K., Al-Huneini M., Al-Hashim A., Al-Kemyani N., Daar S. Validation of a non-invasive pulse CO-oximetry based hemoglobin estimation in normal blood donors. *Transfus. Apher. Sci.* 2014; 50(1): 95–8.
 18. Crowley C., Montenegro-Bethancourt G., Solomons N.W., Schümann K. Validity and correspondence of non-invasively determined hemoglobin concentrations by two trans-cutaneous digital measuring devices. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2012; 21(2): 191–200.

Поступила 30.05.16

Принята к печати 10.02.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.155.392-036.11-036.022]:312.6(470+571)

Ахмерзаева З.Х.¹, Паровичникова Е.Н.¹, Русинов М.А.¹, Зотина Е.Н.², Гаврилова Л.В.³,
Приступа А.С.⁴, Борисенкова Е.А.⁵, Вопилина Н.А.⁶, Куликов С.М.¹

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗОВ В ПЯТИ РЕГИОНАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

¹ ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия;

² ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови» ФМБА России, 610027, г. Киров, Россия;

³ ГБУЗ РМ «Мордовская республиканская клиническая больница №4», 430013, г. Саранск, Россия;

⁴ ГБУ РО «Областная клиническая больница», 390039, г. Рязань, Россия;

⁵ ГБУ КО «Областная клиническая больница», 248007, г. Калуга, Россия;

⁶ ГБУЗ «Тамбовская Областная клиническая больница им. В. Д. Бабенко», 392000, г. Тамбов, Россия

Под эгидой Национального гематологического общества в 2013 г. было инициировано эпидемиологическое исследование острых лейкозов (ОЛ) в 5 регионах Российской Федерации (РФ) на базе ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (ГНЦ, Москва) при технической поддержке компании «Aston Consulting». Для этих целей была создана web-система сбора данных для регистрации первичных случаев ОЛ при координации ГНЦ (Москва).

Цель работы – оценка заболеваемости, распределения по типам ОЛ, зависимости их от основных демографических показателей.

Результаты. On-line-регистрацию всех первичных случаев ОЛ проводили с 01 апреля 2013 по декабрь 2016 г. Необходимым являлось подписание информированного согласия пациентом. Включены 334 больных ОЛ (185 женщин и 149 мужчин) в возрасте от 16 до 85 лет (медиана возраста 57 лет) из 5 областей РФ – Рязанская, Кировская, Тамбовская, Калужская области, Республика Мордовия). По полученным стандартизованным показателям заболеваемости (от 1,39 до 2,43 на 100 тыс. населения) мы можем сказать, что регистрируемая заболеваемость ОЛ остается низкой. Это значение практически не отличается от показателя заболеваемости ОЛ (2,71) по данным Российского ракового регистра (РР) в 2008 г. и значительно ниже данных европейских и американских регистров (4–5 случаев на 100 тыс. жителей в год).

К л ю ч е в ы е с л о в а: медицинский регистр; острый лейкоз; заболеваемость.

Для цитирования: Ахмерзаева З.Х., Паровичникова Е.Н., Русинов М.А., Зотина Е.Н., Гаврилова Л.В., Приступа А.С., Борисенкова Е.А., Вопилина Н.А., Куликов С.М. Эпидемиологическое исследование острых лейкозов в пяти регионах Российской Федерации. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 46–51. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-46-51>

Для корреспонденции:

Ахмерзаева Залина Хатаевна, врач научно-клинического отделения химиотерапии с дневным стационаром ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: zalina.akhmerzaeva@mail.ru.

For correspondence:

Akhmerzaeva Zalina Kh., MD, National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: zalina.akhmerzaeva@mail.ru.

Information about authors:

Akhmerzaeva Z.Kh., <http://orcid.org/0000-0001-7493-4197>; Parovichnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>; Rusinov M.A., <http://orcid.org/0000-0002-2851-3719>; Zotina E.N., <http://orcid.org/0000-0001-9692-2541>; Borisenkova E.A., <http://orcid.org/0000-0003-1309-8935>; Kulikov S.M., <http://orcid.org/0000-0001-6260-2363>.

Akhmerzaeva Z.Kh.¹, Parovichnikova E.N.¹, Rusinov M.A.¹, Zotina E.N.², Gavrilova L.V.³, Pristupa A.S.⁴,
Borisenkova E.A.⁵, Vopilina N.A.⁶, Kulikov S.M.¹

THE EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF ACUTE LEUKEMIA IN FIVE REGIONS OF THE RUSSIAN FEDERATION

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

²S.M. Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, 610027, Russian Federation;

³Mordovia Republican Clinical Hospital No 4, Saransk, 430013, Russian Federation;

⁴Regional Clinical Hospital, Ryazan, 390039, Russian Federation;

⁵Regional Clinical Hospital, Kaluga, 248007, Russian Federation;

⁶V.D. Babenko Tambov Regional Clinical Hospital, Tambov, 392000, Russian Federation

National Hematological Society initiated in 2013 the epidemiological study of acute leukemia (AL) in five regions of the Russian Federation. For this purpose, Web-System of data collection has been created for the registration of new cases of herpes zoster by SSC coordination.

The aim of the study was to estimate the incidence, distribution of AL types and their dependence on the major demographic indices.

Results. On-line registration of all *de novo* AL cases was executed from April 01, 2013 to December 2016, with signing of the necessary informed consent of the patient. There were included 334 AL patients (185 women and 149 men) aged of from 16 to 85 years (median age 57 years) from Ryazan, Kirov, Tambov, Kaluga Region, Republic of Mordovia. Standardized incidence rates ranged from 1.39 to 2.43 per 100 000 population.

Conclusion. The recorded incidence of AL remains low. This incidence does not differ from the AL incidence (2.71) according to the Russian Cancer Register (RR) in 2008. However, this incidence significantly lower than incidences in European and US registers (4–5 cases per 100 000 inhabitants per year).

Key words: medical register; acute leukemia; incidence.

For citation: Akhmerzaeva Z.Kh., Parovichnikova E.N., Rusinov M.A., Zotina E.N., Gavrilova L.V., Pristupa A.S., Borisenkova E.A., Vopilina N.A., Kulikov S.M. An epidemiological study of acute leukemia in five regions of the Russian Federation. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2017; 62(1): 46–51. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-46-51>

Acknowledgments. The study was performed with the financial support of the National Society of Hematology.

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

Received 03 February 2017

Accepted 10 February 2017

Основными методами изучения заболеваемости по данным выборочных исследований отдельных групп являются эпидемиологические исследования. Медицинские регистры являются основными инструментами сбора данных при проведении популяционных исследований, в том числе в онкогематологии [1, 2]. Информация, входящая в регистр, используется для оценки основных эпидемиологических характеристик, таких как заболеваемость, распространенность, исход лечения, выживаемость. Учитывая почти полное отсутствие информации о базовых эпидемиологических характеристиках острых лейкозов (ОЛ) в Российской Федерации (РФ), необходимым было проведение активного проспективного эпидемиологического исследования и создание соответствующего регистра и по этой нозологии.

Существует несколько зарубежных регистров, которые содержат в своем составе систему регистрации и мониторинга больных острыми лейкозами (ОЛ), например, регистр Американского национального Института Рака (US National Cancer Institute SEER/www.seer.cancer.gov), Шведский регистр ОЛ (Swedish Acute Leukemia Registry Group/www.symptoma.com), Французский регистр гематологических заболеваний (ГЗ) (Registres des Hemopathies Malignes de Cote d'Or, France/www.epidemiologie-france.aviesan), Корейский раковый регистр (PP) (The Korea Central Cancer Registry/www.iacr.com).

Первую качественную регистрацию больных для улучшения медицинского управления связывают с именем бостонского хирурга Эрнеста Амори Кодмана (E.A. Codman, 1869–1940). В 1920 г. Э.А. Кодман создал первый регистр рака саркомы кости. И только спустя несколько десятилетий стали развиваться регистры в США, Скандинавии, Великобритании и других странах [3].

Хотя основной целью регистров является оценка демографических и эпидемиологических характеристик, таких как заболеваемость и смертность, они могут предоставлять информацию для государственных служб организации здравоохранения, исследовательским медицинским институтам. Данная информация может быть использована для разработки новых протоколов лечения и программ профилактики. Для обеспечения достоверных данных регистры должны быть основаны на территориальном принципе и охватывать большой процент населения, что закономерно уменьшает влияние селекций больных при включении в регистр на результаты оценки базовых статистических характеристик и соответствующие выводы [4, 5].

Во многих работах в области популяционной гематологии присутствуют ссылки на шведский регистр ОЛ, содержащий данные о взрослых больных, у которых диагноз ОЛ был установлен начиная с 1997 г. Данный регистр, кроме базовых демографических показателей о больном, включает динамические данные о функциональном статусе, проведении интенсивного лечения, наличии и времени наступления ремис-

сии, рецидива, выполнении трансплантации костного мозга, жизненном статусе больного и дате его смерти, если она наступила [6]. В период с 1997 по 2006 г. Шведский регистр содержал сведения о 3899 онкогематологических больных. Больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) было 3318 (85,1%) в возрасте от 60 до 79 лет (медиана возраста 71 год), из них 113 (3,4%) больных острым промиелоцитарным лейкозом (ОПЛ); 472 (12,1%) больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) в возрасте от 36 до 69 лет (медиана возраста 54 года); у 109 (2,8%) зарегистрирована недифференцированная/неклассифицированная форма ОЛ. Медиана наблюдения за больными составила 6 лет.

В используемом Американским национальным Институтом Рака регистре по оценке выживаемости, эпидемиологии и конечных результатов (SEER) регистрируются данные с 1973 г. из 17 штатов Америки с общим числом населения около 80 млн человек. В США ежегодно почти у 18 000 взрослого населения диагностируют ОЛ, при этом более чем у 12 000 (66,6%) – миелоидный вариант заболевания. По расчетным показателям заболеваемость ОЛ в США составляет 5–6 случаев на 100 тыс. взрослого населения в год. Более 10 000 (55,5%) больных ОЛ ежегодно умирают, что составляет около 2% в структуре смертности от всех злокачественных заболеваний человека. Согласно данным SEER-регистра, заболеваемость ОМЛ среди мужчин в США (3–4 случая на 100 тыс. населения) выше, чем в Швеции, и заметно выше у мужчин старше 50 лет и у женщин старше 75 лет [7].

Корейский канцер-регистр и Корейское гематологическое общество (www.iacr.com) совместно провели исследование показателей заболеваемости онкогематологических заболеваний, установленных в период с 1999 по 2008 гг. Зарегистрировано 8006 случаев ГЗ у всей популяции населения, включая детей. Показатель заболеваемости ОМЛ у детей до 15 лет составлял от 1 до 1,4 на 100 тыс. населения, после 15 лет – от 1,8 до 15 на 100 тыс. населения, выше преимущественно у лиц мужского пола. Показатель заболеваемости ОЛЛ до 15 лет варьировал от 2,5 до 2,8 на 100 тыс. населения, в последующих возрастных группах до 80 лет, эти значения колебались от 0,5 до 2,6, также выше у мужчин. Стандартизованные показатели заболеваемости ОЛ у мужчин составили 5,6, у женщин 4,1 на 100 тыс. населения [8].

Первый специализированный регистр гематологических злокачественных новообразований (ЗН) во Франции (Registres des Hemopathies Malignes de Cote d'Or; www.epidemiologie-france.aviesan) был создан в 1980 г. в районе Cote d'Or в Бургундии. Регистрацию всех новых случаев ГЗ вели непрерывно и в течение более 25 лет собирали данные в популяции общей численностью около 500 000 жителей. В период с 01.01.1980 по 31.12.2004 было зарегистрировано 5086 случаев миелоидных новообразований. Миелоидные опухоли составили 1549 (30,5%) из 5086 случаев, из них 468 (30%) больных ОМЛ. Стандартизованные показатели

заболеваемости ОМЛ существенно не различались по полу: 2,8 у мужчин и 2,2 у женщин на 100 тыс. жителей в год. Медiana возраста составила 69,7 года (с разбросом от 2 до 98 лет). Частота ОМЛ увеличивалась с возрастом во всех подгруппах, особенно после 55–59 лет [9].

НАЕМАСРЕ – европейский канцер-регистр, основанный в 2005 г., финансируемый Европейской комиссией, созданный для улучшения стандартизации и доступности популяционных данных по ГЗ, архивируемых в европейских РР – EUROСARE, который охватывает около 30% населения Европы. Собрана информация по заболеваемости больных всех возрастов: от 0 до 99 лет в период 2000–2002 гг. и сгруппирована по 5 географическим регионам: Северная Европа, Соединенное Королевство Великобритании и Ирландии, Центральная Европа, Южная Европа, Восточная Европа. Общее количество зарегистрированных случаев 88 167 (66 371 лимфоидных и 21 796 миелоидных). На долю ОМЛ из 21 796 миелоидных новообразований пришлось 8107 (37,2%) случаев, показатель заболеваемости составил 3,62 (с незначительными колебаниями по полу (3,9 у мужчин и 3,35 у женщин). Число ОЛЛ составило 2863 (4,3%) из 66 371 лимфоидного заболевания с показателем заболеваемости 1,28 (1,44 у лиц мужского пола, 1,12 у лиц женского пола). Для ОЛЛ высокая заболеваемость была отмечена в возрасте 0–14 лет – 3,59 (95% CI; 3,4–4,78), снижалась до 0,53 к 45–54 годам и увеличивалась в дальнейшем с возрастом до 1,45 к 75–99 годам. Для ОМЛ показатель заболеваемости увеличивается с 3,62 для 45–54 лет до 3,93 для 75–99 лет [10]. Также было зарегистрировано 1659 случаев ОЛЛ и ОМЛ неизвестной дифференцировки, неспецифицированные – leukemia NOS (not otherwise specified), из них ОЛЛ NOS, были зарегистрированы у 294 (0,4%) из 66 371 случая лимфоидных новообразований; ОМЛ NOS/лейкемия NOS у 1365 (16,3%) из 21 796 случаев с миелоидной направленностью [11].

В США в период с 2001–2003 гг. было выполнено аналогичное эпидемиологическое исследование с регистрацией тех же гематологических заболеваний. Полученные стандартизованные показатели по заболеваемости лимфоидными новообразованиями из 17 РР (SEER) были значительно выше, чем данные, полученные в проекте НАЕМАСРЕ (33,42 и 24,5 соответственно). В то время как стандартизованные показатели по заболеваемости миелоидными новообразованиями были близки к данным, полученным в работе европейских РР (6,63 и 7,55 соответственно) [10, 12].

Система обязательного учета и дальнейшего пожизненного наблюдения за онкологическими больными функционирует с 1953 г. во всех субъектах РФ. В 1996 г. в нашей стране был создан Государственный раковый регистр (ГРР), целью которого являлись автоматизированный учет больных с различными онкологическими заболеваниями, динамическое наблюдение за пациентами, оценка выживаемости больных, формирование государственной онкологической отчетности, статистический анализ собранной информации [13].

Исторически в 1986 г. в Гематологическом научном центре (ГНЦ, Москва) в рамках исследований последствий аварии на Чернобыльской АЭС был создан эпидемиологический регистр ОЛ и других гемобластозов в Брянской области. Ретроспективный (до аварии) период наблюдения включал 1979–1985 гг., после аварии с 1986 г. К 1993 г. в этом регистре были накоплены сведения о 2832 случаях заболевания гемобластозами. Среди выделенных территорий наблюдения были 6 районов с высоким уровнем радиоактивного загрязнения и 21 территория сравнения. Сопоставление стандартизованных по возрасту и полу показателей заболеваемости на территории наблюдения и сравнения существенных различий не выявило. По показателям заболеваемости ОЛ были получены следующие значения: для ОЛЛ 1,63 (территория наблюдения) против 1,26 (территория сравнения), у мужчин 0,78 против 1,24 у женщин; для острых нелимфобластных лейкозов (ОНЛЛ) 1,42 против 1,17 у мужчин и 0,68 против 1,13 у женщин соответственно [14].

В нашей стране существует еще несколько популяционных регистров по другим нозологическим формам: Государственный регистр больных сахарным диабетом (с 2000 г.), Государственный регистр больных муковисцидозом (с 2003 г.), полинозоологический Государственный регистр «Болезни крови, иммунной системы и онкологические заболевания у детей и подростков» (с 2003 г., С.В. Чесноков) [15].

Одним из первых регистров по заболеваниям системы крови в РФ является регистр больных ХМЛ, который разработан и создан в мае 2004 г. и на сегодняшний день включает более 6400 больных из 80 субъектов РФ. Благодаря его функционированию, появилась возможность достоверно анализировать заболеваемость этой нозологией в разных регионах страны, оценивать эффективность применяемых терапевтических подходов к терапии ХМЛ, потребность в лекарственных препаратах, лабораторно-диагностическом обеспечении больных. После активного наблюдения больных ХМЛ в 2009 г. принципиально изменилась медiana времени от момента диагностики до начала терапии с 8 мес до 1 мес [16, 17]. Регистрируемая заболеваемость ХМЛ, по данным мировой литературы, колеблется от 1 до 1,5 на 100 тыс. взрослого населения. По результатам проведенного проспективного исследования в 2009–2012 гг. в 6 регионах РФ, нестандартизованная заболеваемость ХМЛ составила 0,58 на 100 тыс. населения в год, стандартизованная на стандартную популяцию ВОЗ – 0,7, на стандартную популяцию Европы – 0,72. Заболеваемость, полученная в данном исследовании, остается низкой по сравнению с мировыми данными [18, 19].

С 2010 по 2013 г. в ФГБУ «Национальный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва) было проведено ретроспективное исследование жителей Москвы старше 18 лет с впервые установленным диагнозом ОМЛ (за исключением ОЛЛ). Учитывали всех больных, зарегистрированных в медицинской документации конкретных лечебно-профилактических учреждений окружными гематологами и врачами городских гематологических стационаров, включая городские клинические больницы (ГКБ): ГКБ им. С.П. Боткина, ГКБ № 40, 52, 60 и 81. Диагноз был установлен у 286 больных с медианой возраста на момент диагностики 64,9 года (от 18 до 92 лет). Регистрируемая заболеваемость ОМЛ в Москве в 2010 г. составила 2,9 случая на 100 тыс. населения, что сопоставимо с общеευропейскими показателями [20]. По данным официальной статистики в 2012 г., в РФ около 59% больных ОМЛ были старше 55 лет, а пик заболеваемости (3,83 случая на 100 тыс. населения) пришелся на возраст от 75 до 79 лет [21].

В РФ в структуре заболеваемости ЗН среди мужчин на долю гемобластозов приходится 5,1%, среди женщин – 4,6%. По данным российского РР, число заболевших ОЛ в 2008 г. составило 4177 (3330 больных ОМЛ и ОЛЛ, 847 больных другими формами ОЛ), умерших от лейкемии в том же году зарегистрировано в 2 раза больше – 7274 больных. Несовпадение заболеваемости и смертности можно объяснить неполной приживленной диагностикой и регистрацией новых случаев и низкой выживаемостью больных с данной нозологией, не «попадающих» в специализированные учреждения. Регистрируемая в российском РР заболеваемость ОЛ отличается от расчетных показателей заболеваемости (исходя из численности населения и заболеваемости в европейских странах, приблизительно в 2 раза). Для ОЛЛ, по данным из этого регистра, показатель заболеваемости составляет 1,47 случая, для ОМЛ – 0,84, для других видов ОЛ – 0,4 на 100 тыс. населения. Общий показатель заболеваемости ОЛ составляет 2,71 случая на 100 тыс. населения [22].

Представляется важной и актуальной разработка процедур регистрации случаев ОЛ и регламента пожизненного мониторинга больных ОЛ, соответствующей информационной структуры, инструментов сбора и хранения данных. Собранная в рамках данного исследования информация позволит сделать шаг в создании постоянно действующего государственного (национального) регистра ОЛ. Кроме пассивной регистрации и отслеживания состояния больных ОЛ, регистр полезен так же как источник информации для планирования новых клинических исследований, что позволит управлять процессом включения больных в клинические исследования и оценивать клинический и популяционный эффект самого факта участия больных в клинических исследованиях. Результаты и выводы статистического анализа данных регистра ОЛ могут иметь практическое значение для общих задач управления специализированной гематологической службы РФ.

Цель исследования – оценка основных эпидемиологических характеристик ОЛ (заболеваемость, выживаемость, распределение по вариантам ОЛ и половозрастным группам) в 5 регионах, участвующих в исследовании.

Материал и методы

В исследовании участвовали гематологические клиники 5 регионов РФ – Рязанской, Кировской, Тамбовской, Калужской областей и Республики Мордовии. Критериями отбора для участия в исследовании вышеуказанных субъектов являлась полнота охвата населения. В этих регионах диагностика ОЛ проводится в одном или двух центрах, что позволяет наиболее полно учитывать новые случаи заболевания ОЛ, возникшие у жителей данных регионов. Избранные центры ранее являлись участниками многих многоцентровых клинических исследований, с которыми на протяжении нескольких лет налажена административная, организационная взаимосвязь, что в свою очередь также явилось дополнительным критерием отбора данных регионов.

В регистр вносят данные о больном с подтвержденным диагнозом ОЛ. Диагноз и вариант ОЛ устанавливают на основании общепринятых критериев [23]. Для внесения сведений о больном в базу данных необходимым является подписание информированного согласия больного на включение в исследование. Данные в регистр вносит ответственный за ведение регистра ОЛ врач-гематолог по месту проживания больного. Сведения в регистре ОЛ основываются на данных медицинской документации (карта амбулаторного больного, карта больного круглосуточного стационара). Собираемая информация при регистрации включает в себя: ФИО, дату рождения, пол, адрес, диагноз, вариант лейкоза, классификацию ОЛ (ВОЗ, МКБ), дату установления диагноза.

Для сбора данных регистрации и мониторинга статуса больных ОЛ была разработана соответствующая информационная структура и web-система сбора данных. С 01.04.13 в 5 региональных центрах стартовала регистрация новых случаев ОЛ. Регулярно (не менее 1 раза в полгода) вносят информацию о текущем жизненном статусе больного, дату последнего контакта, а если больной умер, – дату и причину смерти.

Работа проходит под эгидой Национального гематологического общества (НГО) на базе ФГБУ ГНЦ Минздрава РФ (Генеральный директор акад. РАН В.Г. Савченко), в научно-клиническом отделении химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения (руководитель научно-

клинического отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга – доктор мед. наук Е.Н. Паровичникова) и с группой информационно-аналитического отдела (заведующий отделом – канд. техн. наук С.М. Куликов), при технической поддержке компании “Aston Consulting”. Тема исследования одобрена в локальном этическом комитете ГНЦ Минздрава РФ №92 от 06.06.13. Исследователи из региональных центров проводили регистрацию всех первично возникших случаев ОЛ. Примерно каждые 3 мес (не реже 1 раза в полгода) региональные исполнители осуществляли по возможности контакт с зарегистрированными больными и вносили данные мониторинга в базу данных регистра. Ответственные исполнители по проекту из ГНЦ (Москва) координировали процесс ввода данных, осуществляли контроль корректности и полноты введенных данных. Планирование исследования, разработку протоколов и информационной структуры, промежуточные этапы контроля данных, статистический анализ осуществляли совместно при поддержке информационно-аналитического отдела.

Статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью аналитического пакета SAS 9.4. Использовали методы отчетной статистики, стандартизации заболеваемости. Статистический анализ проводили совместно с заведующим информационно-аналитического отдела ГНЦ канд. техн. наук С.М. Куликовым и сотрудником отдела канд. физ.-мат. наук М.А. Русиновым.

Демографические данные были взяты с сайта Федеральной службы государственной статистики (РосСтат; <http://www.gks.ru>) по материалам переписи населения РФ [24].

Для проведения сравнения полученных данных по заболеваемости с данными других стран проводился процесс стандартизации, или нормализации, заболеваемости – обычный демографический прием, позволяющий сравнивать этот показатель в популяциях с разными половозрастными распределениями или анализировать ее динамику в одной и той же популяции во времени, если половозрастные пропорции существенно меняются. Это рутинная демографическая процедура, в которой перед суммированием число зарегистрированных случаев в каждой возрастной страте умножается на коэффициент, равный отношению доли данной страты в стандартной популяции ВОЗ к доле данной возрастной страты в исследуемой популяции. Нормализация исходной заболеваемости к стандартной популяции – процедура, позволяющая учесть и исключить национальные демографические отклонения при сравнении показателей заболеваемости в разных странах [19].

Результаты

За 3,8 года исследования (с 01.04.13 по 31.12.16) в регистр включены 334 больных из 5 областей РФ с общей численностью взрослого населения 4 707 178 человек. Информация о всех случаях ОЛ, внесенных в регистр, отражена в **табл. 1**.

В Калужской области зарегистрирован 61 случай первичного ОЛ, в Кировской области – 86, в Рязанской области – 61, в Тамбовской области – 53, в Республике Мордовии – 73 (см. **табл. 1**). У 40 (65,6%) больных из Рязанской области и у 6 (11,3%) из Тамбовской области не был указан вариант ОЛ. Эти больные были исключены из оценок распределения больных по вариантам ОЛ. Однако в общий анализ заболеваемости и ее половозрастной структуры были включены все первично зарегистрированные случаи ОЛ. У 2 (2,7%) больных из Республики Мордовии установлен недифференцированный вариант ОЛ.

Количество зарегистрированных случаев составило: ОМЛ 215 (64,4%), ОЛЛ 54 (16,1%), ОПЛ 17 (5%), недифференцированный ОЛ 2 (0,6%), неverified вариант ОЛ 46 (13,7%).

Медиана возраста в когорте больных ОМЛ 59 лет (от 17 до 85 лет), ОЛЛ 37 лет (от 16 до 80 лет), ОПЛ 51 год (от 27 до 79 лет); в когорте больных с неverified вариантом ОЛ медиана составила 56 лет (от 22 лет до 81 года). Суммарное количество зарегистрированных случаев ОЛ с проведенной лабораторной верификацией диагноза составило 288.

Таблица 1

Распределение больных ОЛ по регионам РФ

Регион	Диагноз				Общее количество случаев ОЛ	Численность взрослого населения региона
	ОМЛ	ОЛЛ	ОПЛ	ОЛ неverified		
Калужская область	45	11	5	—	61	876 187
Кировская область	62	20	4	—	86	1 150 074
Рязанская область	17	3	1	40	61	1 006 719
Тамбовская область	39	4	4	6	53	951 262
Республика Мордовия	52	16	3	2	73	722 936
				(недифференцированный)		
Всего ОЛ...	215	54	17	48	334	4 707 178

Таблица 2

Распределение больных в Регистре ОЛ по возрасту и полу

Возраст, годы	Женщины	Мужчины	Всего
15–19	3 (0,1%)	4 (1,2%)	7 (2,1%)
20–39	36 (11%)	34 (10,1%)	70 (21,1%)
40–59	71 (22%)	52 (15,3%)	123 (37%)
60–79	69 (21%)	59 (17,1%)	128 (38%)
80 и старше	6 (1,9%)	—	6 (1,8%)
Всего больных ОЛ	185	149	334

Примерно одинаковое число зарегистрированных случаев ОМЛ зафиксировано в Калужской (45) и Тамбовской областях (39), чуть больше случаев было в Кировской области (62) и Саранске (52). Наибольшее количество ОЛЛ было зарегистрировано в Кировской области (20) и Республике Мордовии (16). В остальных регионах были зафиксированы случаи ОЛЛ от 3 до 11. Остается большим количество неverified случаев ОЛ (у 46 больных), что составляет 13,7% от всех первично зарегистрированных больных ОЛ (Тамбовская и Рязанская области). Данные по верификации варианта ОЛ из Рязанской области были получены несвоевременно и следующим этапом аналитического представления и обсуждения будут представлены позже.

Демографический анализ собранных данных продемонстрировал, что среди зарегистрированных больных ОЛ было больше женщин – 185 (55,4%), чем мужчин – 149 (44,6%). Медиана возраста больных всей группы ОЛ составила 57 лет (от 16 до 85 лет). Распределение по полу и возрасту представлено в **табл. 2**. Начиная с 40 лет число женщин в возрастных группах от 40 до 59 и от 60 до 79 лет преобладает над числом мужчин. «Равновесие» между женщинами и мужчинами наблюдается в возрасте от 20 до 39 лет.

Данные по исходной (нестандартизованной) заболеваемости представлены в **табл. 3**. Из представленных 5 регионов наиболее высокий показатель заболеваемости был выявлен в Республике Мордовия (2,44 на 100 тыс. населения в год) и Кировской области (1,8 на 100 тыс. населения в год). В Республике Мордовии и Калужской области нестандартный показатель заболеваемости у мужчин выше, чем у женщин.

Обсуждение

Показатели заболеваемости ОЛ получились несколько ниже ожидаемых. Для изучения возможных причин было необходимо проверить версию о том, что сниженные показатели заболеваемости можно объяснить демографической особенностью российской популяции, а именно сниженной долей старших возрастных групп.

Таблица 3

Нестандартизованная и стандартизованная заболеваемость в пилотных регионах РФ

Регион	Численность населения, тыс. человек			Число зарегистрированных случаев			Длительность регистрации, годы	Нестандартизованный показатель, на 100 тыс. человек в год			Стандартизованный показатель по ВОЗ
	всего	мужчины	женщины	всего	мужчины	женщины		всего	мужчины	женщины	
Кировская область	1150	518	631	86	36	50	3,7	2,02	1,87	2,13	1,79
Республика Мордовия	723	326	397	73	40	33	3,7	2,72	3,30	2,24	2,43
Рязанская область	1007	449	557	61	23	38	3,1	1,97	1,66	2,21	1,75
Калужская область	876	395	481	61	30	31	3,4	2,00	2,18	1,85	1,73
Тамбовская область	951	428	523	53	20	33	3,6	1,51	1,26	1,71	1,39

Для сравнения с данными других стран исходную заболеваемость было необходимо стандартизовать на популяцию ВОЗ. Заболеваемость после процесса стандартизации фактически не изменилась, даже немного уменьшилась (см. табл. 3). Следовательно, гипотеза о демографических причинах низкой регистрируемой заболеваемости не подтверждается.

По полученным стандартизованным показателям заболеваемости мы можем сказать, что регистрируемая заболеваемость ОЛ остается довольно низкой. Это значение практически не отличается от показателя заболеваемости ОЛ по данным российского РР в 2008 г. (2,71) и значительно ниже данных европейских и американских регистров (4–5 случаев на 100 тыс. жителей в год).

Несмотря на трудности проведения проекта, можно отметить следующие положительные моменты и достижения. За первые годы работы налажен систематический, планомерный ввод информации в выбранных пилотных регионах, что позволило нам провести оценку заболеваемости в изучаемых регионах. О достоверности и надежности полученных данных указывают результаты анализа равномерности и стабильности процесса регистрации, проиллюстрированные на рисунке на 4-й стр. обложки. Углы наклона кривых, отражающие интенсивность регистрации в различных регионах близки, пропорциональны численности регионов. Кроме того, графики регистрации не отличаются сильно от прямых линий, средний угол наклона кривых примерно одинаков за время исследования, не имеет резких скачков, сезонных колебаний, нет эффектов «разгона» и «замедления» в начале и в конце наблюдения. Это означает равномерность процесса регистрации новых случаев в течение всего времени прохождения исследования. Поэтому в расчеты и анализ были взяты полные интервалы наблюдения в регионах начиная с даты первой регистрации.

Таким образом, исходя из возрастных характеристик больных, зафиксированных в регистре ОЛ, можно сделать заключение, что на момент диагностики ОЛ больные в РФ несколько моложе больных ОЛ из европейских регистров (ОМЛ – 59 лет против 71 года, ОЛЛ – 37 лет против 54 лет). Как и во многих зарубежных РР проблемой остается значительная доля неустановленных вариантов ОЛ (13,7%). Это с очевидностью свидетельствует о низкой выявляемости, регистрации и дифференциальной диагностике случаев ОЛ в старших возрастных группах, что и объясняет сниженную регистрируемую суммарную заболеваемость ОЛ в регионах РФ. Вследствие отдаленности медицинских учреждений часть вновь заболевших пациентов, особенно пожилые, не госпитализируются в специализированные лечебные заведения, а если госпитализируются, им не проводят весь комплекс обследования, необходимый для правильной и своевременной диагностики.

Из организационных проблем самого регистра ОЛ следует отметить проблемы полноты и качества вносимых данных: неполное заполнение индивидуальных записей о больных, несвоевременное получение и внесение данных мониторинга, что ограничивает глубину и надежность анализа данных регистра.

Полученные показатели стандартизованной заболеваемости (от 1,4 до 2,4) близки к показателям заболеваемости по данным российского РР (2,71), но ниже показателей европейских и американских регистров. Данное расхождение можно объяснить существенно сниженной активностью регистрации и первичной диагностики ОЛ в старших возрастных группах.

Необходимо продолжить планомерную исследовательскую работу в рамках регистра ОЛ с дальнейшим включением в него большего числа регионов РФ, расширением собираемой информации для получения более надежной информации по заболеваемости, выявлению возможных возрастных и региональных особенностей, эффекта включения больных в многоцентровые клинические исследования, анализа выживаемости.

Финансирование. Исследование было проведено при финансовой поддержке Национального гематологического общества.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Куликов С.М., Гармаева Т.Ц., Русинов М.А., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Популяционная гематология: цели, объекты и методы. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59 (1, прил. 1): 20–1.
- Куликов С.М., Гармаева Т.Ц., Русинов М.А. Популяционные исследования в гематологии. *Вестник последипломного медицинского образования*. 2014; 1: 74.
- Гармаева Т.Ц., Русинов М.А., Зайцев Д.А., Коновалова А.А., Очинова О.Е., Лудупова Е.Ю., Куликов С.М. Теоретические вопросы организации региональных регистров заболеваний системы крови. *Вестник последипломного медицинского образования*. 2016; 4: 9–15.
- Гармаева Т.Ц., Куликов С.М., Русинов М.А., Очинова О.Е., Лудупова Е.Ю. О возможности разработки методологических основ создания региональных регистров заболеваний системы крови. В сборнике материалов «Современные аспекты гематологии и гепатологии» VI Всероссийской научно-практической конференции. 2016; 10–3. stuklov.ru/pdf/materials6.pdf
- Приказ Минздрава РФ №420 от 23.12.96 о создании Государственного ракового регистра. www.projects.innovbusiness.ru.
- Осечинский И.В., Мартиросов А.Р., Прошин А.Д., Михайлова Г.Н., Милотина Г.И., Зингерман Б.В. и др. Эпидемиологический регистр лейкозов и других гемобластозов в Брянской области как инструмент исследования последствий аварии на Чернобыльской АЭС. *Гематология и трансфузиология*. 1994; 39(4): 32–6.

- Лазарева О.В., Куликов С.М., Черников М.В., Виноградова О.Ю., Хорошко Н.Д., Туркина А.Г. Медицинские регистры: история и современные возможности. Регистр больных хроническим миелолейкозом. *Гематология и трансфузиология*. 2013; 58(3): 3–8.
- Виноградова О.Ю., Туркина А.Г., Хорошко Н.Д. Организация терапии хронического миелолейкоза. Первый общероссийский регистр больных хроническим миелолейкозом: анализ и перспективы. *Гематология и трансфузиология*. 2008; 53(5): 54–8.
- Туркина А.Г., Голенков А.К., Нансо Л.И., Крылова И.В., Клитченко Т.Ю., Сендеров О.М., Ким Н.П. Российский регистр по лечению хронического миелоидного лейкоза в рутинной клинической практике: итоги многолетней работы. *Эффективная фармакотерапия. Онкология, гематология и радиология*. 2015; 10(1): 8–13.
- Куликов С.М., Виноградова О.Ю., Челышева Е.Ю., Тищенко И.А., Галайко М.А., Лазарева О.В. и др. Заболеваемость хроническим миелолейкозом в 6 регионах России по данным популяционного исследования 2009–2012 г. *Терапевтический архив*. 2014; 86(7): 24–30.
- Туркина А.Г., Виноградова О.Ю., Хорошко Н.Д., Воробьев А.И. Российский регистр больных хроническим миелолейкозом. *Гематология и трансфузиология*. 2007; 52(2): 7–11.
- Семочкин С.В., Толстых Т.Н., Архипова Н.В., Иванова В.Л., Ключева О.В., Лукин В.В. и др. Клинико-эпидемиологическая характеристика острых миелоидных лейкозов у взрослых по данным муниципальных отделений гематологии г. Москвы. *Терапевтический архив*. 2015; 87(7): 26–32.
- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2014 году. www.oncology.ru/service/statistics/condition/2014.pdf
- Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. *Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий; 2010.
- Савченко В.Г., ред. *Программное лечение заболеваний системы крови*. М.: Практика, 2012. т.2.
- Федеральная служба государственной статистики. http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/population/demography.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Kulikov S.M., Garmayeva T.C., Rusinov M.A., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Population hematology: goals, objects and methods. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2014; 59(1, Suppl. 1): 20–1. (in Russian)
- Kulikov S.M., Garmayeva T.C., Rusinov M.A. Population studies in hematology. *Journal of Postgraduate Medical Education. Russian Journal (Vestnik poslediplomnogo meditsinskogo obrazovaniya)*. 2014; 1: 74. (in Russian)
- Codman E.A. A study in hospital efficiency: as demonstrated by the case report of the first five years of a private hospital. Boston; 1916.
- Garmayeva T.C., Rusinov M.A., Zaytsev D.A., Konovalova A.A., Ochirova O.E., Ludupova E.Yu., Kulikov S.M. Theoretical questions of the organization of regional registers of the blood system diseases. *Journal of Postgraduate Medical Education. Russian Journal (Vestnik poslediplomnogo meditsinskogo obrazovaniya)*. 2016; 4: 9–15. (in Russian)
- Garmayeva T.C., Kulikov S.M., Rusinov M.A., Ochirova O.E., Ludupova E.Yu. On the possibility of the development of methodological bases of creation of regional registers of the blood system diseases. In: Materials of VI All-Russian scientific-practical conference “Modern aspects of hematology and hepatology”. 2016: 10–3. <http://www.stuklov.ru/pdf/materials6.pdf>. (in Russian)
- Juliuss G., Antunovic P., Derolf A., Lehmann S., Mollgard L., Stockelberg D., et al. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood*. 2009; 113(18): 4179–87.
- Juliuss G., Lazarevic V., Horstedt A.S., Hagberg O., Hoglund M. Acute myeloid leukemia in the real world: why population-based registries are needed. *Blood*. 2012; 119(17): 3890–9.
- Park H.J., Park E.H., Jung K.W., Kong H.J., Won Y.J., Lee J.Y., Yoon J.H., et al. Statistics of hematologic malignancies in Korea: incidence, prevalence and survival rates from 1999 to 2008. *Korean J. Hematol.* 2012; 47(1): 28–38.
- Maynadie M., Girodon F., Manivet-Janoray I., Mounier M., Mugneret F., Bailly F., et al. Twenty-five years of epidemiological recording on myeloid malignancies: data from the specialized registry of hematologic malignancies of Cote d’Or (Burgundy, France). *Haematologica*. 2011; 96(1): 55–61.
- Morton L.M., Turner J.J., Cerhan J.R., Linet M.S., Treseler P.A., Clarke C.A., et al. Proposed classification of lymphoid neoplasms for epidemiologic research from the Pathology Working Group of the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph). *Blood*. 2007; 110(2): 695–708.
- Sant M., Allemani C., Tereanu C., De Angelis R., Capocaccia R., Visser O.; HAEMACARE Working Group. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*. 2010; 116(19): 3724–34. doi: 10.1182/blood-2010-05-282632.
- Rollison D.E., Howlader N., Smith M.T., Strom S.S., Merritt W.D., Ries L.A., et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the US, 2001–2004, using data from NAACCR and SEER programs. *Blood*. 2008; 112(1): 45–52.
- The order of Ministry of health of the Russian Federation No 420 from 23.12.96 about creation of the State cancer register. <http://www.projects.innovbusiness.ru> (in Russian)
- Osechinsky I.V., Martirosov A.R., Proshin A.D., Mikhaylova G.N., Milyutina G.I., Zingerman B.V., et al. Epidemiological Register of leukemia and other hemoblastoses in Bryansk region as a tool to study accident consequences Chernobyl nuclear power plant. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 1994; 39(4): 32–6. (in Russian)
- Lazareva O.V., Kulikov S.M., Chernikov M.V., Vinogradova O.Yu., Khoroshko N.D., Turkina A.G. Medical registers: history and modern potentialities.

- The Register of patients with chronic myeloid leukemia. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2013; 58(3): 3–8. (in Russian)
16. Vinogradova O.Yu., Turkina A.G., Khoroshko N.D. Organization of chronic myelocytic leukemia therapy. The First National Register of patients with chronic myelocytic leukemia: Analysis and prospects. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2008; 53(5): 54–8. (in Russian)
17. Turkina A.G., Golenkov A.K., Napso L.I., Krylova I.V., Klitochenko T.Yu., Senderova O.M., Kim N.P. Russian Register for the treatment of chronic myeloid leukemia in routine clinical practice: the results of years of work. *Effective pharmacotherapy. Oncology, hematology and radiology. Russian journal (Effektivnaya farmakoterapiya. Onkologiya, gematologiya i radiologiya)*. 2015; 10(1): 8–13. (in Russian)
18. Kulikov S.M., Vinogradova O.Yu., Chelysheva E.Yu., Tishchenko I.A., Galayko M.A., Lazareva O.V., et al. The incidence of chronic myeloid leukemia in 6 regions of Russia according to population-based study 2009–2012. *Therapeutic Archives. Russian journal (Terapevticheskiy arhiv)*. 2014; 86(7): 24–30. (in Russian)
19. Turkina A.G., Vinogradova O.Yu., Khoroshko N.D., Vorobiev A.I. Russian Register of patients with chronic myeloid leukemia. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2007; 52(2): 7–11. (in Russian)
20. 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 Archives. Russian journal (Terapevticheskiy arhiv)*. 2015; 87(7): 26–32. (in Russian)
21. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Status of cancer care the population of Russia in 2014. <http://www.oncology.ru/service/statistics/condition/2014.pdf>. (in Russian)
22. Chissov V.I., Starinskiy V.V., Petrova G.V., eds. *Malignant neoplasms in Russia in 2008 (morbidity and mortality)*. Moscow: P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute; 2010. (in Russian) <http://www.oncology.ru/service/statistics/tumors/2008>
23. Savchenko V.G., ed. *Software treatment of diseases of the blood system*. vol. 2: Collection of diagnostic algorithms and protocols, treatment of diseases of the blood system. Moscow: Praktika; 2012. (in Russian)
24. Federal State Statistics Service. (in Russian) http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/population/demography/

Поступила 03.02.17

Принята к печати 10.02.17

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРА, 2017

УДК 616.155.392-06:616.24-008.64-036.11]-089:616.411-089.87

Галстян Г.М., Баженов А.В., Данишян К.И., Соркина О.М., Аль-Ради Л.С.,
Коржова С.М., Клясова Г.А., Ковригина А.М.

РОЛЬ СПЛЕНЭКТОМИИ В ЛЕЧЕНИИ ОСТРОЙ ДЫХАТЕЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БОЛЬНОЙ ВОЛОСАТОКЛЕТОЧНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

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

Представлено клиническое наблюдение за больной волосатоклеточным лейкозом (ВКЛ), у которой заболевание манифестировало двусторонней пневмонией на фоне опухолевого агранулоцитоза с развитием выраженной острой дыхательной недостаточности (ОДН), потребовавшей перевода больной на искусственную вентиляцию легких. Регресс ОДН и положительная динамика в течении пневмонии были достигнуты в результате спленэктомии, после которой нормализовалось число гранулоцитов крови, а также после назначения вориконазола. Проведение торакоскопической биопсии легкого не позволило выявить патогены, только после выполнения повторного бронхоальвеолярного лаважа удалось установить этиологическую причину поражения легких: грибы рода *Aspergillus*. Наличие мутации в гене *BRAF V600E* позволило начать терапию ингибитором *BRAF*-киназы вемурафенибом. В отличие от терапии цитостатическими препаратами это позволило избежать снижения лейкоцитов и прогрессию инфекционных осложнений. В последующем, через 4 мес у больной была достигнута клинико-гематологическая ремиссия заболевания.

Ключевые слова: волосатоклеточный лейкоз; инвазивный аспергиллез легких; острая дыхательная недостаточность; спленэктомия; биопсия легкого; мутация *BRAF V600E*; вемурафениб.

Для цитирования: Галстян Г.М., Баженов А.В., Данишян К.И., Соркина О.М., Аль-Ради Л.С., Коржова С.М., Клясова Г.А., Ковригина А.М. Роль спленэктомии в лечении острой дыхательной недостаточности у больной волосатоклеточным лейкозом. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 51-54. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-51-54>

Galstyan G.M., Bazhenov A.V., Danishyan K.I., Sorkina O.M., Al-Radi L.S., Korzhov S.M., Klasova G.A., Kovrigina A.M.

THE PLACE OF SPLENECTOMY IN THE TREATMENT OF ACUTE RESPIRATORY FAILURE IN THE PATIENT WITH HAIRY CELL LEUKEMIA

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

The case report of the patient with hairy cell leukemia. The first manifestation of the disease was acute respiratory failure due to pneumonia. Initially, the clinical improvement was achieved due to splenectomy, which resulted in the increase of the blood granulocytic cells. A specific microbiological diagnosis was not established by

Для корреспонденции:

Галстян Геннадий Мартинович, доктор мед. наук, заведующий научно-клиническим отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: grngalst@gmail.com.

For correspondence:

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

Information about authors:

Galstyan G.M., <http://orcid.org/0000-0001-8818-8949>; Bazhenov A.V., <http://orcid.org/0000-0001-9597-8148>; Danishyan K.I., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>; Sorkina O.M., <http://orcid.org/0000-0002-5669-6639>; Al-Radi L.S., <http://orcid.org/0000-0002-6702-9575>; Korzhova S.M., <http://orcid.org/0000-0002-6596-6450>; Klyasova G.A., <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>; Kovrigina A.M. <http://orcid.org/0000-0002-1082-8659>.

thoracoscopy and lung biopsy. However after surgery bronchoalveolar lavage was revealed invasive aspergillosis. Successful treatment with voriconazole was started. BRAF-V600E mutation was searched out. After the clinical improvement the therapy with vemurafenib was started. This treatment helps to avoid further neutropenia and progression of infection complications. The clinical and hematological remission was achieved within 4 months.

Key words: hairy cell leukemia; acute respiratory failure; invasive aspergillosis; splenectomy; lung biopsy; BRAF-V600E mutation; vemurafenib.

For citation: Galstyan G.M., Bazhenov A.V., Danishyan K.I., Sorkin O.M., Al-Radi L.S., Korzhov S.M., Klasowa G.A., Kovrigina A.M. The place of splenectomy in the treatment of acute respiratory failure in the patient with hairy cell leukemia. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(1): 51-54. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730/2017-62-1-51-54>

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

Acknowledgments. Financial support is not available.

Received 12 January 2017

Accepted 10 February 2017

Волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ) — хроническое В-клеточное лимфопролиферативное заболевание, протекающее с поражением костного мозга, селезенки и одно-, двух- или трехростковой цитопенией. При морфологическом исследовании крови или костного мозга обнаруживают не менее 5% характерных лимфоидных клеток (мононуклеаров) среднего или большого размера с фестончатой или ворсинчатой цитоплазмой. Частота встречаемости ВКЛ составляет 1 случай на 150 тыс. населения, что составляет 2% от всех лейкозов. Как правило, заболевание характеризуется индолентным течением и благоприятным прогнозом [1–3]. Наиболее распространенной причиной неблагоприятного исхода ВКЛ являются инфекционные осложнения, которые регистрируют у 30–70% больных [2, 3]. Развитию инфекционных нарушений у больных ВКЛ способствуют длительные гранулоцитопения и моноцитопения [2, 4].

До 1984 г. спленэктомия была единственным эффективным методом лечения ВКЛ. В результате удаления селезенки уменьшается объем опухолевого клона, и ликвидировается синдром гиперспленизма, который играет ведущую роль в генезе цитопении [2]. После оперативного вмешательства у 40–70% больных нормализовались показатели гемограммы [5], однако этот эффект был непродолжителен: 4-летняя выживаемость составила всего 51% [6]. С 1984 г. для лечения ВКЛ начали применять интерферон α (ИНФа), который отвечает за дифференцировку опухолевых клеток в форму, менее чувствительную к действию ростовых факторов [2, 3, 7]. Применение в терапии ВКЛ ИНФа позволило достичь частичной ремиссии у 70% больных, полной ремиссии у 20%, а безрецидивная 5-летняя выживаемость составила 73% [2, 8].

С 1990-х годов для лечения ВКЛ стали применять аналоги пуриновых нуклеозидов, которые необратимо ингибируют фермент аденозиндезаминазы или являются нечувствительными к его действию, что ведет к внутриклеточному накоплению дезоксирибонуклеотидов и гибели опухолевых лимфоидных клеток [2, 3]. Ремиссия при лечении аналогами пуриновых нуклеозидов достигалась у 85–90% больных, 5-летняя безрецидивная выживаемость — у 90% [1, 9, 10]. Одним из существенных негативных эффектов применения препаратов из группы пуриновых аналогов, таких как 2-хлордезоксиденозин (кладрибин) и 2-дезоксикоформин (пентастатин), является длительная миелосупрессия, которая сопровождается инфекционными осложнениями [4, 9].

Выявление в 2011 г. мутации BRAF V600E у больных классической формой ВКЛ позволило разработать и успешно применить в клинической практике ингибитор BRAF-киназы вемурафениб, который даже при первично-рефрактерном течении ВКЛ позволял достичь ответа на терапию у 95% больных [1, 11–13]. Мутация BRAF V600E приводит к активации каскада одного из сигнальных путей (RAS-RAF-MEK-ERK) в отсутствие ростовых факторов, что ведет к избыточной пролиферации и нарушению дифференцировки лимфоидных клеток, которые и формируют опухолевый клон [14]. Применение вемурафениба снижает число пациентов с минимальной резидуальной болезнью [15, 16].

Несмотря на широкий арсенал препаратов для лечения ВКЛ, инфекционные осложнения, возникающие в дебюте заболевания, в ряде случаев затрудняют проведение лечения.

Представляем клиническое наблюдение больной, у которой ВКЛ манифестировал тяжелыми инфекционными осложнениями, в лечении которых решающую роль сыграла спленэктомия.

У больной С., 45 лет, заболевание манифестировало в июле 2015 г. маточным кровотечением вследствие миомы матки, по поводу которого она была госпитализирована в стационар одной из районных больниц, где при обследовании были выявлены спленомегалия (по данным ультразвукового исследования размер селезенки составил 300×120 мм), тромбоцитопения (22×10^9 /л), анемия (гемоглобин 62 г/л) и абсолютный лимфоцитоз (лейкоциты периферической крови 13×10^9 /л, 90% лейкоцитов представлены «ворсинчатыми» лимфоцитами). Врач-морфолог районной больницы заподозрил ВКЛ. Больной была начата заместительная терапия компонентами крови (концентратами эритроцитов, тромбоцитов). В результате проводимой терапии кровотечение было остановлено, после чего больную выписали, и она самостоятельно обратилась за медицинской помощью в отделение гематологии Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ), где у нее диагностировали двустороннюю пнев-

монию, осложнившуюся острой дыхательной недостаточностью (ОДН). Возбудитель пневмонии не был верифицирован. Проводили эмпирическую антибактериальную терапию цефтриаксоном, пиперациллином/тазобактамом, ванкомицином, флуконазолом, эртапенемом, имипенемом. С целью уменьшения выраженности ОДН были назначены глюкокортикостероидные (ГКС) гормоны. Состояние больной оставалось тяжелым, и для дальнейшего лечения ее перевели в ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, где в связи с тяжестью состояния ее сразу перевели в отделение реаниматологии и интенсивной терапии.

При поступлении состояние больной было крайне тяжелым, тяжесть обусловлена в первую очередь ОДН, гипоксемией. При осмотре больная была в сознании, возбуждена, жаловалась на выраженную одышку, ощущение нехватки воздуха, при незначительной физической нагрузке тахипноэ достигало 40 дыханий в минуту, гипертермия до $38,7^\circ\text{C}$. Кожные покровы бледно-серого цвета, отмечались периферические отеки нижних конечностей. На электрокардиограмме выраженная синусовая тахикардия до 135 в минуту, признаки перегрузки правых отделов сердца. АД 130/80 мм рт. ст. При аускультации грудной клетки дыхание проводилось во все отделы, но резко было снижено в базальных отделах, где выслушивались влажные мелкопузырчатые хрипы. Парциальное давление кислорода в артериальной крови (PaO_2) составило 51 мм рт. ст. при фракции вдыхаемого кислорода (FiO_2) 80% (коэффициент $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 64, в норме более 300), концентрация сыровоточного лактата 3,5 ммоль/л. Больной была начата неинвазивная вентиляция легких с фракцией вдыхаемого кислорода 100%, сатурация гемоглобина кислородом по данным пульсоксиметрии оставалась не выше 92%. На компьютерной томограмме органов грудной клетки, выполненной в день поступления, на всем протяжении обоих легких (за исключением верхушки левого легкого) определялись альвеолярно-интерстициальные инфильтраты различной плотности и размеров, расположенные как в перибронховаскулярных отделах, так и субплеврально, частично сливавшиеся в участки консолидации (рис. 1).

Диагноз ВКЛ был подтвержден на основании клинической картины заболевания (спленомегалия, двухростковая цитопения в виде анемии 76 г/л, тромбоцитопении 34×10^9 /л), изменений в лейкоцитарной формуле (лейкоциты $4,2 \times 10^9$ /л, из них 74% «ворсинчатые» клетки, 5% гранулоциты, 21% лимфоциты) и иммунофенотипического исследования лимфоцитов периферической крови, где выявлен клон клеток (17%) с фенотипом, характерным для ВКЛ: $\text{CD19}^+\text{CD20}^{\text{high}}\text{CD5}^+\text{CD23}^+\text{CD103}^+\text{CD25}^+\text{CD11}^+\text{LAIR}^+\text{CD123}$. В лимфоцитах периферической крови выявлена гетерозиготная мутация гена BRAF, приводящая к аминокислотной замене V600E. При гистологическом исследовании трепанобиоптата в костно-мозговых полостях выявлялся рыхлый интерстициальный лимфоидный инфильтрат из клеток небольших размеров с округло-овальными и неправильной формы ядрами, умеренно выраженной светлой цитоплазмой. Эритроидный росток был очагово расширен, омоложен, гранулоцитарный росток сужен с преобладанием промежуточных генераций, мегакариоцитарный росток сужен. В костном мозге морфологическая картина характеризовала субстрат ВКЛ.

В первые же сутки госпитализации больной выполнили фиброbronхоскопию с бронхоальвеолярным лаважем (БАЛ). Результаты микроскопии жидкости БАЛ, включая флуоресцентную микроскопию с окраской калкофлюором белым, были неинформативными. Культура микроорганизмов, включая исследование на легионеллы, также не выявлена. Показатели индекса оптической плотности антигена *Aspergillus* (галактоманнан) в жидкости БАЛ и в крови были отрицательными. Поиск *Pneumocystis jirovecii* в жидкости БАЛ методом непрямой иммунофлуоресцентной микроскопии и с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) тоже дал отрицательный результат. Начата эмпирическая антибактериальная терапия: дорипенем 1500 мг/сут, ванкомицин 1000 мг/сут. Поскольку нельзя было исключить инвазию грибами легких, легионеллез, пневмоцистоз пневмонию, несмотря на отрицательные результаты исследования жидкости БАЛ, была начата терапия амфотерицином В в дозе 0,8 мг/кг (всего 50 мг/сут), моксифлоксацином в дозе 400 мг/сут, триметоприм/сульфаметоксазолом в дозе 20 мг/кг/сут (пересчет на триметоприм). Несмотря на проводимое лечение, ОДН прогрессировала, выросла одышка до 40 дыханий в минуту, появились признаки гипоксической энцефалопатии. Спустя трое суток больная была интубирована и начата искусственная вентиляция легких (ИВЛ). ИВЛ проводили в управляемом по объему режиме, с положительным давлением в конце выдоха (ПДКВ)

12 мбар, с дыхательным объемом 580 мл, фракцией кислорода 80%, при этом PaO_2 составляло 72 мм рт. ст., SaO_2 – 93%. Прогрессировала цитопения: гемоглобин 79 г/л, тромбоциты $39 \times 10^9/\text{л}$, лейкоциты $6,1 \times 10^9/\text{л}$ (гранулоциты 5%, или $0,3 \times 10^9/\text{л}$), нарастала лихорадка до $39,5^\circ\text{C}$, что препятствовало назначению специфической терапии ВКЛ как интерфероном, так и кларидрином. Этиология легочного поражения оставалась неизвестной. Прогрессировала ОДН, фракция вдыхаемого кислорода была постепенно увеличена до 90%, поэтому 03.09.15 было принято решение о выполнении с диагностической целью торакоскопической биопсии легкого. В то же время, учитывая невозможность проведения лекарственной терапии ВКЛ и значительные размеры селезенки, с целью уменьшения объема опухолевого клона и ликвидации синдрома гиперспленизма было решено при благополучном исходе торакоскопической биопсии легкого вторым этапом попытаться выполнить спленэктомию.

Оперативное вмешательство было выполнено 04.09.15. Учитывая выраженную ОДН, торакоскопическую биопсию легкого проводили в условиях разнолегочной вентиляции. Для этого больной установили двухпросветную интубационную трубку Робертшу, бронхиальный конец которой был введен в левый главный бронх. Вентиляцию легких проводили двумя респираторами. В оперируемом правом легком через трахеальное отверстие трубки Робертшу с помощью респиратора BiPAP Vision создавали постоянное положительное давление (continuous positive airway pressure – CPAP) 5–10 мбар с помощью кислородно-воздушной смеси. Незначительно раздутое при этом легкое позволяло работать хирургам, поддерживая оксигенацию. Левое легкое вентилировали через бронхиальный конец трубки Робертшу с помощью наркозно-дыхательного аппарата Drager Primus в управляемом по объему режиме (дыхательный объем 4 мл/кг) с ПДКВ 10 мбар, фракцией кислорода 80–100% в условиях миорелаксации рокурением бромидом и тотальной внутривенной анестезии пропofолом и фентанилом. Благодаря подобной тактике удалось поддерживать оксигенацию крови не ниже 90% по данным пульсоксиметрии. При ревизии плевральной полости плевра была интактна, выпота не было. На висцеральной поверхности правого легкого в различных отделах (в большей степени в нижней доли) как субплеврально, так и в толще паренхимы легкого определялись множественные, полиморфного вида инфильтративные очаги, местами сливного характера, размером от 2 до 5 см, плотностягивающей консистенции. После ревизии была выполнена красная резекция участка специфической инфильтрации в 10-м сегменте справа. Материал отправили на гистологическое, цитологическое, бактериологическое, вирусологическое исследования. После окончания торакоскопической биопсии правая плевральная полость была дренирована.

Вторым этапом оперативного вмешательства была спленэктомия. Выполнена верхнесрединная лапаротомия. При ревизии брюшной полости выявлено 250 мл светлой асцитической жидкости. Селезенка была значительно увеличена, бобовидной формы, темно-вишневого цвета, нижний ее полюс находился над входом в малый таз. В проекции нижнего полюса имелся массивный очаг инфаркта. Была выполнена спленэктомия без осложнений, суммарная кровопотеря составила 300 мл. Масса удаленной селезенки 3500 г, размер $32 \times 21 \times 7$ см.

При исследовании биоптата легкого этиологию легочного поражения установить не удалось. Не были выявлены бактерии (окраска по Граму, культуральное исследование), микобактерии туберкулеза (окраска по Цилю–Нильсену), грибы (окраска калькофлюором белым, культуральное исследование), пневмоцисты (реакция непрямой иммунофлюоресценции, ПЦР), вирусы (ПЦР). При гистологическом исследовании биоптата ткани легкого обнаружены признаки интерстициальной пневмонии, лимфоплазматическая инфильтрация с примесью гистиоцитов стенок альвеол, в просвете альвеол – альвеолярные макрофаги, фибрин. Таким образом, проведенная биопсия легкого не позволила установить этиологию легочного поражения.

При макроскопическом исследовании селезенки выявлены субкапсулярные некрозы от 0,5 до 1,5 см в диаметре, выступающие над поверх-

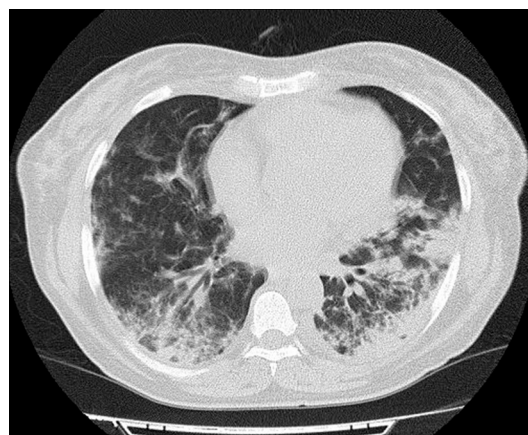


Рис. 1. Компьютерная томография больной С. от 01.09.15. Видны субтотальная альвеолярно-интерстициальная пневмония, жидкость в полости перикарда, плевральных полостях, лимфаденопатия виллюриальных лимфатических узлов.

ностью ткани макропрепарата. При микроскопическом исследовании в селезеночных тяжах определялась диффузная инфильтрация небольшими лимфоидными клетками с округло-овальными и неправильной формой ядрами, умеренно выраженной светлой вакуолизированной цитоплазмой, красная пульпа была резко полнокровна, лимфоидный инфильтрат разрушал стенки сосудов синусоидного типа с формированием экстравазатов эритроцитов, «озер» крови (рис. 2 на 4-й стр. обложки). Морфологическая картина удаленной селезенки была характерна для ВКЛ.

После спленэктомии в течение короткого времени отмечено увеличение количества гранулоцитов в периферической крови. На 3-е сутки после оперативного вмешательства, количество лейкоцитов периферической крови составило $22,4 \times 10^9/\text{л}$, из них гранулоциты составили 13%, или $2,9 \times 10^9/\text{л}$, а количество ворсинчатых клеток в периферической крови уменьшилось с 76 до 22% (рис. 3).

После оперативного вмешательства состояние больной оставалось тяжелым: сохранялись фебрильная лихорадка, выраженная ОДН. Проводили ИВЛ в режиме, управляемом по давлению с ПДКВ 16 см вод. ст., пиковое давление в дыхательных путях поддерживали на уровне 34–35 мм вод. ст., фракция вдыхаемого кислорода 60–70%, при этом PaO_2 составляло 65–70 мм рт. ст. Через 3 дня после операции у больной развился правосторонний пневмоторакс: появился сброс воздуха по дренажам, установленным в плевральную полость, сформировался легочно-плевральный свищ. Параметры ИВЛ изменили таким образом, чтобы пиковое давление не превышало 30 см вод. ст., однако сброс воздуха по дренажам сохранялся. В связи с отсутствием положительной динамики в состоянии больной на 10-е сутки после операции были повторно выполнены фибробронхоскопия и БАЛ. Среди полного комплекса исследований жидкости БАЛ положительным оказалось только определение антигена *Aspergillus* (галактоманна). Индекс оптической плотности галактоманна в жидкости БАЛ составил 5,8 (положительные значения от 1,0 и выше). В соответствии с международными рекомендациями у больной был диагностирован инвазивный аспергиллез легких, входящий в категорию «вероятный» [17]. В наличии были факторы риска (гранулоцитопения более 10 дней, лечение ГКС), радиологические проявления в легких, микологическое подтверждение (положительный антиген *Aspergillus* в жидкости БАЛ). К терапии был добавлен вориконазол

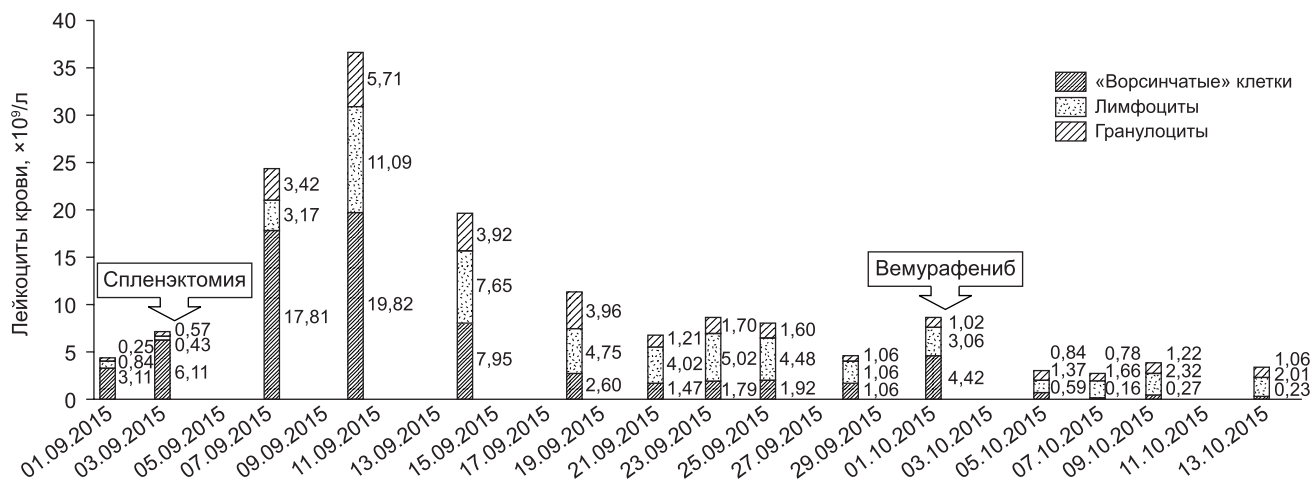


Рис. 3. Изменение количества лейкоцитов периферической крови при лечении больной С.

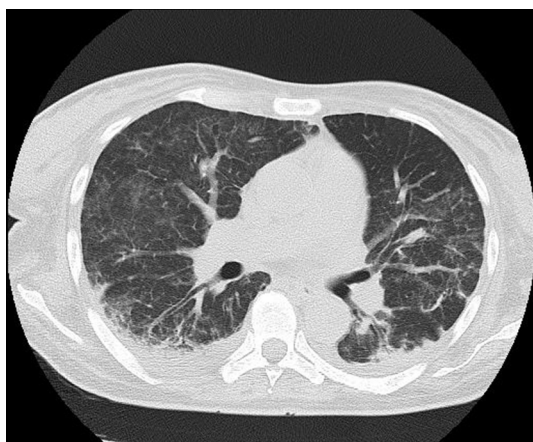


Рис. 4. Компьютерная томография больной С. от 01.10.15. Отмечается уменьшение размеров и снижение плотности инфильтративных изменений в обоих легких.

внутривенно в нагрузочной дозе 12 мг/кг в сутки, в поддерживающей дозе 8 мг/кг в сутки, что привело к быстрому улучшению состояния больной: нормализовалась температура тела, фракция вдыхаемого кислорода была уменьшена до 30%, ПДКВ до 6 см вод. ст., коэффициент $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ увеличился до 300; больную перевели на самостоятельное дыхание через трахеостомическую трубку, прекратился сброс воздуха по дренажам, по данным компьютерной томографии отмечена положительная динамика в течении пневмонии (рис. 4). Через месяц после операции трахеостомическую трубку удалили. Больную перевели на таблетированную форму вориконазола (по 200 мг 2 раза в день).

Исследование лимфоцитов периферической крови выявило у больной мутацию гена *BRAF*V600E. Учитывая необходимость проведения специфической терапии ВКЛ (нарастание лимфоцитоза за счет «ворсинчатых» лимфоцитов) в условиях неполного регресса воспалительного процесса в легких, с 01.10.15 начали терапию ВКЛ ингибитором тирозинкиназы вемурафинибом в дозе 480 мг/сут на фоне приема вориконазола (по 200 мг 2 раза в день).

Через 42 дня после поступления в отделение реанимации больную перевели в гематологическое отделение, где была продолжена терапия вемурафинибом. Лечение больная переносила удовлетворительно, осложнений не было. В анализе крови от 27.10.15 (рис. 4) отмечено снижение количества ворсинчатых клеток до единичных, рост числа гранулоцитов до 35% ($1,6 \times 10^9/\text{л}$), лейкоциты $4,7 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобин 105 г/л, тромбоциты $337 \times 10^9/\text{л}$. Терапия вемурафинибом была продолжена до декабря 2016 г., констатирована частичная ремиссия ВКЛ (4,3% опухолевых клеток по данным иммунофенотипического исследования крови). В январе был проведен курс химиотерапии кладрибином, после чего диагностирована ремиссия ВКЛ, которая сохраняется в течение года.

Обсуждение

Инфекционные осложнения развиваются у 30–70% больных ВКЛ и являются наиболее частой причиной их смерти, при этом инвазивный аспергиллез легких регистрируют у этой категории больных нечасто. По данным G. Damaj и соавт. [18], лишь у 4 (3%) из 73 больных ВКЛ развился пневмония с ОДН, и лишь у одного из них ее причиной явился инвазивный аспергиллез легких. Факторами риска развития инвазивного аспергиллеза являются длительная нейтропения, применение ГКС [19]. В настоящем клиническом наблюдении длительность нейтропении у больной составила более 30 дней, свой «вклад» внесли и ГКС-гормоны, назначенные больной на начальном этапе лечения. Доказать инвазивный аспергиллез легких удается не всегда даже при биопсии легкого. D. White и соавт. [20] проанализировали результаты 63 биопсий легкого у больных гемобластозами, этиологию легочного поражения удалось установить лишь у 60% больных. По данным Г.М. Галстяна и соавт. [21] при выполнении 22 биопсий легкого у больных гемобластозами этиология легочного поражения была установлена во всех случаях у больных без признаков дыхательной недостаточности и лишь у 83% больных с ОДН. В данном клиническом наблюдении только исследование повторно выполненного БАЛ позволило установить диагноз инвазивного аспергиллеза легких и назначить таргетную противогрибковую терапию.

Одной из ведущих ролей в лечении пневмонии и ОДН у данной пациентки, как ни удивительно, сыграла спленэктомия. Именно удаление селезенки способствовало уменьшению опухолевой массы, временному увеличению числа гранулоцитов в период жизнеугрожающего течения легочной инфекции, что наряду с точно установленным к этому времени диагнозом легочного поражения и целенаправленной терапией вориконазолом позволило ликвидировать инфекционные осложнения, а затем в свою очередь использовать таргетную терапию ВКЛ вемурафинибом, которая в отличие от терапии пуриновыми аналогами не вызывает нейтропении, тем самым позволяя снизить риск инфекционных осложнений [1, 15, 16, 22]. Хотя таргетная терапия ингибитором *BRAF*-киназ не при-

вела в данном случае к полной ремиссии заболевания, тем не менее она позволила добиться частичной ремиссии ВКЛ и провести курс химиотерапии в безопасных условиях вне агранулоцитоза.

Таким образом, сочетание применения различных подходов к лечению ВКЛ, как самых ранних в историческом плане, так и современных, а также настойчивый диагностический поиск позволили не только справиться с инфекционными осложнениями у больной, но и добиться ремиссии заболевания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Финансовая поддержка отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

- Волкова М.А. Волосатоклеточный лейкоз. В кн.: Волкова М.А., ред. Клиническая онкогематология. М.: Медицина; 2007: 819–34.
- Аль-Ради Л.С., Самойлова Р.С., Тихонова Л.Ю., Дягилева О.А., Наумова И.В., Капланская И.Б. и др. Волосатоклеточный лейкоз у больных молодого возраста. *Терапевтический архив*. 2008; 80(12): 53–8.
- Урнова Е.С., Аль-Ради Л.С., Кузьмина Л.А., Карякина А.А., Ковригина А.М., Двирник В.Н. и др. Успешное применение вемурафиниба у больного с резистентной формой волосатоклеточного лейкоза. *Терапевтический архив*. 2013; 85(7): 76–8.
- Якутик И.А., Аль-Ради Л.С., Бидерман Б.В., Никитин Е.А., Судариков А.Б. Применение аллель-специфической ПЦР-РВ для определения мутации *BRAF* V600E у больных волосатоклеточным лейкозом. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59(2): 16–9.
- Галстян Г.М., Гласко Е.Н., Городецкий В.М., Гржимоловский А.В., Данишян К.И., Демидова И.А. и др. Биопсия легкого в диагностике причин поражения легких у больных гемобластозами. *Терапевтический архив*. 2003; 75(10): 57–64.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Sarvaria A., Topp Z., Saven A. Current therapy and new directions in the treatment of hairy cell leukemia: a review. *JAMA Oncol*. 2015; 2(1): 123–9.
- Volkova M.A. Hairy cell leukemia. In: Volkova M.A., ed. *Clinical oncohematology*. Moscow: Medicine; 2007: 819–34. (in Russian)
- Al-Radi L.S., Samoilova R.S., Tikhonova L.Y., Dyagileva O.A., Naumova I.V., Kaplanskaya I.B., et al. Hairy cell leukemia in young patients. *Therapy archive. Russian journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2008; 80(12): 53–8. (in Russian)
- Kraut E. Infectious complications in hairy cell leukemia. *Leuk. Lymphoma*. 2011; 52(Suppl. 2): 50–2.
- Lad D., Malhotra P., Khadwal A., Prakash G., Suri V., Kumari S., et al. Outcomes of splenectomy versus cladribine for hairy cell leukemia in resource limited settings. *Leuk. Lymphoma*. 2014; 55(6): 1428–30. doi: 10.3109/10428194.2013.839786.
- Golde D. Therapy of hairy cell leukemia. *N. Engl. J. Med*. 1982; 307(8): 495–501.
- Vedantham S., Gamlie H., Golomb H.M. Mechanism of interferon action in hairy cell leukemia: a model of effective cancer biotherapy. *Cancer Res*. 1992; 52(5): 1056–66.
- Bohn J.P., Gastl G., Steurer M. Long-term treatment of hairy cell leukemia with interferon- α : still a viable therapeutic option. *Mag. Eur. Med. Oncol*. 2016; 9: 63–5.
- Naik R., Saven A. My treatment approach to hairy cell leukemia. *Mayo Clin. Proc*. 2012; 87(1): 67–76.
- Else M., Dearden C., Catovsky D. Long-term follow-up after purine analogue therapy in hairy cell leukaemia. *Best Pract. Res. Clin. Haematol*. 2015; 28(4): 217–29.
- Dietrich S., Zenz S., Tiacchi T., Liso E., Piris A., Falini M., et al. *BRAF* inhibitor therapy in hairy cell leukemia. *Best Pract. Res. Clin. Haematol*. 2015; 28(4): 246–52.
- Falini B., Martelli M.P., Tiacchi E. *BRAF*-V600E mutation in hairy cell leukemia: from bench to bedside. *Blood*. 2016; 128(15): 1918–27.
- Urnova E.S., Al-Radi L.S., Kuzmina L.A., Karyakina A.A., Kovrigina A.M., Dvirnik V.N., et al. Successful use of vemurafenib in a patient with resistant hairy cell leukemia. *Therapy archive. Russian journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2013; 85(7): 76–78. (in Russian)
- Yakutik I.A., Al-Radi L.S., Biderman B.V., Nikitin E.A., Sudarikov A.B. Detection of *BRAF* V600E mutation in patients with hairy cell leukemia by allele-specific RT-PCR. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2014; 59(2): 16–9. (in Russian)
- Cornet E., Damaj G., Troussard X. New insights in the management of patients with hairy cell leukemia. *Curr. Opin. Oncol*. 2015; 27(5): 371–6. doi: 10.1097/CCO.0000000000000214.
- Kreitman R.J. Hairy cell leukemia – new genes, new targets. *Curr. Hematol. Malig. Rep*. 2013; 8(3): 184–95.
- De Pauw B., Walsh T., Donnelly P., Stevens D., Edwards J., Calandra T., et al.; European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis*. 2008; 46(12): 1813–21.
- Damaj G., Kuhnowski F., Marolleau J.P., Batters F., Leleu X., Yakoub-Agha I. Risk factors for severe infection in patients with hairy cell leukemia: a long-term study of 73 patients. *Eur. J. Haematol*. 2009; 83(3): 246–50.
- Fleming S., Yannakou C., Haeusler G., Clark J., Grigg A., Heath C. et al. Consensus guidelines for antifungal prophylaxis in haematological malignancy and haemopoietic stem cell transplantation, 2014. *Intern. Med. J*. 2014; 44(12b): 1283–97.
- White D.A., Wong P.W., Downey R. The utility of open lung biopsy in patients with hematologic malignancies. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2000; 161(3, Pt 1): 723–9.
- Galstyan G.M., Glasko E.N., Gorodetsky V.M., Grzhimolovsky A.V., Danishyan K.I., Demidova I.A., et al. Lung biopsy in the diagnosis of causes of lung involvement in hemoblastosis. *Therapy archive. Russian journal (Terapevticheskiy arkhiv)*. 2003; 75(10): 57–64. (in Russian)
- Maurer H., Haas P., Wengenmayer T., Lübbert M., Duyster J., Zeiser R. Successful vemurafenib salvage treatment in a patient with primary refractory hairy cell leukemia and pulmonary aspergillosis. *Ann. Hematol*. 2014; 93(8): 1439–40.

Поступила 12.01.17

Принята к печати 10.02.17

Куркина Н.В.^{1,2}, Репина Е.А.¹, Машнина Н.Н.²**ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ИБРУТИНИБА ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНОГО С РЕФРАКТЕРНЫМ ТЕЧЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА**¹ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», 430032, Саранск, Россия;²ГБУЗ РМ «Республиканская клиническая больница №4», 430032, Саранск, Россия

Существует потребность в эффективных препаратах для лечения больных рецидивирующим/рефрактерным хроническим лимфолейкозом, которые бы не ухудшали их качество жизни. Представлено клиническое наблюдение больного химиорезистентным хроническим лимфолейкозом, которому была назначена терапия ибрутинибом. Препарат оказывает достаточно быстрый ответ, проявляет высокую эффективность и низкую токсичность.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз; ибрутиниб; химиотерапия; рефрактерность; рецидив.

Для цитирования: Куркина Н.В., Репина Е.А., Машнина Н.Н. Выявление злокачественной опухоли поджелудочной железы у больного с рефрактерным течением хронического лимфолейкоза на фоне терапии ибрутинибом. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1): 55-56. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-55-56>

Kurkina N.V.^{1,2}, Repina E.A.¹, Mashnina N.N.²**EXPERIENCE OF IBRUTINIB THERAPY IN THE TREATMENT OF PATIENT WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA**¹National Research Mordovian State University n.a. N.P. Ogarev, Saransk, 430032, Russian Federation;²Republican Clinical Hospital № 4, Saransk, 430032, Russian Federation

There is a necessity for effective drugs in patients with relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL) treatment that would not worsen the patients quality of life. Clinical case of a patient with chemoresistant CLL, who got Ibrutinib treatment, is discussed. The drug has a fairly quick response, high efficiency efficacy and emissionslow toxicity. Of particular interest are rare side effects detected while therapy and require correction doses of the drug.

Key words: chronic lymphocytic leukemia; Ibrutinib; chemotherapy; refractoriness; relapse.

For citation: Kurkina N.V., Repina E.A., Mashnina N.N. Identification of malignant tumors of the pancreas of Ibrutinib application in the treatment of patient with chronic lymphocytic leukemia. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(1): 255-56. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-55-56>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Received 12 October 2016

Accepted 22 November 2016

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) — опухоль иммунокомпетентной системы, клеточный субстрат которой представлен морфологически зрелыми лимфоцитами. Лейкозные клетки при ХЛЛ происходят из одного предшественника, представляют собой моноклоновую пролиферацию. Особенностью лимфоцитов при ХЛЛ являются их функциональная неполноценность, нарушение механизма антителиобразования, что способствует возникновению у больных различных инфекционных процессов. Вследствие развития иммунодефицита при ХЛЛ часто отмечаются аутоиммунные осложнения.

ХЛЛ выявляют преимущественно у пациентов в возрасте старше 60 лет. Чаще всего наблюдается медленно прогрессирующее течение заболевания, при котором обоснована тактика выжидательного наблюдения за пациентами до появления показа-

ний к терапии. У других больных отмечается прогрессирующее течение ХЛЛ, требующее раннего назначения лечения. Показаниями к назначению терапии являются массивная лимфаденопатия, нарастающая спленомегалия, лимфоцитоз (повышение числа лимфоцитов более чем в 2 раза за 6 месяцев), развитие аутоиммунных осложнений, наличие В-симптомов.

Тактика лечения данного заболевания определяется возрастом пациента и коморбидностью. У больных с хорошим соматическим статусом без сопутствующих заболеваний надо стремиться к достижению полной ремиссии, что приводит к увеличению продолжительности жизни. У больных преклонного возраста и/или с наличием значимых сопутствующих заболеваний целью лечения является контроль над болезнью при низкой токсичности терапии. У больных старческого возраста с признаками органной недостаточности проводят паллиативную терапию.

Существуют значительные трудности лечения больных рецидивирующими/рефрактерными формами ХЛЛ. Резистентность к химиотерапии при данном заболевании приводит к неблагоприятному прогнозу. Тирозинкиназа Брутона является важным компонентом В-клеточного рецептора и других сигнальных путей, которые при их неправильном функционировании могут стимулировать развитие В-клеточных злокачественных новообразований [1]. Препарат ибрутиниб, являющийся таргетным ингибитором тирозинкиназы Брутона, позволяет преодолеть химиорезистентность и улучшить качество жизни больных ХЛЛ [2–5].

Представлен случай клинического наблюдения за больным ХЛЛ, В-клеточный вариант, стадия С по Binet, рецидив III.

Для корреспонденции:

Куркина Надежда Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент медицинского института ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», 430032, Саранск, Россия. E-mail: nadya.kurkina@yandex.ru.

For correspondence:

Kurkina Nadezhda V., MD, PhD, associate professor Medical Institute of National Research Mordovian State University n.a. N.P. Ogarev, Saransk, 430032, Russian Federation. E-mail: nadya.kurkina@yandex.ru

Information about authors:

Kurkina N.V., <http://orcid.org/0000-0002-1264-102X>; Repina E.A., <http://orcid.org/0000-0002-8367-2501>; Mashnina N.N. <http://orcid.org/0000-0001-8200-1469>.

Динамика показателей гемограммы на фоне терапии ибрутинибом

Дата	Показатель							
	Нб, г/л	эр., × 10 ¹² /л	л., × 10 ⁹ /л	п., %	с., %	лимф., %	тр., × 10 ⁹ /л	СОЭ, мм/ч
12.10.15	90	3,4	380		2	98	190	60
26.10.15	84	3,3	376		8	92	330	41
06.11.15	78	2,6	315	6	6	88	350	35
13.11.15	80	3,0	284	2	1	97	140	35
04.12.15	70	2,7	203		1	99	210	7
28.12.15	81	3,1	169	2	3	95	320	13
11.01.16	84	3,3	139	1	1	98	170	5
11.02.16	95	3,8	78		1	99	180	6
14.03.16	106	4	54		2	98	230	5
11.04.16	107	4,1	50		2	98	220	6
11.05.16	100	3,9	25,3	3	5	92	220	8

У больного Р., 58 лет, изменения в анализе крови в виде умеренного лейкоцитоза с абсолютным лимфоцитозом были впервые выявлены в апреле 2004 г. При осмотре в апреле 2004 г. отмечалась небольшая лимфоаденопатия (периферические лимфатические узлы размером до 0,5–1,0 см), печень и селезенка были не увеличены. В анализе крови от 20.04.04: гемоглобин 121 г/л, лейкоциты $22,3 \times 10^9/л$, лимфоциты 80%, в миелограмме от 19.04.04 – пунктат гиперклеточный, зрелые лимфоциты 58,6%. Был диагностирован ХЛЛ, А стадия по Binet. Показаний к специфическому лечению не было, наблюдался у гематолога. За время наблюдения отмечался постепенный рост периферических лимфатических узлов, селезенки, лейкоцитоза. Осенью 2008 г. появились В-симптомы: потливость, общая слабость.

При осмотре в декабре 2008 г. отмечено увеличение размера периферических лимфатических узлов до 2–2,5 см, селезенки по результатам ультразвукового исследования (УЗИ) до $15,1 \times 6,3$ см. В анализе крови от 02.12.08: гемоглобин 135 г/л, лейкоциты $52,5 \times 10^9/л$, лимфоциты 82%, тромбоциты $160 \times 10^9/л$. Была начата химиотерапия по схеме FC (флударабин и циклофосфан), с декабря 2008 г. по май 2009 г. проведено 6 курсов химиотерапии [6]. Достигнута полная ремиссия: исчезли В-симптомы, сохранились только подмышечные лимфатические узлы размером до 1,5 см, печень и селезенка не увеличены, нормализовался анализ крови. В марте 2012 г. наблюдался первый рецидив заболевания – нарастание лейкоцитоза до $64 \times 10^9/л$, прогрессивный рост периферических лимфатических узлов до 2,5–3 см. В качестве второй линии химиотерапии проведено 4 курса по схеме FCR (флударабин, циклофосфан и ритуксимаб) [6]. Терапия осложнилась развитием гематологической токсичности 2-й степени, инфекционными проявлениями, которые были купированы на фоне антибактериальной терапии и гемотрансфузий компонентов крови.

Химиотерапевтическое лечение завершено в июне 2012 г., достигнут частичный ответ: отмечалось уменьшение размеров периферических лимфатических узлов на 50%, снижение лейкоцитоза в 2 раза по сравнению с исходными показателями до начала терапии. В феврале 2013 г. – прогрессия заболевания и второй рецидив, вновь отмечался рост лимфатических узлов, конституциональная симптоматика (потливость, снижение аппетита, похудание), увеличение лейкоцитоза в анализе крови до $80 \times 10^9/л$. Проведено 4 курса полихимиотерапии по схеме BR (бендамустин + ритуксимаб) [6]. Вновь достигнут частичный ответ, сохраняющийся в течение 1 года. С октября 2014 г. – прогрессия ХЛЛ: нарастание лейкоцитоза до $250 \times 10^9/л$, появление анемии, спленомегалии, конгломератов лимфатических узлов всех групп. Диагностирован третий рецидив заболевания: сохранялась лимфоаденопатия (периферические лимфатические узлы шейные размером 1–2 см, подмышечные 2–3 см, паховые 1–1,5 см), спленомегалия (селезенка размером $13,5 \times 7$ см), увеличение абдоминальных лимфатических узлов (по УЗИ 50–55 мм в диаметре), симптомы интоксикации, анемия легкой степени.

В августе 2015 г. больной был проконсультирован в ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (Москва).

Общий анализ крови от 22.08.15: гемоглобин 90 г/л, эритроциты $4,3 \times 10^{12}/л$, тромбоциты $100 \times 10^9/л$, лейкоциты $290 \times 10^9/л$, палочкоядерные нейтрофилы 2%, сегментоядерные нейтрофилы 2%,

лимфоциты 96%; СОЭ 13 мм/ч. Миелограмма: гиперклеточный костный мозг. Лимфобласты 2,8%, лимфоциты 86%, эритроидный ряд 4%, мегакарициты – достаточное количество.

Трепанобиопсия: в костно-мозговых полостях гиперклеточный костный мозг за счет диффузного лимфоидного инфильтрата из клеток небольших размеров с округло-овальными и слегка неправильными ядрами.

FISH исследование с ДНК-зондами от 25.08.15: TP53 (17p13.1) Spectrum Orange Probe (ABBOTT) nuc ish:TP53x2) [200]. Заключение: мутация гена TP53 (делеция 17p13) не выявлена. Подтвержден диагноз В-клеточного ХЛЛ, стадия С по Binet.

С учетом неблагоприятного прогноза (третий рецидив заболевания с формированием химиорезистентности) возможности химиотерапевтических режимов исчерпаны. Назначена терапия ибрутинибом (Имбрувика, “Janssen”, Швейцария) в дозе 420 мг в сутки (3 капсулы по 140 мг) под контролем гемограммы [7]. Данная терапия начата с октября 2015 г. В ходе динамического наблюдения за больным отмечены уменьшение в размерах всех групп периферических лимфатических узлов (сохраняются только шейные лимфатические узлы до 1 см в диаметре), сокращение абдоминальных лимфатических узлов; печень и селезенка нормального размера.

Изменения в анализах крови на фоне приема ибрутиниба представлены в таблице.

На фоне лечения ибрутинибом в течение 1 года отмечается постепенное снижение концентрации лейкоцитов до нормальных показателей, сохраняются лимфоцитоз и анемия легкой степени. Транзиторный лимфоцитоз является частым эффектом на фоне приема ибрутиниба и не ограничивает продолжение терапии [8].

В течение 12 мес наблюдения за пациентом на фоне приема ибрутиниба отмечались неоднократные обострения хронической инфекции верхних дыхательных путей и мочевыделительной системы, которые не требовали отмены препарата или редукции дозы. Признаки гематологической токсичности не наблюдались.

Таким образом, ибрутиниб показал высокую эффективность при лечении рефрактерного ХЛЛ, достижение быстрого ответа, хорошую переносимость и низкую степень токсичности.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Савченко В.Г., ред. Программное лечение заболеваний системы крови: Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. М.: Практика; 2012.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Byrd J., Furman R.R., Coutre S.E., Flinn I.W., Burger J.A., Blum K.A., et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369(1): 32–42. doi: 10.1056/NEJMoa1215637.
- Kil L.P., de Bruijn M.J., van Hulst J.A., Langerak A.W., Yuvaraj S., Hendriks R.W. Bruton's tyrosine kinase mediated signaling enhances leukemogenesis in a mouse model for chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Blood Res.* 2013; 3(1): 71–83.
- Cheson B.D., Byrd J.C., Rai K.R., Kay N.E., O'Brien S.M., Flinn I.W., et al. Novel targeted agents and the need to refine clinical end points in chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30(23): 2820–2. doi: 10.1200/JCO.2012.43.3748.
- Byrd J.C., Furman R.R., Coutre S.E., Burger J.A., Blum K.A., Coleman M., et al. Three-year follow-up of treatment-naïve and previously treated patients with CLL and SLL receiving single-agent ibrutinib. *Blood.* 2015; 125(16): 2497–506. doi: 10.1182/blood-2014-10-606038.
- Byrd J.C., Brown J.R., O'Brien S., Barrios J.C., Kay N.E., Reddy N.M., et al. RESONATE Investigators. Ibrutinib versus Ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(3): 213–23. doi: 10.1056/NEJMoa1400376.
- Savchenko V. G., ed. Programs of treatment of diseases of the blood system: the Collection of diagnostic algorithms and protocols for the treatment of diseases of the blood system. Moscow: Practice; 2012. (in Russian)
- Imbruvica™ summary of product characteristics. Janssen-Cilag International NV. 2014. Instructions for use of the drug for medical use, Imbruvica. 11. Access 06.2016. Available: http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=18e07787-d116-4d56-9583-82c26fe9993&T=
- Chavez J., Sahakian E., Pinilla-Ibarz J. Ibrutinib: an evidence-based review of its potential in the treatment of advanced chronic lymphocytic leukemia. *Core Evid.* 2013; 8: 37–45. doi: 10.2147/CE.S34068.

Поступила 12.10.16

Принята к печати 22.11.16