

ГЕМАТОЛОГИЯ и ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

3' 2017

КВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В ЯНВАРЕ 1956 ГОДА

ИЮЛЬ—СЕНТЯБРЬ ТОМ 62

Учредитель журнала ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва

ПОЧТОВЫЙ АДРЕС РЕДАКЦИИ:

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

ТЕЛЕФОН РЕДАКЦИИ:

+7 495 150 07 47

E-mail: RBelGT@yandex.ru

Зав. редакцией **М. Ю. Белоусова**

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел./факс +7 495 150 07 47, доб 101

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

Редактор **Л. И. Федяева**

Корректор **В. С. Смирнова**

Графика и верстка
С. М. Мешкорудникова

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

E-mail: oao-meditsina@mail.ru

WWW страница: www.medlit.ru

ЛР № 010215 от 29.04.97 г.

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

Каталог АО "Роспечать": Индекс 71426
Объединенный каталог "Пресса России":
Индекс 41284

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

Подписка на электронную версию
журнала: elibrary.ru

ISSN 0234-5730 (Print).
ISSN 2411-3042 (Online).
Гематология и трансфузиология. 2017.
Т. 62. № 3, 113–168.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор журнала

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

Заместитель главного редактора

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

Ответственный секретарь (трансфузиология), научный редактор

ГАЛСТЯН Геннадий Мартинович, доктор мед. наук

Ответственный секретарь (гематология)

ТРОИЦКАЯ Вера Витальевна, кандидат мед. наук

ЧЛЕНЫ РЕДКОЛЛЕГИИ:

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

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

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

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

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

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



GEMATOLOGIYA i TRANSFUZIOLOGIYA

3' 2017

FREQUENCY 4 ISSUES PER YEAR

HEMATOLOGY AND TRANSFUSIOLOGY. RUSSIAN JOURNAL

FOUNDED IN 1956

JULY—SEPTEMBER VOL. 62

Founder of the Journal Hematology Research Center, Moscow, Russia

EDITORIAL BOARD:

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

Deputy Editor

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

Executive Editor of Transfusiology

Scientific Editor

Galstyan Gennady M., MD, PhD, DSc

Executive Editor of Haematology

Troitskaya Vera V., MD, PhD

Editorial Board:

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

Advisory Board

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

International Advisory Board

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

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

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

© Meditsina Publishers, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Коробова А.Г., Клясова Г.А., Охмат В.А., Кравченко С.К., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Колонизация слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией β -лактамаз расширенного спектра при лечении острых миелоидных лейкозов и лимфом. **116-123**
- Скворцова Ю.В., Папуша Л.И., Руднева А.Е., Воронин К.А., Скоробогатова Е.В., Масчан А.А. Патология репродуктивной системы после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у детей: опыт Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дм. Рогачева Минздрава России. **124-134**
- Рычкова Л.В., Большакова С.Е., Гомелля М.В., Баирова Т.А., Бердина О.Н., Бугун О.В. Факторы, ассоциированные с наличием протромботических изменений в системе гемостаза у подростков с эссенциальной артериальной гипертензией. **134-140**
- Юрова Е.В., Семочкин С.В. Множественная миелома, осложненная сопутствующей кардиологической патологией. **140-146**
- Кутявина С.С., Логинова М.А., Черанев В.В., Парамонов И.В., Зарубин М.В., Верёвкина Л.Н. Генетические особенности HLA-аллелей у бурят, проживающих на территории Иркутской области. **147-152**
- Катаева Е.В., Голеньков А.К., Митина Т.А., Клинушкина Е.Ф., Трифонова Е.В., Высоцкая Л.Л., Черных Ю.Б., Чужина Ю.Ю., Когарко И.Н., Когарко Б.С., Марьина С.А., Белоусов К.А., Захаров С.Г. Клинические аспекты определения свободных лёгких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови у больных хроническим лимфолейкозом. **153-157**

ЮБИЛЕЙ

- Валерий Михайлович Погорелов (к 75-летию юбилею) **158**

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

- Меликян А.Л., Егорова Е.К., Калинина М.В., Пустовая Е.И., Колошейнова Т.И., Гилязитдинова Е.А., Суборцева И.Н. Вторичная иммунная тромбоцитопения при первичном иммунодефицитном состоянии во взрослой гематологической практике. **159-163**
- Клясова Г.А., Блохина Е.В., Охмат В.А., Мальчикова А.О., Паровичникова Е.Н. Успешное лечение диссеминированного инвазивного микоза, вызванного *Saprochaete capitata*, у больного острым лимфобластным лейкозом **164-168**

CONTENTS

ORIGINAL PAPERS

- Korobova A.G., Klyasova G.A., Okhmat V.A., Kravchenko S.K., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Intestinal colonization with extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae in patients with acute myeloid leukaemia and lymphoma
- Skvortsova Yu.V., Papusha L.I., Rudneva A.E., Voronin K.A., Skorobogatova E.V., Maschan A.A. Pathology of the reproductive system after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children: a single center experience
- Rychkova L.V., Bolshakova S.E., Gomellya M.V., Bairova T.A., Berdina O.N., Bugun O.V. Factors associated with prothrombotic changes in adolescents with essential hypertension
- Yurova E.V., Semochkin S.V. Multiple myeloma complicated by concomitant cardiac pathology
- Kutyavina S.S., Loginova M.A., Cheranov V.V., Paramonov I.V., Zarubin M.V., Verevkin L.N. HLA alleles in Buryats living in the Irkutsk region
- Kataeva E.V., Golenkov A.K., Mitina T.A., Klinushkina E.F., Trifonova E.V., Vysotskaya L.L., Chernykh Yu.B., Chukina Yu.Yu., Kogarko I.N., Kogarko B.S., Maryina S.A., Belousov K.A., Zakharov S.G. Clinical aspects of serum-free immunoglobulin light chains detection in patients with chronic lymphocytic leukemia

ANNIVERSARIES

- Valery Mikhailovich Pogorelov (on the 75th anniversary)

CASE REPORT

- Melikyan A.L., Egorova E.K., Kalinina M.V., Pustovaya E.I., Kolosheynova T.I., Gilyazitdinova E.A., Subortseva I.N. Secondary immune thrombocytopenia in the primary immunodeficiency disorder in adult hematological practice
- Klyasova G.A., Blokhina E.V., Okhmat V.A., Malchikova A.O., Parovichnikova E.N. Successful treatment of disseminated invasive mycosis caused by *Saprochaete capitata* in acute lymphoblastic leukemia patient

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

Журнал "Гематология и трансфузиология" входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёных 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 616.155.392.08-036.11-085-06:616.34-008.87

Коробова А.Г., Клясова Г.А., Охмат В.А., Кравченко С.К., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г.

КОЛОНИЗАЦИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА ЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ С ПРОДУКЦИЕЙ β -ЛАКТАМАЗ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ И ЛИМФОМ

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

Цель исследования – изучить частоту и факторы риска колонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией β -лактамаз расширенного спектра (БЛРС) при лечении острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) и лимфом.

Материал и методы. В проспективное исследование (2013–2014 гг.) были включены 98 больных (медиана возраста 43 года), из них 33 больных ОМЛ, 65 больных лимфомами. Период наблюдения составил 6 мес. Мазки со слизистой оболочки прямой кишки брали в первые 2 дня госпитализации, далее каждые 7 дней. Детекцию БЛРС проводили фенотипическими методами, генов резистентности *bla*_{TEM} и *bla*_{CTX-M} – методом ПЦР.

Результаты. Всего было выделено 88 БЛРС-положительных энтеробактерий у 75 (76,5%) больных. Гены *bla*_{CTX-M} были у 69% изолятов, *bla*_{TEM} у 49%, оба гена у 36%. Вероятность колонизации кишечника продуцентами БЛРС у больных лимфомами составила 91%, ОМЛ – 84%. Вероятность сохранения колонизации продуцентами БЛРС составила 30,3%. У 13 (39%) из 33 больных вновь возникла колонизация БЛРС-положительными энтеробактериями с медианой в 37 дней. Вероятность возврата колонизации продуцентами БЛРС составила 49,4%. Значимыми факторами риска колонизации слизистой оболочки кишечника БЛРС-положительными бактериями были применение парентерального питания ($p = 0,05$) и непрерывное пребывание в стационаре ($p = 0,002$). Медиана непрерывного пребывания этих больных в стационаре составила 70 дней (разброс 64–180 дней). Частота бактериемии, обусловленной продуцентами БЛРС, составила 7% (у 5 из 75) у больных с колонизацией кишечника данными микроорганизмами, и не было ни одного случая у больных без колонизации. Таким образом, больные ОМЛ и лимфомами имели высокую вероятность колонизации слизистой оболочки кишечника БЛРС-положительными энтеробактериями. В течение 6 мес детекция БЛРС не была постоянной у всех больных. Колонизацию БЛРС-положительными бактериями необходимо учитывать при профилактике и выборе антибиотика у больных с фебрильной нейтропенией.

Ключевые слова: мониторинг; колонизация; β -лактамазы расширенного спектра; БЛРС; Enterobacteriaceae; CTX-M; TEM; острые лейкозы; лимфомы.

Для цитирования: Коробова А.Г., Клясова Г.А., Охмат В.А., Кравченко С.К., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Колонизация слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией β -лактамаз расширенного спектра при лечении острых миелоидных лейкозов и лимфом. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(3): 116–123. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-116-123>

Korobova A.G., Klyasova G.A., Okhmat V.A., Kravchenko S.K., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G.

INTESTINAL COLONIZATION WITH EXTENDED-SPECTRUM β -LACTAMASE PRODUCING ENTEROBACTERIACEAE IN PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKAEMIA AND LYMPHOMA

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

The aim of this study was to determine the prevalence and risk factors of intestinal colonization with extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae (ESBL-E) in patients with acute myeloid leukaemia (AML) and lymphoma.

Material and methods. 98 patients (median age of 43 years; 33 – AML, 65 – lymphoma) were included in the prospective study. Follow-up period was lasted for 6 months. Rectal swabs were collected within 2 days of admission and every 7 days further. Presence of ESBL was confirmed by phenotypic tests, genes *bla*_{TEM} and *bla*_{CTX-M} were detected by PCR. A total of 88 ESBL-E were isolated in 75 (76.5%) patients.

Results. Genes *bla*_{CTX-M} were detected in 69% of isolates, *bla*_{TEM} – in 49%, both genes – in 36%. Probability of intestinal colonization with ESBL-E was 91% in patients with lymphoma and 84% – in AML. Probability of persistent ESBL-E carriage was 30.3%. Recurrence of ESBL-E carriage was in 13 (39%) of 33 patients with a median of 37 days. Probability of recurrent ESBL-E colonization was 49.4%. Risk factors for ESBL-E carriage proved to be parenteral nutrition ($p = 0.05$) and permanent hospital stay ($p = 0.002$). The median of permanent hospital stay in these patients was 70 days (64–180 days). The rate of ESBL-E bacteremia in patients colonized with subsequent microorganisms was 7% (5/75). No bacteremia cases were in patients without colonization. Patients with AML and lymphoma underwent chemotherapy had a high risk of ESBL-E intestinal colonization. The presence of ESBL carriage was not permanent in all patients for 6 months. ESBL colonization should be considered in choosing antibiotics for prophylaxis and empirical approaches in patients with febrile neutropenia.

Key words: colonization; extended-spectrum beta-lactamase; ESBL; Enterobacteriaceae; CTX-M; TEM; acute leukemia; lymphoma.

For citation: Korobova A.G., Klyasova G.A., Okhmat V.A., Kravchenko S.K., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Intestinal colonization with extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae in patients with acute myeloid leukaemia and lymphoma. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(3): 116–123. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-116-123>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Received 19 September 2017

Accepted 20 October 2017

В спектре возбудителей инфекционных осложнений у больных гемобластозами в настоящее время отмечается увеличение доли грамотрицательных микроорганизмов и частоты детекции полирезистентных бактерий, среди которых ведущими являются энтеробактерии с продукцией β -лактамаз расширенного спектра (БЛРС). В России по результатам многоцентрового исследования, проведенного в 2003–2009 гг., продукция БЛРС определялась у 41% изолятов *Enterobacteriaceae*, выделенных из гемокультуры у больных опухолями системы крови [1].

Продукция БЛРС является одним из наиболее распространенных механизмов резистентности у энтеробактерий. Ферменты БЛРС отвечают за гидролиз таких β -лактамов антибиотиков, как цефалоспорины III–IV поколений, которые длительное время составляли основу лечения инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями. Выделяют несколько типов БЛРС, среди которых преобладают СТХ-М, TEM, SHV. В настоящее время во всех странах мира, включая Россию, получили широкое распространение ферменты СТХ-М-типа [2, 3].

В развитии инфекционных осложнений у больных гемобластомами преобладает эндогенный путь инфицирования, при котором транслокация микроорганизмов со слизистой оболочки кишечника происходит в кровоток [4]. В этой связи больным проводится селективная деконтаминация кишечника, препаратом выбора является фторхинолон (ципрофлоксацин, офлоксацин) [5]. Однако у больных с колонизацией слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС такая профилактика будет недействительной, поскольку клинически подтвержденную эффективность в отношении продуцентов БЛРС проявляют лишь карбапенемы.

Факторами риска колонизации слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС являются длительное пребывание в стационаре или в отделении реанимации, выполнение инвазивных медицинских манипуляций, применение антибиотиков, преклонный возраст [6–8]. Как правило, у больных гемобластомами в период проведения химиотерапии (ХТ) присутствует сразу несколько факторов риска, индуцирующих колонизацию слизистой оболочки кишечника БЛРС-положительными бактериями.

Цель нашего исследования – изучение частоты выявления и факторов риска колонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и лимфомами в процессе реализации курсов ХТ.

Материал и методы

Исследование было проведено с апреля 2013 г. по ноябрь 2014 г. в ФГБУ «Гематологический научный центр» (ныне «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии») – НИИЦ гематологии) Минздрава России и включало

Для корреспонденции:

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

For correspondence:

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

Information about authors:

Korobova A.G., <http://orcid.org/0000-0002-6268-5282>, ResearcherID: M-6469-2014; Klyasova G.A., <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>, ResearcherID: M-6329-2014; Okhmat V.A., <http://orcid.org/0000-0002-6195-4508>, ResearcherID: M-7089-2014; Kravchenko S.K., <http://orcid.org/0000-0002-6778-997X>; Parovichnikova E.N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>; Savchenko V.G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>.

больных ОМЛ и лимфомами с впервые установленными диагнозами или с рецидивом. Наблюдение за больными проводили в течение 6 мес. У всех больных брали мазки со слизистой оболочки прямой кишки в течение первых 2 дней госпитализации в НИИЦ гематологии, далее каждые 7 ± 2 дня во время пребывания больного в стационаре и при очередной госпитализации. Колонизацией энтеробактериями с продукцией БЛРС считали хотя бы однократное выделение продуцентов БЛРС в мазках со слизистой оболочки кишечника. Полагали, что произошла элиминация БЛРС-положительных бактерий со слизистой оболочки кишечника, если данные микроорганизмы не определяли в трех последовательно взятых мазках.

Для выявления энтеробактерий с продукцией БЛРС мазки помещали на хромогенную селективную среду CHROMagar™ESBL («CHROMagar», Франция), предназначенную для прямого выделения БЛРС-положительных бактерий, затем инкубировали в термостате при температуре 36°C в течение 18–24 ч. Идентификацию микроорганизмов проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF-MS) на анализаторе Microflex («Bruker Daltonics», Германия). Продукцию БЛРС у энтеробактерий, полученных на хромогенной селективной среде CHROMagar™ESBL, подтверждали методом «двойных дисков» и дополнительно путем сравнения минимальной подавляющей концентрации цефалоспоринов III поколения (цефотаксима и цефтазидима) и их комбинаций с клавулановой кислотой [9, 10]. Для внутреннего контроля качества использовали референтные штаммы *Escherichia coli* ATCC®25922 и *Klebsiella pneumoniae* ATCC®700603.

Наличие генов резистентности *bla*_{TEM} и *bla*_{CTX-M}, кодирующих наиболее распространенные типы β -лактамаз, определяли методом ПЦР в режиме реального времени. Для этого использовали наборы реагентов для выявления генов TEM и CTX-M («Литех», Россия).

На этапе планирования исследования был разработан информационный протокол для сбора информации о больных. Обработку и анализ данных осуществляли с помощью процедур статистического пакета SAS v9.13 и программы Statistica. В работе использовали методы описательной статистики, частотного и событийного анализа. 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, OR). Оценку распределения времени появления колонизации в процессе реализации ХТ проводили по методике Каплана–Майера. Оценку статистической значимости различий проводили с помощью критерия Log-rank. Статистически значимыми считали различия при степени вероятности безошибочного прогноза 95% ($p \leq 0,05$). Событийный анализ для выявления вероятности колонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС был проведен у всех пациентов, включенных в исследование, а частотный анализ по определению факторов риска колонизации выполняли только у больных, получивших 2 и 4 курса ХТ.

Результаты

В исследование были включены 98 пациентов, из них 33 (34%) больных ОМЛ и 65 (66%) больных лимфомами. Гемобластоз был впервые диагностирован у 94 (96%) больных, а 4 (4%) больных (1 ОМЛ и 3 лимфомами) были госпитализированы с рецидивом заболевания, возникшим через 1 год и позже после констатации ремиссии. Характеристика пациентов в течение 6 мес наблюдения представлена в табл. 1. Медиана возраста больных составила 43 года (разброс от 17 до 83 лет). Больные лимфомами были статистически значимо старше больных ОМЛ (медиана возраста 47 лет против 35 лет, $p = 0,01$).

ХТ была проведена у 91 (93%) больного. Курсы ХТ не проводили 7 больным, из них у 4 по причине отказа от лечения, а у 3 в связи с летальным исходом. За 6 мес наблюдения 74% больных ОМЛ было выполнено 3 курса ХТ, а 87% больных лимфомами – от 4 до 8 курсов ХТ. У больных ОМЛ основными были курсы ХТ по программе «7+3» (94%), у больных лимфомами – «блоковая терапия» по протоколу NHL-BFM-90 или mNHL-BFM-90 (48%) и EPOCH (37%) [11].

Таблица 1

Характеристика больных ОМЛ и лимфомами, включенных в исследование в течение 6 мес наблюдения

Параметр	ОМЛ	Лимфома	Всего
Число больных при поступлении	33	65	98
Соотношение мужчин и женщин	12:21	30:35	42:56
Возраст, медиана (диапазон), годы	35 (17–83)	47 (18–76)	43 (17–83)
Число больных, имевших колонизацию энтеробактериями с продукцией БЛРС, при первой госпитализации в центр	8 (24%)	18 (28%)	26 (27%)
Число больных, получивших 1-й курс ХТ	31	60	91
Число больных, выбывших из исследования до 1-го курса ХТ	2	5	7
Причины выбывания из исследования:			
отказ от лечения	1	3	4
летальный исход	1	2	3
Схемы ХТ:			
«7+3»	29 (94%)	–	–
блоковая терапия (NHL-BFM-90, mNHL-BFM-90)	–	29 (48%)	–
ЕPOCH, R-EPOCH, R-Da-EPOCH	–	22 (37%)	–
СНОР и R-СНОР	–	8 (13%)	–
другие курсы ХТ	2 (6%)	1 (2%)	–
Число больных, получивших 2-й курс ХТ	25	55	80
Число больных, выбывших из исследования до 2-го курса ХТ	6	5	11
Причины выбывания из исследования:			
отказ от лечения	1	2	3
летальный исход	5	3	8
Медиана наблюдения за больными, дни	37 (23–69)	21 (19–29)	–
Число больных, получивших 3-й курс ХТ	23	54	77
Число больных, выбывших из исследования до 3-го курса ХТ	2	1	3
Причины выбывания из исследования:			
летальный исход	1	1	2
завершено наблюдение	1		1
Медиана наблюдения за больными, дни	76 (61–126)	45 (38–62)	–
Число больных, получивших 4-й курс ХТ	16	52	68
Число больных, выбывших из исследования до 4-го курса ХТ	7	2	9
Причины выбывания из исследования:			
отказ от лечения	1	1	2
летальный исход	1	1	2
завершены курсы ХТ	5*		5
Медиана наблюдения за больными, дни	123(104–184)	68 (59–118)	–
Число больных, получивших 5-й курс ХТ	1	46	47
Число больных, выбывших из исследования до 5-го курса ХТ	15	6	21
Причины выбывания из исследования:			
завершено наблюдение	15		21
завершены курсы ХТ		6	
Медиана наблюдения за больными, дни	175	87 (76–175)	–
Число больных, получивших 6-й курс ХТ	0	41	41
Число больных, выбывших из исследования до 6-го курса ХТ	1	5	6
Причины выбывания из исследования:			
завершено наблюдение	1		6
завершены курсы ХТ		5	
Медиана наблюдения за больными, дни	–	109 (100–164)	–
Число больных, получивших 7-й курс ХТ	0	13	13
Число больных, выбывших из исследования до 7-го курса ХТ	–	28	28
Причины выбывания из исследования:			
завершены курсы ХТ	–	28	28
Медиана наблюдения за больными, дни	–	138 (124–166)	–

Примечание. * – проведена трансплантация стволовых гемопоэтических клеток.

Таблица 2

Тип β-лактамаз у энтеробактерий с продукцией БЛРС, выделенных со слизистой оболочки кишечника у больных ОМЛ и лимфомами, в течение 6 мес наблюдения

Гены β-лактамаз	Энтеробактерии с продукцией БЛРС							
	<i>E. coli</i> (n = 52)		<i>K. pneumoniae</i> (n = 21)		другие* (n = 15)		всего (n = 88)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
TEM	6	12	4	19	1	7	11	13
CTX-M	19	37	4	19	6	40	29	33
CTX-M+TEM	18	35	9	43	5	33	32	36
Всего TEM	24	46	13	62	6	40	43	49
Всего CTX-M	37	71	13	62	11	73	61	69
Не выявлены CTX-M и TEM	9	17	4	19	3	20	16	18

Примечание. * – *Citrobacter* spp. (n = 6), *Enterobacter* spp. (n = 4), *K. oxytoca* (n = 4), *R. ornithinolytica* (n = 1).

За период наблюдения энтеробактерии – продуценты БЛРС были выявлены у 75 (76,5%) из 98 больных. Из них у 62 (83%) БЛРС-положительные бактерии были представлены одним видом, а у 13 (17%) – сочетанием двух видов продуцентов БЛРС. Всего было выделено 88 изолятов энтеробактерий с продукцией БЛРС. Ведущими микроорганизмами были *E. coli* (59%), далее следовали *K. pneumoniae* (24%), реже выявляли *Citrobacter* spp. (7%), *Enterobacter* spp. (4,5%), *Klebsiella oxytoca* (4,5%) и *Raoultella ornithinolytica* (1%). Видовое разнообразие было идентичным у больных ОМЛ и лимфомами.

У всех изолятов энтеробактерий с продукцией БЛРС было проведено определение генов *bla*_{CTX-M} и *bla*_{TEM}. Наличие хотя бы одного из исследуемых генов отмечалось у 72 (82%) из 88 изолятов, сочетания генов – у 36% изолятов (табл. 2). Гены *bla*_{CTX-M} преобладали и были выявлены у 69% изолятов. Преобладание CTX-M типа БЛРС отмечалось у изолятов *E. coli* (71%), в то время как у изолятов *K. pneumoniae* с одинаковой частотой (62%) обнаруживали как CTX-M-тип, так и TEM. β-лактамазы типа CTX-M определяли у изолятов *E. coli* в сопоставимых долях в изолированном виде (37%) и в сочетании с TEM (35%), тогда как у *K. pneumoniae* преобладало сочетание генов (43% против 19%). Исследуемые гены не были определены у 18% изолятов, с одинаковой частотой у *E. coli* (17%) и *K. pneumoniae* (19%).

Вероятность колонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС у больных ОМЛ и лимфомами в процессе реализации ХТ за 6 мес наблюдения представлена на рис. 1. За анализируемый период вероятность колонизации в группе больных лимфомами составила 91%, а в группе больных ОМЛ – 84%. Медиана детекции колонизации продуцентами БЛРС у больных лимфомами – 25 дней (разброс от 7 до 175 дней), а ОМЛ – 68 дней (разброс от 5 до 163 дней) ($p = 0,23$). Основная часть «новых» случаев колонизации БЛРС-положительными бактериями была выявлена до 96-го дня наблюдения, в более поздний период только у 5 больных.

При проведении курсов ХТ было отмечено возрастание доли больных с колонизацией слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС (рис. 2). Уже при первой госпитализации в клинику нашего центра БЛРС-положительные бактерии со слизистой оболочки кишечника были выявлены у 26 (27%) из 98 больных. Детекция продуцентов БЛРС возросла у больных ОМЛ с 24% при поступлении до 81% к 4-му курсу ХТ, а у больных лимфомами – с 28 до 69% соответственно. Значимый прирост

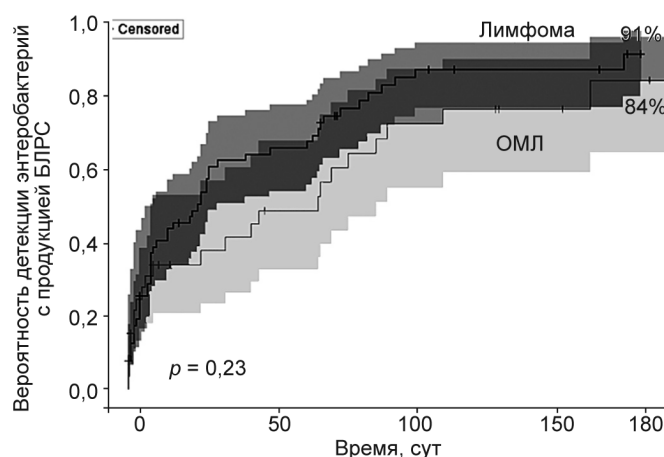


Рис. 1. Вероятность детекции энтеробактерий с продукцией БЛРС в процессе мониторинга у больных ОМЛ и лимфомами в течение 6 мес наблюдения.

колонизации энтеробактериями с продукцией БЛРС у больных лимфомами с 28 до 51% был отмечен к моменту проведения 2-го курса ХТ ($p = 0,009$), а у больных ОМЛ с 40 до 70% – к 3-му курсу ХТ ($p = 0,04$).

В течение 6 мес наблюдения у 33 (44%) из 75 больных, имевших колонизацию слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС, была отмечена элиминация продуцентов БЛРС с медианой в 20 дней (разброс от 5 до 133 дней). Вероятность сохранения энтеробактерий с продукцией БЛРС на слизистой оболочке прямой кишки в течение 6 мес равнялась 30,3%, причем у больных лимфомами этот показатель был выше, чем у больных ОМЛ (53,4% против 15,7%) (рис. 3). Основная часть случаев элиминации продуцентов БЛРС со слизистой оболочки кишечника у больных лимфомами наблюдалась в течение первых 2 мес после их детекции, а далее этот показатель выходил на плато, в то время как у больных ОМЛ отмечалось постепенное уменьшение колонизации продуцентами БЛРС в течение всего периода наблюдения (6 мес). У 13 (39%) из 33 больных была возобновлена детекция энтеробактерий с продукцией БЛРС со слизистой оболочки кишечника с медианой в 37 дней (разброс от 14 до 90 дней). Вероятность реколонизации БЛРС-положительными бактериями составила 49,4%, и этот показатель был ниже у больных ОМЛ в сравнении с больными лимфомами (36,5% против 57,2%) (рис. 4).

Далее были изучены факторы риска колонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с про-

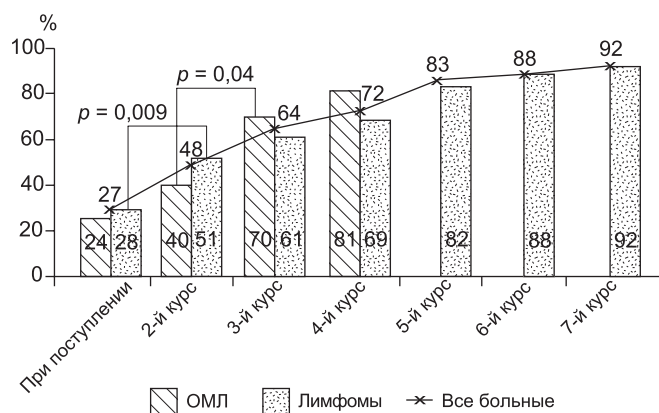


Рис. 2. Динамика детекции энтеробактерий с продукцией БЛРС на курсах ХТ в течение 6 мес наблюдения.

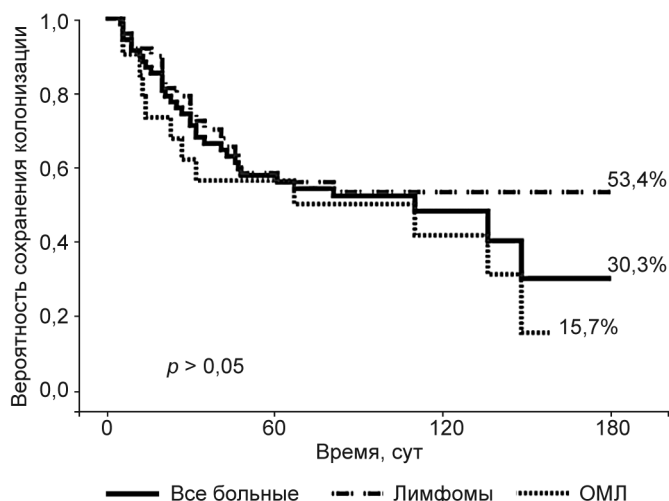


Рис. 3. Вероятность сохранения колонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС у больных ОМЛ и лимфомами в течение 6 мес наблюдения.

дукцией БЛРС (табл. 3). У каждого больного в процессе проведения курсов ХТ был в наличии хотя бы один фактор. Частота регистрации более 50% была отмечена для таких факторов, как установка центрального венозного катетера (ЦВК) (85%), применение антибиотиков (84%), гранулоцитопения (84%). У больных ОМЛ в сравнении с больными лимфомами значимо чаще регистрировали гранулоцитопению (97% против 75%, $p = 0,008$), преобладало применение антибиотиков (100% против 75%, $p = 0,002$) и пребывание в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) (55% против 28% соответственно, $p = 0,009$). При событийном анализе не было обнаружено факторов, статистически значимо влияющих на время детекции энтеробактерий с продукцией БЛРС у больных ОМЛ и лимфомами.

Факторы риска, индуцирующие колонизацию слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС, были изучены перед 2-м и 4-м курсами ХТ. Из анализа были исключены больные с детекцией продуцентов БЛРС при поступлении в стационар. Частотный анализ факторов риска, зарегистрированных от дня первой госпитализации в наш центр и до проведения 2-го курса ХТ, был выполнен у 59 пациентов (17 больных ОМЛ и 42 больных лимфомами), из них у 17 (29%) имелась ко-

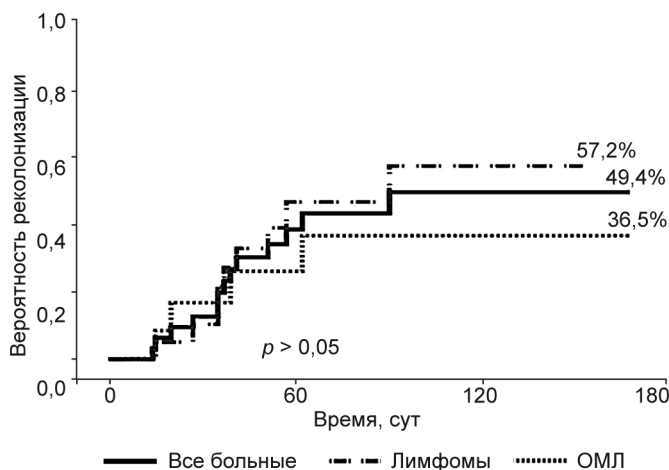


Рис. 4. Вероятность реколонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС у больных ОМЛ и лимфомами после их элиминации в течение 6 мес наблюдения.

Таблица 3

Факторы риска, индуцирующие колонизацию слизистой оболочки прямой кишки энтеробактериями с продукцией БЛРС, у больных ОМЛ и лимфомами в течение 6 мес наблюдения

Фактор риска	Всего, $n = 98$		ОМЛ, $n = 33$		Лимфома, $n = 65$		p
	n	%	n	%	n	%	
Возраст старше 50 лет	34	35	7	21	27	42	0,05
Сопутствующие заболевания	40	41	9	27	31	47	0,05
Наличие ЦВК	83	85	31	94	52	80	0,07
Наличие гранулоцитопении	82	84	32	97	49	75	0,008
Применение антибиотиков	82	84	33	100	49	75	0,002
Диарея	39	40	9	27	30	46	0,07
Пребывание в ОРИТ	36	37	18	55	18	28	0,009
Абдоминальные операции	5	5	2	6	3	5	0,76
Парентеральное питание	5	5	1	3	4	6	0,51

лонизация слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС (табл. 4). Перед 2-м курсом ХТ колонизация определялась чаще у больных лимфомами (26%), чем у больных ОМЛ (8%; $p = 0,066$). Энтеробактерии с продукцией БЛРС были обнаружены у всех больных, которым проводили парентеральное питание (100% против 25%; $p = 0,05$), хотя количество таких пациентов было невелико ($n = 3$). Перевод больного в ОРИТ не относился к значимым факторам риска колонизации слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС, однако медиана длительности пребывания в реанимации была продолжительнее у больных с колонизацией этими бактериями в сравнении с больными без колонизации (32 дня против 5 дней; $p = 0,07$). Статистически значимых различий по факторам риска у больных ОМЛ и у больных лимфомами за анализируемый период не выявлено.

Частотный анализ факторов риска колонизации БЛРС-положительными бактериями, зарегистрированных от дня первой госпитализации в НИИ гематологии и до проведения 4-го курса ХТ, был выполнен у 51 больного (у 11 больных ОМЛ и у 40 больных лимфомами), из них у 32 (63%) определялась колонизация слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС (табл. 5). Значимым фактором риска, оказавшим влияние на детекцию продуцентов БЛРС, было непрерывное пребывание больных в стационаре до 4-го курса ХТ. Детекция БЛРС-положительных бактерий со слизистой оболочки прямой кишки наблюдалась у всех больных, находившихся постоянно в стационаре к моменту проведения 4-го курса ХТ, и только у половины, наблюдавшихся амбулаторно в перерывах между курсами ХТ (100% против 51%; ОШ 2,85; $p = 0,002$). Медиана непрерывного пребывания в стационаре у этой когорты больных составила 70 дней (64–180 дней). При анализе факторов риска колонизации энтеробактериями с продукцией БЛРС по нозологическим формам было определено, что у больных лимфомами значимым был тот же показатель, что и в общей группе больных, – это непрерывное пребывание в стационаре (100% против 48%; $p = 0,005$). Медиана непрерывного пребывания в стационаре у больных лимфомами составила 66 дней (64–81 дней). У больных ОМЛ не выявлено значимых факторов риска, влияющих на детекцию продуцентов БЛРС.

Таблица 4

Факторы риска колонизации слизистой оболочки прямой кишки энтеробактериями с продукцией БЛРС, регистрируемые от первой госпитализации в НМИЦ гематологии до проведения 2-го курса ХТ, у больных ОМЛ и лимфомами

Фактор риска	Колонизация энтеробактериями с продукцией БЛРС в зависимости от анализируемого фактора		ОШ (95% ДИ)	p
	есть фактор	нет фактора		
Диагноз «лимфома»	15 (36%) из 42	2 (12%) из 17	4,1 (0,84–20,74)	0,066
Возраст 50 лет и старше	3 (19%) из 16	14 (33%) из 43	0,48 (0,12–1,95)	0,3
Наличие ЦВК	9 (26%) из 35	8 (33%) из 24	0,69 (0,22–2,16)	0,52
Наличие гранулоцитопении	13 (28%) из 46	4 (31%) из 13	0,89 (0,23–3,39)	0,86
Применение антибиотиков	13 (30%) из 44	4 (27%) из 15	1,15 (0,31–4,29)	0,83
Диарея	6 (43%) из 14	11 (24%) из 45	2,3 (0,66–8,16)	0,18
Пребывание в ОРИТ	2 (20%) из 10	15 (31%) из 49	0,57 (0,11–2,99)	0,49
Парентеральное питание	3 (100%) из 3	14 (25%) из 56	–	0,05
Непрерывное пребывание в стационаре	5 (25%) из 20	12 (31%) из 39	0,75 (0,22–2,54)	0,64

У 14 (14%) из 98 больных в течение 6 мес развилась бактериемия, вызванная энтеробактериями. Частота бактериемии, обусловленной БЛРС-положительными бактериями, составила 7% (5 из 75) у больных с колонизацией слизистой оболочки кишечника этими микроорганизмами, при этом не было выявлено ни одного случая у больных без колонизации этими бактериями (0 из 23; $p = 0,2$).

Обсуждение

Наше исследование продемонстрировало высокую вероятность колонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС у больных гемобластомами в период реализации ХТ в течение 6 мес наблюдения, которая составила 91% у больных лимфомами и 84% у больных ОМЛ, причем у 27% больных колонизацию регистрировали уже при первом поступлении в стационар. В процессе реализации курсов ХТ нами было отмечено значимое увеличение доли больных с колонизацией слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС перед 4-м курсом ХТ – у больных ОМЛ с 24 до 81% ($p = 0,0002$) и у больных лимфомами с 28 до 69% ($p < 0,0001$). По данным литературы, детекция БЛРС-положительных бактерий является вариативной, однако наблюдается регистрация продуцентов БЛРС среди энтеробактерий при поступлении в стационар и увеличение их количества во время курсов ХТ или пребывания в клинике. По результатам исследования, включавшего гематологических и онкологических больных из университетского медицинского центра в Германии [12], колонизация слизистой оболочки прямой кишки продуцентами БЛРС при поступлении в стационар определялась у 17,5% (90 из 513) больных. В другом исследовании [13] детекция таких микроорганизмов у больных ОМЛ была несколько выше – у 38% (17 из 45) до начала курсов ХТ. По данным еще одного исследования [14], появление колонизации слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС в процессе проведения ХТ было отмечено у 17(27%) из 63

Таблица 5

Факторы риска колонизации слизистой оболочки прямой кишки энтеробактериями с продукцией БЛРС, регистрируемые от первой госпитализации в НМИЦ гематологии до проведения 4-го курса ХТ, у больных ОМЛ и лимфомами

Фактор риска	Колонизация энтеробактериями с продукцией БЛРС в зависимости от анализируемого фактора		ОШ (95% ДИ)	p
	есть фактор	нет фактора		
Диагноз «лимфома»	24 (60%) из 40	8 (73%) из 11	0,56 (0,13–2,45)	0,44
Возраст старше 50 лет	7 (50%) из 14	25 (68%) из 37	0,48 (0,14–1,68)	0,25
Наличие ЦВК	25 (66%) из 38	7 (54%) из 13	1,65 (0,46–5,93)	0,44
Наличие гранулоцитопении	23 (62%) из 37	9 (64%) из 14	0,91 (0,25–3,28)	0,89
Применение антибиотиков	20 (59%) из 34	12 (71%) из 17	0,59 (0,17–2,07)	0,41
Диарея	7 (58%) из 12	25 (64%) из 39	0,78 (0,21–2,94)	0,72
Пребывание в ОРИТ	7 (38%) из 9	25 (59%) из 42	2,38 (0,44–12,87)	0,3
Парентеральное питание	1 из 1	31 (62%) из 50	–	0,43
Непрерывное пребывание в стационаре	12 (100%) из 12	20 (51%) из 39	2,85 (0,67–12,15)	0,002

больных гемобластомами, не имевших эти бактерии при поступлении. Сопоставимые результаты были получены и в другом исследовании [15], в котором зарегистрировали увеличение случаев детекции БЛРС-положительных бактерий у 154 больных гемобластомами с 14,3% при поступлении до 31,8% на момент завершения лечения.

Среди продуцентов БЛРС, выделенных со слизистой оболочки кишечника, преобладали *E. coli* и *K. pneumoniae* с продукцией СТХ-М β-лактамаз (71 и 62% соответственно). Другие исследователи [3] также отметили преобладание генов *bla*_{СТХ-М} у энтеробактерий с продукцией БЛРС, причем частота обнаружения их у изолятов *E. coli* и *K. pneumoniae* была выше и составила 90 и 89% соответственно.

По нашим данным, основная часть случаев колонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС была зарегистрирована до 96-го дня наблюдения, при этом медиана обнаружения продуцентов БЛРС у больных лимфомами составила 25 дней, в то время как у больных ОМЛ – 68 дней. В литературе представлено ограниченное число длительных мониторинговых исследований по временным характеристикам детекции и доли больных с колонизацией слизистой оболочки кишечника БЛРС-положительными микроорганизмами во время госпитализации. По данным разных авторов, среднее время пребывания больных в стационаре до момента детекции колонизации этими бактериями составляло от 11 до 67 дней [16]. В исследовании из Израиля продолжительность наблюдения за больными составила только 2 нед, однако колонизация слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС возросла с 8% (у 13 из 167) при поступлении до 33% (у 4 из 12) к 14-му дню госпитализации [17].

За анализируемые 6 мес колонизация слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС была выявлена у 75 больных ОМЛ и лимфомами, однако у 33 (44%) из них в ходе дальнейшего наблюдения отмечалась элиминация этих микроорганизмов. Только у 30,3%

больных колонизация продуцентами БЛРС сохранялась в течение всего анализируемого периода. В других работах изучали длительность колонизации БЛРС-положительными бактериями после их обнаружения. E. Titelman и соавт. [18] отметили, что колонизация сохранялась у 51 (84%) из 61 больного в течение 1 месяца, у 36 (66%) – 3 мес, у 31 (55%) – 6 мес, у 26 (43%) – 12 мес наблюдения. Другие авторы оценивали длительность колонизации БЛРС-положительными бактериями после выписки из стационара. Исследователи доказали, что значительно более продолжительный период колонизации наблюдался у больных, которые продолжали принимать антибиотики после выписки из стационара (154 против 56 дней; $p = 0,04$) [19]. У 13 (39%) из 33 больных в нашем исследовании была отмечена рекolonизация энтеробактериями с продукцией БЛРС. Возобновление детекции БЛРС-положительных бактерий со слизистой оболочки кишечника можно объяснить продолжением воздействия факторов риска, индуцирующих колонизацию слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС, поскольку больным продолжали проводить курсы ХТ.

При частотном анализе факторов риска колонизации слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС, проведенном перед 2-м курсом ХТ, значимой была необходимость парентерального питания. Отсутствие влияния этого фактора перед 4-м курсом ХТ можно объяснить малым количеством больных, получавших парентеральное питание на этом этапе анализа ($n = 1$). Другим значимым фактором риска было непрерывное пребывание больных в стационаре до момента проведения 4-го курса ХТ. Детекция продуцентов БЛРС со слизистой оболочки прямой кишки наблюдалась у всех больных, находившихся постоянно в стационаре к моменту проведения 4-го курса ХТ, и только у половины, наблюдавшихся амбулаторно в перерывах между курсами ХТ (100% против 51%; ОШ 2,85; $p = 0,002$). Значение длительности пребывания больных в стационаре в появлении колонизации слизистой оболочки кишечника БЛРС-положительными бактериями было отмечено и другими исследователями. В исследовании G. Bisson и соавт. [6] длительность госпитализации была значимо больше у больных с колонизацией, чем у больных без колонизации продуцентами БЛРС (23 дня против 8 дней соответственно; $p = 0,01$). В другой работе значимым фактором риска колонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС была длительность пребывания в стационаре более 21 дня ($p < 0,001$) [20].

В работе, опубликованной нами ранее [21], значимыми факторами риска колонизации слизистой оболочки кишечника у больных ОМЛ и лимфомами при поступлении в стационар были возраст больного 50 лет и более и перевод из другого стационара, а у больных ОМЛ значимым было проживание в других регионах, исключая Москву. В данной работе такой показатель как возраст больного не был статистически значимым для колонизации БЛРС-положительными бактериями в процессе реализации ХТ, вероятно, по той причине, что у значительного числа больных старшего возраста (38%) детекция продуцентов БЛРС со слизистой оболочки кишечника уже была определена при первом поступлении в стационар. Многие исследователи отмечают лечение β -лактамами антибиотиками и фторхинолонами как значимый фактор риска, индуцирующий колонизацию продуцентами БЛРС [22]. Мы не выявили существенного значения антибиотиков в колонизации энтеробактериями с продукцией БЛРС. Объяснением этому может быть особенность выбранной когорты пациентов, поскольку данный фактор был доминирующим у всех больных (более 80%).

Также следует отметить, что все случаи бактериемии, вызванной энтеробактериями с продукцией БЛРС, были только у больных с колонизацией слизистой оболочки кишечника идентичными по виду продуцентами БЛРС. Сопоставимые данные были получены в исследовании В. Liss и соавт. [12], в котором энтеробактерии с продукцией БЛРС в образцах кала были определены у 90 (17,5%) из 513 больных гемобластомами и солидными опухолями. Бактериemia, вызванная продуцентами БЛРС, развилась у 6 (6,6%) из 90 больных с колонизацией слизистой оболочки кишечника и только у 2 (0,5%) из 423 больных без колонизации (ОШ 4,5). По результатам другого проспективного исследования [23], проведенного в нашем центре с 2013 по 2015 г., частота бактериемии, вызванной энтеробактериями с продукцией БЛРС, у больных ОМЛ с колонизацией слизистой оболочки кишечника этими микроорганизмами составила 7,5% (5 из 68 случаев), и не было случаев бактериемии, вызванной продуцентами БЛРС, у больных без колонизации этими бактериями (0 из 105 случаев; $p = 0,009$). Эти исследования демонстрируют, что у больных с колонизацией БЛРС-положительными бактериями имеется более высокий риск развития инфекций, вызванных данными бактериями, в сравнении с больными без колонизации. Данный факт был учтен в рекомендациях ECIL-4 (European Conference on Infections in Leukaemia) [24], согласно которым следует принимать во внимание колонизацию слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС у тяжелых больных с фебрильной нейтропенией при выборе антибиотиков для лечения.

У больных ОМЛ и лимфомами имеется высокая вероятность колонизации слизистой оболочки прямой кишки энтеробактериями с продукцией БЛРС, которая возрастает в ходе реализации ХТ, причем у части больных продуценты БЛРС определяются при первой госпитализации. Значимыми факторами риска колонизации слизистой оболочки кишечника БЛРС положительными энтеробактериями были необходимость применения парентерального питания к моменту проведения 2-го курса ХТ и непрерывное пребывание в стационаре – к 4-му курсу ХТ. Детекция продуцентов БЛРС не была постоянной у всех больных в течение 6 мес наблюдения. У одних больных они определялись постоянно, у других происходила их элиминация, у части – наблюдалась рекolonизация через некоторый временной промежуток. Все случаи бактериемии, вызванные энтеробактериями с продукцией БЛРС, возникали у больных, имевших колонизацию слизистой оболочки кишечника этими бактериями.

Таким образом, у всех больных перед назначением им фторхинолона для профилактики необходимо проводить исследование со слизистой оболочки прямой кишки с целью выявления колонизации энтеробактериями с продукцией БЛРС, и профилактическое назначение фторхинолона будет оптимальным только у больных без колонизации продуцентами БЛРС. Факт отсутствия колонизации слизистой оболочки прямой кишки энтеробактериями-продуцентами БЛРС у больных, ранее колонизированных этими микроорганизмами, необходимо подтверждать несколькими последовательными исследованиями. У больных с персистирующей фебрильной нейтропенией и отсутствием микробиологического подтверждения инфекции из значимых локусов следует принимать во внимание колонизацию слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС при модификации противомикробной терапии и включать карбапенемы в режимы лечения.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клясова Г.А. Антимикробная терапия. В кн.: Савченко В.Г., ред. *Программное лечение заболеваний системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови*. М.: Практика; 2012: 827–84.
 3. Прячук С.Д., Фурсова Н.К., Абаев И.В., Ковалев Ю.Н., Шишкова Н.А., Печерских Э.И. и др. Генетические детерминанты устойчивости к антибактериальным средствам в нозокомиальных штаммах *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* и *Enterobacter spp.*, выделенных в России в 2003–2007 гг. *Антибиотики и химиотерапия*. 2010; 55(9–10): 3–10.
 9. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Методические указания МУК 4.21890-04). *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2004; 6: 306–59.
 11. Савченко В.Г., ред. *Программное лечение заболеваний системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови*. М.: Практика; 2012.
 13. Охмат В.А., Коробова А.Г., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Клясова Г.А. Раннее прекращение антимикробной терапии у больных с первичными острыми миелобластными лейкозами до завершения периода гранулоцитопении. *Гематология и трансфузиология*. 2015; 60(3): 4–10.
 21. Клясова Г.А., Коробова А.Г., Фролова И.Н., Охмат В.А., Куликов С.М., Паровичникова Е.Н. и др. Детекция энтеробактерий с продукцией бета-лактамаз расширенного спектра у больных острыми миелоидными лейкозами и лимфомами при поступлении в стационар. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(1): 25–32.
 23. Охмат В.А., Клясова Г.А., Коробова А.Г., Паровичникова Е.Н., Федорова А.В., Троицкая В.В. и др. Следует ли назначать карбапенемы всем больным с фебрильной нейтропенией и колонизацией энтеробактериями с продукцией β-лактамаз расширенного спектра? *Онкогематология*. 2016; 11(3): 49–57.
- Остальные источники литературы см. в References.**
- REFERENCES
1. Klyasova G.A. Antimicrobial therapy. In: Savchenko V.G., ed. *Program treatment of blood system diseases*. Moscow: Praktika; 2012: 829–53. (in Russian)
 2. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004; 48(1): 1–14. DOI: 10.1128/AAC.48.1.1-14.2004. PMID: 14693512.
 3. Pryamchuk S.D., Fursova N.K., Abaev I.V., Kovalev Yu.N., Shishkova N.A., Pecherskikh E.I., et al. Genetic Determinants of Antibacterial Resistance Among Nosocomial *Escherichia coli* *Klebsiella spp.*, and *Enterobacter spp.* Isolates Collected in Russia within 2003–2007. *Antibiotics and chemotherapy. Russian Journal (Antibiotiki i khimioterapiya)*. 2010; 55(9–10): 3–10. (in Russian)
 4. Blijlevens N.M., Donnelly J.P., De Pauw B.E. Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: an overview. *Bone Marrow Transplant*. 2000; 25(12): 1269–78. doi:10.1038/sj.bmt.1702447.
 5. Bucaneve G., Castagnola E., Viscoli C., Leibovici L., Menichetti F. Quinolone prophylaxis for bacterial infections in afebrile high risk neutropenic patients. *EJC Suppl*. 2007; 5(2): 5–12. doi:10.1016/J.EJCSUP.2007.06.002.
 6. Bisson G., Fishman N.O., Patel J.B., Edelstein P. H., Lautenbach E. Extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* and *klebsiella* species: risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary interventions on colonization prevalence. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*. 2002; 23(5): 254–60. doi:10.1086/502045.
 7. Razazi K., Derde L.P., Verachten M., Legrand P., Lesprit P., Brun-Buisson C. Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum β-lactamase-producing bacteria in the intensive care unit. *Intensive Care Med*. 2012; 38(11): 1769–78. doi:10.1007/s00134-012-2675-0.
 8. Wiener J., Quinn J.P., Bradford P.A., Goering R.V., Nathan C., Bush K., et al. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in Nursing Homes. *JAMA*. 1999; 281(6): 517–23. doi:10.1001/jama.281.6.517.
 9. Guidelines for Susceptibility testing of microorganisms to antibacterial agents. *Antimicrob. Agents Chemother. Russian Journal (Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya)*. 2004; 6: 306–59. (in Russian)
 10. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement*. CLSI document M100-S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
 11. Savchenko V.G., ed. *Program treatment of blood system diseases*. Moscow: Praktika; 2012. (in Russian)
 12. Liss B.J., Vehrenschild J.J., Cornely O.A., Hallek M., Fatkenheuer G., Wisplinghoff H., et al. Intestinal colonisation and blood stream infections due to vancomycin-resistant enterococci (VRE) and extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBLE) in patients with haematological and oncological malignancies. *Infection*. 2012; 40(6): 613–9. doi:10.1007/s15010-012-0269-y.
 13. Okhmat V.A., Korobova A.G., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Klyasova G.A. Early discontinuation of antibiotic therapy in neutropenic patients with acute myeloid leukemia. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2015; 60(3): 4–10. (in Russian)
 14. Cornejo-Juárez P., Suárez-Cuenca J.A., Volkow-Fernández P., Silva-Sánchez J., Barrios-Camacho H., Nájera-León E., et al. Fecal ESBLE *Escherichia coli* carriage as a risk factor for bacteremia in patients with hematological malignancies. *Support Care Cancer*. 2016; 24(1): 253–9. doi:10.1007/s00520-015-2772-z.
 15. Calatayud L., Arnan M., Liñares J., Domínguez M.A., Gudíol C., Carratalá J., et al. Prospective study of fecal colonization by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in neutropenic patients with cancer. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2008; 52(11): 4187–90. doi:10.1128/AAC.00367-08.
 16. Paterson D.L., Bonomo R.A. Extended-Spectrum Beta-Lactamases: a Clinical Update. *Clin. Microbiol. Rev*. 2005; 18(4): 657–86. doi:10.1128/CMR.18.4.657-686.2005.
 17. Friedmann R., Raveh D., Zartzer E., Rudensky B., Broide E., Attias D., et al. Prospective evaluation of colonization with extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing enterobacteriaceae among patients at hospital admission and of subsequent colonization with ESBL-producing enterobacteriaceae among patients during hospitalization. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*. 2009; 30(6): 534–42. doi:10.1086/597505.
 18. Titelman E., Hasan C.M., Iversen A., Naclér P., Kais M., Kalin M., et al. Faecal carriage of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae is common 12 months after infection and is related to strain factors. *Clin. Microbiol. Infect*. 2014; 20(8): O508–15. doi:10.1111/1469-0691.12559.
 19. Apisarnthanarak A., Bailey T.C., Fraser V.J. Duration of stool colonization in patients infected with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Clin. Infect. Dis*. 2008; 46(8): 1322–3. doi:10.1086/533475.
 20. Pasricha J., Koessler T., Harbarth S., Schrenzel J., Camus V., Cohen G., et al. Carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae among internal medicine patients in Switzerland. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2013; 2: 20. doi:10.1186/2047-2994-2-20.
 21. Klyasova G.A., Korobova A.G., Frolova I.N., Okhmat V.A., Kulikov S.M., Parovichnikova E.N., et al. Detection of extended-spectrum β-lactamase producing Enterobacteriaceae (ESBL-E) in patients with acute myeloid leukemia and lymphoma at admission to the hospital. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2016; 61(1): 25–32. (in Russian). doi:10.18821/0234-5730-2016-61-1-25-32.
 22. Tumbarello M., Trecarichi E.M., Bassetti M., De Rosa F.G., Spanu T., Di Meco E., et al. Identifying patients harboring extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae on hospital admission: derivation and validation of a scoring system. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2011; 55(7): 3485–90. doi:10.1128/AAC.00009-11.
 23. Okhmat V.A., Klyasova G.A., Korobova A.G., Parovichnikova E.N., Fedorova A.V., Troitskaya V.V., et al. Should to all patients with febrile neutropenia and colonization with extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae carbapenems be appointed? *Oncohematology. Russian Journal (Onkogematologiya)*. 2016; 11(3): 49–57. (in Russian). doi:10.17650/1818-8346-2016-11-3-49-57.
 24. Averbuch D., Orasch C., Cordonnier C., Livermore D.M., Mikulska M., Viscoli C., et al. European guidelines for empirical antibacterial therapy for febrile neutropenic patients in the era of growing resistance: summary of the 2011 4th European Conference on Infections in Leukemia. *Haematologica*. 2013; 98(12): 1826–35. doi:10.3324/haematol.2013.091025.

Поступила 19.09.17

Принята к печати 20.10.17

Скворцова Ю.В.¹, Папуша Л.И.¹, Руднева А.Е.¹, Воронин К.А.¹, Скоробогатова Е.В.², Масчан А.А.¹

**ПАТОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ
АЛЛОГЕННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК У ДЕТЕЙ:
ОПЫТ НАЦИОНАЛЬНОГО МЕДИЦИНСКОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА
ДЕТСКОЙ ГЕМАТОЛОГИИ, ОНКОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ
ИМ. ДМ. РОГАЧЕВА МИНЗДРАВА РОССИИ**

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дм. Рогачева» Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия;

²ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, 119571, г. Москва, Россия;

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в настоящее время позволяет вылечить ранее фатальные злокачественные и незлокачественные заболевания, количество выздоравливающих от основной патологии детей неуклонно растет. Большой проблемой больных после алло-ТГСК становится развитие множества поздних осложнений. Среди них часто встречается патология функции гонад, что совместно с нарушением фертильности существенно влияет на дальнейшее качество жизни.

Материал и методы. Приведен анализ состояния репродуктивной системы 294 детей, получивших алло-ТГСК на базе отделения трансплантации костного мозга ФГБУ Российской детской клинической больницы/Научного медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дм. Рогачева (ранее Научно-исследовательский институт детской гематологии) с января 1994 г. по июль 2011 г. Медиана наблюдения составила 7,5 года.

Результаты. Проблемы репродуктивной сферы были выявлены у 43 детей и подростков (15% от общей популяции и 46% в структуре эндокринной патологии). Основным нарушением явился гипергонадотропный гипогонадизм (33 больных, 77% репродуктивной дисфункции). Выявлены статистически значимые факторы риска его развития: бусульфан-содержащий режим кондиционирования ($p < 0,001$, риск развития гипогонадизма составил 26,7% в отличие от 5,2% при других режимах), диагноз злокачественного заболевания ($p = 0,002$, риск 26,6% при злокачественных заболеваниях и лишь 8,1% при незлокачественной патологии), облучение центральной нервной системы в анамнезе ($p = 0,002$, риск 32,6% при облучении в отличие от 15,6% без такового), женский пол ($p = 0,003$, риск возрастает в 3 раза – 26,9% у девочек против 9,3% у мальчиков). Также описаны случаи восстановления фертильности и деторождения. Приведен алгоритм диагностики и мониторинга патологии репродуктивной системы после алло-ТГСК у детей.

Ключевые слова: аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; поздние осложнения; гипогонадизм; фертильность.

Для цитирования: Скворцова Ю.В., Папуша Л.И., Руднева А.Е., Воронин К.А., Скоробогатова Е.В., Масчан А.А. Патология репродуктивной системы после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей: опыт Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дм. Рогачева Минздрава России. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(3): 124-134. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-124-134>

Skvortsova Yu.V.¹, Papusha L.I.¹, Rudneva A.E.¹, Voronin K.A.¹, Skorobogatova E.V.², Maschan A.A.¹

**PATHOLOGY OF THE REPRODUCTIVE SYSTEM AFTER ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL
TRANSPLANTATION IN CHILDREN: A SINGLE CENTER EXPERIENCE**

¹Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
Moscow, 117997, Russian Federation;

²Russian Children's Research Hospital, Moscow, 119571, Russian Federation

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) nowadays allows cure malignant and non-malignant diseases considered to be fatal previously. The number of cancer survivors' children progressively increases over years. Unfortunately, numerous late effects of allo-HSCT become both a serious problem and a cause of the morbidity and mortality. Among them the reproductive pathology seems to be frequent, and fertility problems influence the quality of life of patients significantly.

Material and methods. We present the results of the evaluation of reproductive system in 294 children after allo-HSCT. Reproductive problems were revealed in 43 children and adolescents (15% of all patients and 46% of the patients with endocrine pathology). Hypergonadotropic hypogonadism was the dominating problem (33 patients, 77% of all reproductive dysfunctions).

Results. Risk factors of its development included: busulfan-containing conditioning regimen ($p < 0.001$, risk ratio (RR) of hypogonadism was 26.7% compared to 5.2% in other regimens), diagnosis of the malignant disease ($p = 0.002$, RR 26.6% in malignant and only 8.1% in nonmalignant pathology), central nervous system irradiation prior to HSCT ($p = 0.002$, RR 32.6% with cranial irradiation compared to 15.6% without it), female gender ($p = 0.003$, RR increases up to 3 times – 26.9% in girls against 9.3% in boys). We also describe cases of the fertility restoration and birthing. The algorithm of diagnostic and follow-up of gonadal pathology in children after allo-HSCT is shown.

Keywords: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; late effects; hypogonadism; fertility.

For citation: Skvortsova Yu.V., Papusha L.I., Rudneva A.E., Voronin K.A., Skorobogatova E.V., Maschan A.A. Pathology of the reproductive system after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children: a single center experience. *Hematology and Transfusion. Russian Journal (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2017; 62(3): 124-134. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-124-134>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Received 11 September 2017

Accepted 20 October 2017

В настоящее время отмечаются большие достижения в лечении жизнеугрожающих заболеваний у детей. Ожидаемая долгосрочная выживаемость детей и подростков со злокачественными заболеваниями составляла 80% уже в 2010 г. [1]. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) помогает излечить множество ранее инкурабельных гематологических, иммунологических, онкологических заболеваний и патологий обмена веществ. Вследствие постоянного увеличения числа детей, вылеченных от тяжелых недугов, возрастает и количество хронической патологии в качестве поздних осложнений самого лечения. Алло-ТГСК подразумевает проведение высокодозной химиотерапии (ХТ) и/или тотального облучения тела (ТОТ) и воздействие множества токсичных препаратов. Кроме того, повреждающим эффектом обладают аллореактивные механизмы иммунологического ответа. В итоге растущий организм испытывает колоссальные нагрузки. Поздними эффектами алло-ТГСК считают осложнения, возникшие через 1 год и более от момента ТГСК и продолжающиеся неограниченно во времени. Они включают в себя множество нарушений, затрагивающих рост и развитие, функции органов, фертильность, риск вторичного канцерогенеза, психосоциальную адаптацию [2].

Гипогонадизм является частым осложнением алло-ТГСК и поражает до 92% пациентов мужского пола и 99% – женского [3–5]. Недостаточность гонад может приводить к дефициту стероидных половых гормонов и отсутствию фертильности.

Факторы риска. Основной причиной недостаточности половых желез является кондиционирование перед ТГСК. Применявшиеся ранее при алло-ТГСК режимы кондиционирования оставляли очень мало шансов на деторождение выжившим пациентам вследствие воздействия высоких доз алкилирующих препаратов, а также в результате применения ТОТ. Такие алкиляторы, как бусульфид, мелфалан и циклофосфамид, активно используемые в подготовке к ТГСК, повреждают ДНК и вызывают апоптоз путем связывания алкилирующих групп клеточных макромолекул организма, в том числе гонад. Комбинации этих препаратов более опасны, чем высокие дозы при изолированном применении одного из них. Частота отсроченного пубертата после применения циклофосфамида составляет 10%, после комбинированной терапии циклофосфамидом и бусульфидом – 35%, после ТОТ (минимум 10 Гр) – 65%, после облучения яичек – 80% [4]. При оценке воздействия на половые железы важно учитывать вид препарата, его кумулятивную дозу, длительность терапии, возраст на момент лечения и пол [6, 7].

Развитие овариальной недостаточности после алло-ТГСК у девочек описано в 65–84% случаев [8]. Факторами риска являются применение бусульфана, циклофосфамида и ТОТ в кондиционировании, обратная зависимость

отмечена для возраста [9, 10]. Риск развития гипогонадизма и преждевременной менопаузы у девочек выше, чем у мальчиков, вследствие того, что количество примордиальных фолликулов, продуцирующих гормоны яичников, детерминировано с рождения. Овариальный резерв девочек до пубертата и девочек-подростков гораздо выше, чем таковой у взрослых, вследствие большого количества примордиальных фолликулов [11–14]. Поэтому, чем меньше возраст девочек на момент ТГСК, тем выше вероятность сохранения половой функции.

Крупные эпидемиологические исследования выявили, что риск бесплодия составляет не менее 40% к возрасту 35 лет независимо от возраста на момент ТГСК, даже после полного восстановления инициального фолликулярного резерва [4, 15]. Восстановление функции яичников после ТГСК происходит достаточно редко, вероятность его тем выше, чем меньше возраст [16]. С увеличением возраста на момент ТГСК вероятность восстановления овариальной функции снижается на коэффициент 0,8 в год [17]. Воздействие ХТ и ТОТ на яичники является дозозависимым, при этом гибель 50% ооцитов (LD50) происходит уже при дозе облучения менее 4 Гр. Эффект ХТ связан не только с непосредственным повреждением ооцитов, но и с разрушением гранулезных клеток фолликула, поддерживающих их развитие. То же касается герминативно-клеточного эпителия и клеток Лейдига у мужчин, 48–85% мальчиков имеют недостаточность гонад после ТГСК [18]. Для мужчин ситуация более благоприятна, так как герминативные клетки яичек способны продуцировать сперму на протяжении всей жизни. Однако режимы кондиционирования с применением циклофосфамида и ТОТ разрушают герминативный эпителий яичек, что приводит к азооспермии и бесплодию [18]. Обратимость данного повреждения зависит от препарата и его дозы. У мальчиков и подростков, получивших циклофосфамид в дозе 200 мг/кг в составе кондиционирования, сохраняется функция клеток Лейдига и продукция тестостерона, но нарушена функция герминативно-клеточного эпителия [19, 20]. Подобную картину наблюдают и после ТОТ. Крупное исследование [21] показало, что из 618 постпубертатных мальчиков, перенесших ТГСК, только 32 стали отцами. В большей степени это были пациенты, получавшие из алкиляторов только циклофосфамид в отличие от сочетания бусульфид/циклофосфамид или ТОТ.

Облучение центральной нервной системы (ЦНС) до ТГСК также влияет на репродуктивную функцию, так как нарушает функционирование оси гипоталамус – гипофиз – половые железы. Этот эффект является дозозависимым. Нарушение вступления в пубертат описано при использовании доз облучения ЦНС от 18 до 24 Гр. Развивается снижение показателей фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ), что приводит к значительному снижению показателей циркулирующих половых гормонов. Отсроченные эффекты такого облучения у женщин включают в себя снижение содержания ЛГ, укорочение лютеиновой фазы яичников – и, как следствие, нарушение вынашивания беременности на ранних сроках [22].

Клинические проявления. Первичная яичниковая недостаточность характеризуется потерей нормальной функции яичников до достижения возраста 40 лет и проявляется себя в виде вторичной аменореи, ассоциированной с гипергонадотропным гипогонадизмом (ГГ) и сокращением размеров матки и яичников. Клинические проявления яичниковой недостаточности – симптомы дефицита эстрогена (горячие приливы, ночные поты, нарушения настроения и сна, недостаток концентрации внимания, артралгии, снижение сексуальной функции и потеря репродуктивного

Для корреспонденции:

Скворцова Юлия Валерьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, врач-гематолог, зам. зав. отделением ТГСК №2 «Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дм. Рогачева» Минздрава РФ, 117997, г. Москва, Россия. E-mail: yuscvo@mail.ru

For correspondence:

Skvortsova Yulia V., MD, PhD, senior researcher, Deputy head of the Department Transplantation of hematopoietic stem cells No 2 of the Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, 117997, Russian Federation. E-mail: yuscvo@mail.ru

Information about authors:

Skvortsova Yu. V., <http://orcid.org/0000-0002-0566-053X>;
Rudneva A. E., <http://orcid.org/0000-0001-6628-0760>;
Voronin K. A., <http://orcid.org/0000-0001-7578-9657>;
Maschan A. A., <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>.

Таблица 1

Возраст и стадии полового созревания пациентов

Параметр	Девочки (n = 120)	Мальчики (n = 174)
Возраст на момент ТГСК	От 1 мес до 19 лет (медиана 9 лет)	
	От 2 мес до 19 лет (медиана 10 лет)	От 1 мес до 18 лет (медиана 8 лет)
Возраст на момент последнего контакта	От 3 до 34 лет (медиана 15 лет)	
	От 5 до 34 лет (медиана 16 лет)	От 3 до 29 лет (медиана 16 лет)
Период полового созревания на момент ТГСК: до пубертата/во время пубертата/после пубертата	176/94/24 детей	
	59/43/18	117/51/6
Период полового созревания на момент последнего контакта (n = 208): возраст пубертата и постпубертата	55, из них 51 с оценкой по Таннеру более 2	91, из них 85 с оценкой по Таннеру более 2
возраст до пубертата	23	39

потенциала) [23, 24]. Недостаток эстрогенов у женщин после ТГСК приводит к повышению риска развития остеопороза, когнитивных нарушений и сердечно-сосудистых заболеваний. Острая и хроническая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и сопутствующая им длительная терапия кортикостероидами после алло-ТГСК значительно усугубляют дефицит функции гонад [23].

У трети женщин развивается менопауза уже через несколько месяцев после ХТ до ТГСК, у остальных овариальный цикл прекращается после режима кондиционирования. Восстановление цикла, будучи длительным процессом, может происходить на очень отдаленных сроках после ТГСК.

Диагностика гипогонадизма основана на определении показателей половых гормонов в крови. При ГГ (первичном гипогонадизме – непосредственном поражении гонад) содержание тестостерона и эстрадиола в крови аномально низкие, а показатели гонадотропных гормонов (ФСГ, ЛГ) в сыворотке крови высокие. В случае нарушений синтеза гонадотропина (вторичный гипогонадизм) показатели ФСГ и ЛГ могут быть средние или низкие. Для девочек важно определение антимюллерова гормона (АМГ) в крови – его сниженная концентрация отражает низкий овариальный резерв и свидетельствует о риске бесплодия [25]. Также отмечаются сниженные показатели циркулирующих андрогенов, что является следствием повреждения яичников и подавления функции надпочечников, вызванных иммуносупрессивными препаратами, особенно у женщин с хронической РТПХ. При длительном приеме глюкокортикостероидов отмечается более низкий уровень дегидроэпидандростерон-сульфата (ДГЭА-сульфата) [26].

У мальчиков отмечается четкая корреляция между уровнем повышения ФСГ и степенью нарушения сперматогенеза. Также важно определение В-ингибина, который продуцируется клетками Сертоли и является лучшим маркером сперматогенеза, особенно у мальчиков до вступления в пубертат [27]. После фракционированного ТОТ восстановление сперматогенеза происходит очень редко. Кроме того, низкие показатели спермограммы (олиго- и азооспермия) наблюдаются у больных, страдающих хронической РТПХ. В отличие от женщин, у мужчин возраст на момент ТГСК не играет такой значимой роли, важнее вид предшествующей ХТ и кондиционирования. Снижение сывороточного тестостерона чаще всего является транзиторным, показатели восстанавливаются через недели – месяцы после ТГСК [28]. Опасность представляет применение глюкокортикостероидов – они подавляют высвобождение гонадотропин-релизинг гормона (ГРГ) и тем самым всю репродуктивную ось, а также могут ингибировать источник андрогенов в надпочечниках. Циклоспорин А в качестве профилактики и лечения РТПХ вызывает

повреждение клеток Лейдига и оказывает выраженный гонадотоксичный эффект при длительном применении.

Профилактика и лечение. Решением проблемы является проведение заместительной гормональной терапии (ЗГТ) для молодых пациентов (после оценки соматического состояния и при отсутствии противопоказаний к препаратам). Лечение проводят эндокринологи, определяющие длительность курсов и возможность осуществления пауз на 6–12 мес с целью оценки вероятности спонтанного восстановления функции гонад. Даже при диагностике ГГ в детородном возрасте применение ЗГТ и/или терапии гонадотропинами в ряде случаев приводит к реализации репродуктивной функции у лиц как женского, так и мужского пола [29].

Еще до проведения алло-ТГСК чрезвычайно важно информировать больного о возможном риске бесплодия и предложить ему способы сохранения фертильности.

У мальчиков в постпубертате проводят криопрезервацию спермы до начала цитотоксической терапии. При невозможности получить достаточный образец спермы применяют технику электроэякуляции либо хирургической экстракции. Для мальчиков в препубертате рассматривается вопрос замораживания ткани яичка со сперматогониями, но необходимо помнить о риске рецидива из этой ткани при гемобластозах.

Для лиц женского пола методы сохранения фертильности подбирают индивидуально (желательно сразу после установления диагноза) [30–32]. В обязательном порядке стратегия сохранения фертильности должна быть разработана для женщин с 80%-ным риском развития аменореи после ТГСК с применением циклофосфида/ТОТ или циклофосфида/бусульфана в кондиционировании [33–36].

Изначально с целью уменьшения и предупреждения повреждения гонад активно использовали ГРГ. У некоторых женщин, получавших такую терапию, отмечены спонтанное восстановление функции яичников и беременность [37, 38]. Однако способность ГРГ защищать функцию яичников не является абсолютной. Назначение ГРГ во время кондиционирования до ТГСК может существенно снизить скорость наступления преждевременной менопаузы (с 82 до 33%) у больных лимфомами, но не лейкозами [39–41].

Техника стимуляции ооцитов для осуществления их криопрезервации (витрификации яйцеклеток) до ТГСК является наиболее актуальной, но имеет существенные недостатки – для процедуры требуется время и перерыв в лечении: минимум 2 нед стимуляции, далее определяют рост ооцитов с помощью УЗИ и проводят забор яйцеклеток. В условиях угрозы прогрессии злокачественного заболевания, как правило, такого времени между циклами ХТ не остается.

В настоящее время также активно применяют криопрезервацию эмбрионов, так как метод наиболее эффективен (после размораживания выживают 75% эмбрионов, а частота успешных беременностей достигает 30%), однако, он лимитирован необходимостью перерыва в терапии основного заболевания (2–5 нед) и потребностью в доноре спермы (что проблематично для незамужних девушек), а также ограничен этическими аспектами [42].

Наиболее доступной, в том числе для маленьких девочек, является техника криопрезервации ткани яичника [33]. Этот метод имеет предпочтения, так как не требует ни донорской спермы, ни стимуляции яичников. Овариальная ткань удаляется лапароскопически под наркозом и замораживается. При необходимости ее размораживают и реимплантируют. Это имеет смысл только для девочек и женщин в возрасте до 40 лет, когда резерв примордиальных фолликулов достаточный. При изучении 80 беременных в четырех медицинских центрах можно говорить об уровне фертильности (соотношении количества беременных женщин и числа трансплантированных женщин) с использованием данной техники, равном 25% [43–45]. Для пациенток с риском метастазирования и/или поражения ткани яичника злокачественными клетками желательнее проведение скрининга ткани яичника при ее заборе с целью минимизации трансфера болезни обратно в организм [46].

Число удачных беременностей за последние годы возрастает, в литературе приводят цифры средней частоты деторождения 0,6–1% [41]. Два больших исследования в США и Европе [23] показали, что у партнеров мужчин – реципиентов ТГСК не возникает проблем с беременностью и вынашиванием, а у женщин – реципиентов алло-ТГСК часто встречаются невынашивание, преждевременные роды, рождение низковесных детей, что указывает на повреждение не только ооцитов, но всего уrogenитального тракта. ТОТ с облучением матки способствует нарушению прикрепления эмбриона в результате выраженного повреждения сосудистых стенок. Повышается также риск внутриутробной задержки развития, незрелости плода и разрыва матки. До сих пор не ясно, может ли беременность спровоцировать рецидив основного заболевания. Поэтому N. Salooja и соавт. [47] рекомендуют воздержаться от беременности на протяжении первых 2 лет после проведения ТГСК.

Многоцентровые исследования оценивали состояние здоровья детей, родившихся от реконвалесцентов злокачественных заболеваний и реципиентов ТГСК, и не нашли статистически значимых различий во встречаемости цитогенетических синдромов, генных дефектов, мальформаций, равно как и отставаний в развитии и повышенного риска неоплазий [48–51].

Таким образом, патология репродуктивной сферы после ТГСК существенно влияет на качество жизни пациентов в будущем, поэтому ее изучение и предотвращение развития столь актуальны, а снижение риска развития гипогонадизма и сохранение фертильности у реципиентов ТГСК является важной задачей специалистов по всему миру [52].

В Национальном медицинском исследовательском центре детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дм. Рогачева Минздрава России (до 2011 г. Научно-исследовательский институт детской гематологии Минздрава России) уже проводили оценку полового развития и функции гонад детей и подростков после алло-ТГСК с разными режимами кондиционирования [53]. Ниже приведен более поздний опыт исследования данной патологии.

Цель исследования – определение частоты встречаемости и характера патологии гонад в качестве поздних осложнений после алло-ТГСК в детской популяции, выявление факторов риска развития дисфункции половых желез, оценка фертильности.

Таблица 2

Характеристики пациентов с ГГ после алло-ТГСК

Характеристика	Больные	
	абс.	%
Возраст, годы		
на момент ТГСК	3–18 (медиана 11)	
на момент последнего контакта	10–29 (медиана 20)	
Период полового созревания на момент ТГСК:		
до пубертата/во время пубертата/после пубертата	14/16/3	
Пол:		
мальчики	12	36
девочки	21	64
Диагноз:		
лейкоз и МДС	27	82
незлокачественные заболевания	6 (АА – 2, АФ – 4)	18
Облучение ЦНС,	8	30% злокачественных заболеваний
из них на ЗГТ	5	
Вид донора:		
совместимый родственный	20	60,6
совместимый неродственный	12	36,3
гаплоидентичный	1	0,3
Режим кондиционирования:		
бусульфан-содержащий, из них:	29	88
бусульфан+циклофосфамид	17	
бусульфан+мелфалан	8	
другие сочетания;	4	
мелфалан-содержащий	2	
циклофосфан-содержащий	2	
Острая РТПХ:		
0–I стадия	13	39
II–IV стадия	20	61
Хроническая РТПХ:		
нет	13	39
ограниченная	8	24
экстенсивная	12	36
Другие сопутствующие нарушения:		
остеопения/остеопороз	11	33
дисфункция щитовидной железы	6	18
ожирение	5	15
дефицит роста и массы тела	5	15
ЗГТ	15	45
Снижение адаптации	15	45

Примечание. АА – апластическая анемия.

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ состояния репродуктивной системы 294 детей, которым была выполнена алло-ТГСК на базе отделения трансплантации костного мозга ФГБУ РДКБ/НМИЦ ДГОИ за период с января 1994 г. по июль 2011 г. Минимальный срок наблюдения составил 5,5 года, максимальный – 23 года (медиана 7,5 года). Критерии включения – все пациенты в возрасте от рождения до 18 лет и прожившие минимум 1 год после ТГСК.

Определение патологии репродуктивной системы осуществляли на основании ретроспективного анализа истории болезни с включением данных соответствующего обследования – анализа

Таблица 3

Характеристики пациенток, родивших детей после ТГСК

Характеристика	Пациентка 1	Пациентка 2	Пациентка 3
Возраст на момент ТГСК, годы	13	16	12
Возраст на момент последнего контакта, годы	29	26	19
Диагноз на момент ТГСК	ОМЛ, 3-я полная ремиссия	ХМЛ, 1-я хроническая фаза	АФ
Терапия до ТГСК	Непрограммная ХТ, облучение ЦНС 18 Гр	Иматиниб	Ретаболил
Кондиционирование	Бусульфан 16 мг/кг, циклофосфамид 120 мг/кг, даунозом	Бусульфан 8 мг/кг, флюдарабин, АТГ	Бусульфан 4 мг/кг, флюдарабин, тимоглобулин; ТАО 2 Гр, циклофосфамид 20 мг/кг, тимоглобулин
Донор	Совместимый, родственник		
Источник ГСК	Стволовые клетки крови	Стволовые клетки крови	Костный мозг
Профилактика РТПХ	Циклоспорин, метотрексат	Циклоспорин, микофенолата мофетил	Циклоспорин, микофенолата мофетил
РТПХ	Острая РТПХ IV стадии, ограниченная хроническая РТПХ	Острая РТПХ I стадии, хронической не было	Острая РТПХ II стадии, хронической не было
ИСТ	КС, циклоспорин, флюдарабин, АТГ, антитела к интерлейкину-2, микофенолата мофетил	Циклоспорин, микофенолата мофетил, короткий курс КС	Циклоспорин, короткий курс КС
Проблемы трансплантата	Нет	Нет	Отторжение через 2 мес, повторная ТГСК
Оценка по Таннеру на момент ТГСК	2–3	4–5	1
Половое созревание	Спонтанное	Спонтанное	На фоне ЗГТ
Эндокринные и обменные нарушения	Повышение ФСГ (70 мМЕ/мл) и ЛГ (19 мМЕ/мл), ЗГТ 1 год, остеопения	Повышение ФСГ (92,3 мМЕ/мл) и ЛГ (53,3 мМЕ/мл), ЗГТ	Повышение ФСГ 41,73 мМЕ/мл, ЛГ 27,81 мМЕ/мл, эстрадиол менее 10 пмоль/л, ЗГТ 4 года, субклинический гипотиреоз, остеопения
Менструальный цикл	Восстановление на ЗГТ через 1 год	Восстановление на ЗГТ через 2 года	Появление на ЗГТ через 4 года
Беременности	Три (1-я через 8 лет после ТГСК)	Две	Одна – через 5 лет от начала ЗГТ (год от окончания), 7 лет от момента ТГСК
Дети	Две здоровые дочери	Двое здоровых детей	Одна здоровая дочь

Примечание. ТАО – торакоабдоминальное облучение; ИСТ – иммуносупрессивная терапия; КС – кортикостероиды; АТГ – антилимфоцитарный тимоглобулин.

крови на гормональный профиль, осмотра эндокринологом, гинекологом, урологом, а также по результатам опроса реконвалесцентов и их семей. ГГ определяли на основании отсутствия развития вторичных половых признаков у девочек к 13 годам, отсутствия менструаций у девочек к 15 годам, отсутствия вторичных половых признаков у мальчиков к 14 годам – в сочетании с повышением показателей ФСГ и ЛГ в сыворотке крови. В нашей выборке оказался только один пациент с гипогонадотропным гипогонадизмом (отсутствие признаков пубертата при низких показателях ФСГ и ЛГ вследствие поражения ЦНС и нарушения синтеза гонадотропных гормонов гипофиза), хотя 8 детей получали облучение ЦНС как профилактику нейролейкемии в анамнезе.

В ряде случаев для дополнительной оценки состояния репродуктивной системы исследовали уровни АМГ у девушек и ингибина В у юношей. Снижение овариального резерва оценивали по показателям АМГ в сыворотке крови, а также на основании УЗИ яичников с определением количества примордиальных фолликулов на 3–4-й дни менструального цикла.

За пубертатный возраст принимали интервалы 10–14 лет для девочек и 12–16 лет для мальчиков с учетом формирования вторичных половых признаков. Уровень полового развития определяли с использованием оценки по Таннеру.

Анализ факторов риска развития гипогонадизма проводили с помощью статистического пакета R в программе R-Studio (“R-Tools Technology”, Канада). Для унитарного анализа использовали оценку кумулятивного риска и критерий log-rank. Для исключения взаимных влияний на статистическую значимость определения факторов риска использовали также многофакторную модель Файна–Грея (вариант модели Кокса).

Результаты

Всего выявлено 94 случая нарушений со стороны эндокринной системы, среди которых проблемы репродуктивной сферы составили 43 случая (15% от общей выборки и 46% в структуре эндокринной патологии). Часть больных рано выбыла из-под наблюдения из-за удаленности проживания, а некоторые не могли выполнить полноценного обследования, поэтому реальный уровень встречаемости патологии очевидно занижен. Основными нарушениями явились ГГ (33 человека, 77% в структуре репродуктивной дисфункции), различные виды изолированной дисменореи (4 девочки), снижение овариального резерва без подтвержденного диагноза ГГ (3 случая), нарушения сперматогенеза без диагноза ГГ (2 мальчика), гипогонадотропный гипогонадизм у одного ребенка, мастопатия (1 случай). Более подробно рассмотрены данные пациентов с диагнозом ГГ как наиболее значимой патологии, влияющей на качество жизни и деторождение.

Возрастные характеристики и периоды полового созревания всех детей представлены в табл. 1. На момент последнего контакта в общей группе оценивали только данные пациентов, выживших и не имевших гипогонадизма (208 человек). Среди них спонтанное половое созревание (Таннер более 2) отмечено у 51 девочки из 55 в возрасте 10 лет и старше, и у 85 из 91 мальчика в возрасте 12 лет и старше (6 мальчиков с хронической РТПХ не имели признаков пубертата, несмотря на возраст). В допубертатном периоде остаются 23 девочки и 39 мальчиков.

Выявлено 34 случая гипогонадизма, из них 33 ребенка развили ГГ и только один мальчик имел гипогонадотропный гипогонадизм – это больной миелодиспластическим синдромом (МДС) с множеством врожденных отклонений развития, включая порок сердца, крипторхизм, а также портальную гипертензию (состояние после операции). В дальнейшем пациенту были удалены яички вследствие высокого риска их малигнизации, проведено их протезирование, находится на заместительной гормональной терапии тестостероном.

Характеристики 33 пациентов с ГГ представлены в **табл. 2**.

Медиана возраста пациентов с ГГ на момент ТГСК составила 11 лет, при этом большинство представляли дети до вступления в пубертат (оценка по Таннеру 1) либо в период пубертата (оценка по Таннеру 2–3) (30 человек), только 3 девочки имели развитие по Таннеру 4–5 на момент проведения ТГСК. Возраст на момент последнего контрольного обследования варьировал от 10 до 29 лет (медиана 20 лет).

В нозологической структуре преобладали злокачественные заболевания (82%), при этом треть (8 из 27) пациентов имели в анамнезе облучение ЦНС в дозах 18–24 Гр до ТГСК.

В основном использовали бусульфан-содержащие схемы кондиционирования (29 человек, 88%), при этом 25 больных получали сочетание двух алкиляторов. Для больных злокачественными заболеваниями применяли высокие суммарные дозы алкиляторов – бусульфан 16 мг/кг, циклофосфамид 120 мг/кг, мелфалан 180 мг/м². При этом в кондиционировании больных анемией Фанкони (АФ) также был включен бусульфан в суммарной дозе 4 мг/кг, что для этих больных равноценно миелоаблативному воздействию с соответствующей гонадотоксичностью.

Приживление трансплантата отмечено у 32 из 33 пациентов. Развитие клинически значимой острой РТПХ составило 61%, хронической – 60% (с преобладанием экстенсивной формы).

ЗГТ получали 15 больных (1 мальчик и 14 девочек), из них эффективность лечения можно было оценить только у 12 больных (3 девушки выбыли из-под наблюдения): у юноши на фоне ЗГТ тестостероном отмечалось появление вторичных половых признаков (терапия прекращена через 3 года для анализа дальнейшего функционирования гонад и начала половой жизни), у 4 из 9 девочек наблюдается полная овариальная недостаточность (оценка по Таннеру 2–3 на фоне терапии), у 2 девушек цикл восстановлен и препараты отменены (девочки с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) и АФ), у 3 отмечено полное восстановление менструальной функции и наступление в дальнейшем беременности (**табл. 3**). Не получают лечения 7 девочек и 11 мальчиков, при этом у юношей отмечено развитие вторичных половых признаков (оценка по Таннеру более 2), несмотря на повышенные показатели ФСГ и ЛГ.

Нередко недостаточность гонад сочеталась с другими эндокринными нарушениями – например, у 11 детей одновременно наблюдали снижение костной минеральной плотности, у 6 – патологию щитовидной железы, у 10 – патологию массы тела (у 5 ожирение, у 5 дефицит роста и массы тела).

Социальная адаптация по данным опроса семей была нарушена у 16 (48%).

Всего репродуктивную функцию реализовали 8 пациентов (у 1 юноши с ХМЛ 2 детей, у 7 девушек суммарно 10 детей – у 3 по 2 ребенка). В когорте пациентов с ГГ отмечено три случая деторождения – у девушки с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) 2 дочери, у девушки с

Таблица 4

Факторы риска развития ГГ после алло-ТГСК у детей

Параметр		События	Риск	95% CI	p
Период полового созревания на момент ТГСК:					
до пубертата	176	13	14,7	5,4–23,2	0,032
во время пубертата	94	16	24,1	10,2–35,8	
после пубертата	24	3	14,1	0,0–27,9	
Пол:					
женский	120	21	26,9	14,3–37,5	0,003
мужской	174	11	9,3	2,9–15,2	
Диагноз:					
лейкозы и МДС	157	26	26,6	12,5–38,5	0,002
аплазии	137	6	8,1	0,8–14,8	
Облучение ЦНС:					
да	29	8	32,6	10,7–49,1	0,002
нет	265	24	15,6	8,0–22,5	
Вид донора:					
совместимый родственный донор	184	20	15,7	8,1–22,7	0,223
совместимый неродственный донор	92	12	35,8	0,0–60,1	
гаплоидентичный	18	0			
Режим кондиционирования:					
бусульфансодержащий	151	28	26,7	15,2–36,7	< 0,001
другой	143	4	5,2	0,0–11,0	
Режим кондиционирования с бусульфаном:					
сочетание с циклофосфамидом	95	17	25,5	11,1–37,6	0,823
сочетание с мелфаланом	35	7	73,1	52,8–84,7	
другой	21	4	20,2	0,3–36,2	
Острая РТПХ:					
0–I стадия	142	11	11,2	4,4–17,6	0,215
II–IV стадия	152	21	22,4	10,5–32,8	
Хроническая РТПХ:					
нет	159	14	11,6	5,5–17,3	0,441
ограниченная	59	8	39,6	0,0–64,1	
экстенсивная	76	10	18,8	5,1–30,6	
ЦМВ-реактивация:					
да	101	11	24,7	0,0–46,0	0,966
нет	193	21	16,8	9,2–23,8	
Адаптация:					
да	78	14	29,9	4,5–48,5	0,462
нет	126	18	21,8	10,5–31,6	

Примечание. ЦМВ – цитомегаловирус. Жирным шрифтом выделены статистически значимые показатели ($p < 0,05$).

ХМЛ 2 детей, у девушки с АФ 1 ребенок. В обоих случаях беременности протекали без существенной патологии, дети здоровы.

Характеристики пациенток с ГГ, родивших детей, представлены **табл. 3**.

Результаты унивариантного статистического анализа факторов риска (cumulative incidence – CI) развития гипогонадизма представлены в **табл. 4**. Количество событий составило 32, а не 33, так как у одного больного произошло неприживление трансплантата (конкурирующее событие).

В результате статистически значимыми факторами риска, влияющими на развитие гипогонадизма, яви-

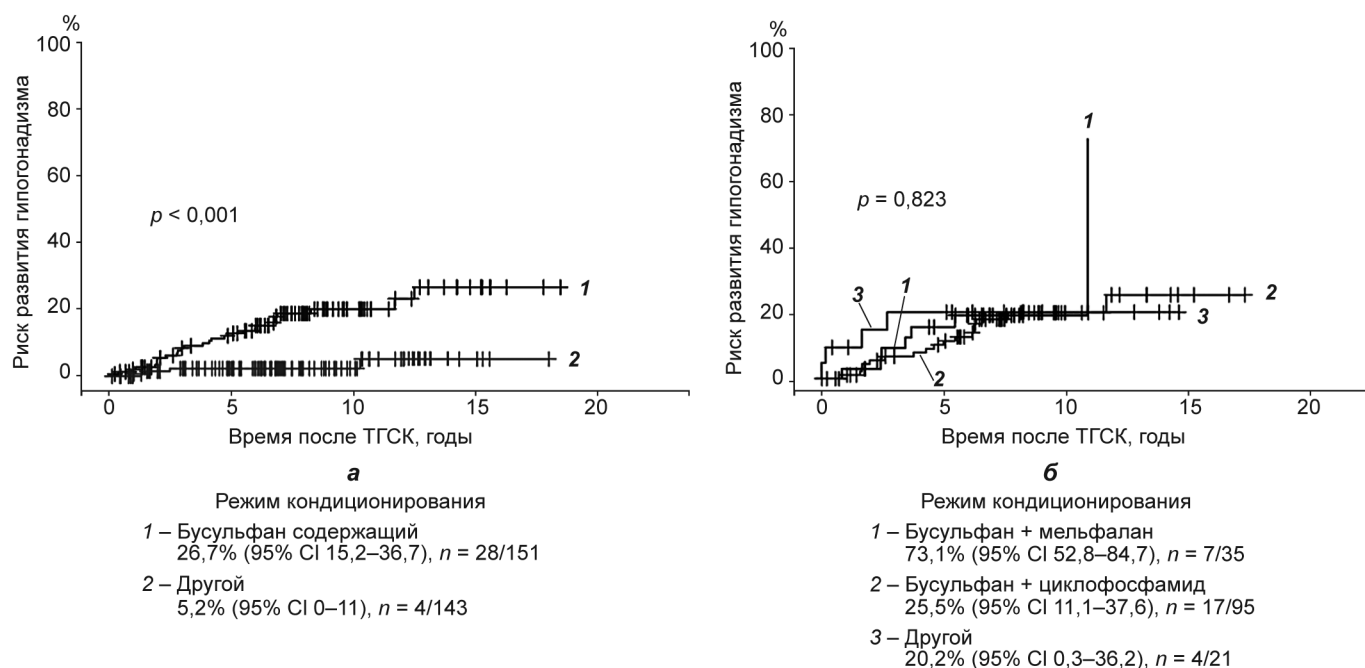


Рис. 1. Риск развития гипогонадизма в зависимости от режима кондиционирования.
а – представлены графики риска развития ГГ при кондиционировании с бусульфаном (1) и без него (2);
б – графики риска развития ГГ при бусульфан-содержащем режиме кондиционирования: в сочетании с мелфаланом – 1, в сочетании с циклофосфамидом – 2, в других комбинациях – 3.

лись бусульфан-содержащий режим кондиционирования ($p < 0,001$), риск составил 26,7% в отличие от 5,2% при других режимах (с тенденцией более высокого риска при сочетании бусульфана с мелфаланом – 73%) (рис. 1); диагноз злокачественного заболевания ($p = 0,002$; CI 26,6% при лейкозах и МДС и лишь 6% при аплазиях) (рис. 2); облучение ЦНС в анамнезе ($p = 0,002$; CI 32,6% при облучении против 15,6% без такового) (рис. 3); женский пол ($p = 0,003$; риск возрастает в 3 раза – 26,9% у девочек против 9,3% у мальчиков) (рис. 4). Для исключения взаимных влияний на статистическую значимость факторов риска (например, бусульфан-содержащие режимы кондиционирования преобладают у больных лейкозами и МДС, облучение ЦНС проводили только в группе злока-

чественных заболеваний, у пациентов с облучением ЦНС в анамнезе чаще использовали бусульфан в кондиционировании) была использована также многофакторная модель Файна–Грея, согласно которой выявлено, что влияние кондиционирования, диагноза и пола сохраняют свою статистическую значимость (рис. 5). Так, риск развития гипогонадизма в группе пациентов с аплазиями меньше в 2,3 раза – 95% доверительный интервал (ДИ) 0,91–5,88; $p = 0,079$; бусульфан-содержащие режимы кондиционирования увеличивают его в 4,8 раза (ДИ 1,59–14,78; $p = 0,006$), мужской пол подразумевает снижение риска в 2,6 раза (ДИ 1,25–5,55) по сравнению с женским ($p = 0,011$). Интересная зависимость наблюдалась от стадии полового развития ребенка на момент ТГСК.

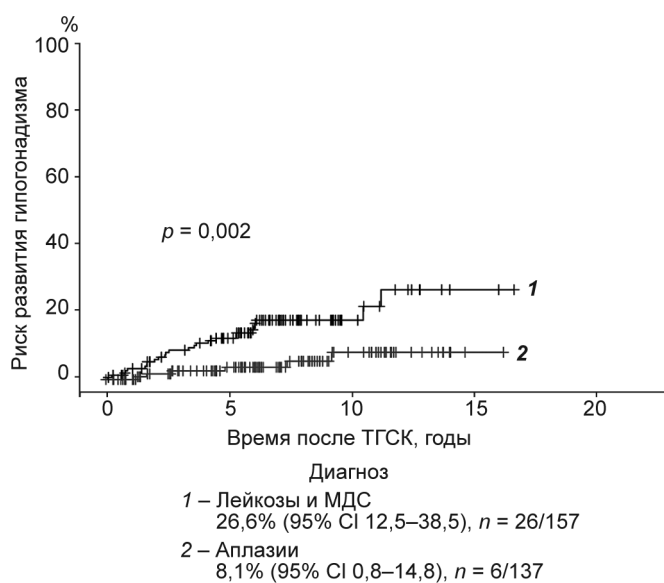


Рис. 2. Риск развития гипогонадизма в зависимости от диагноза.

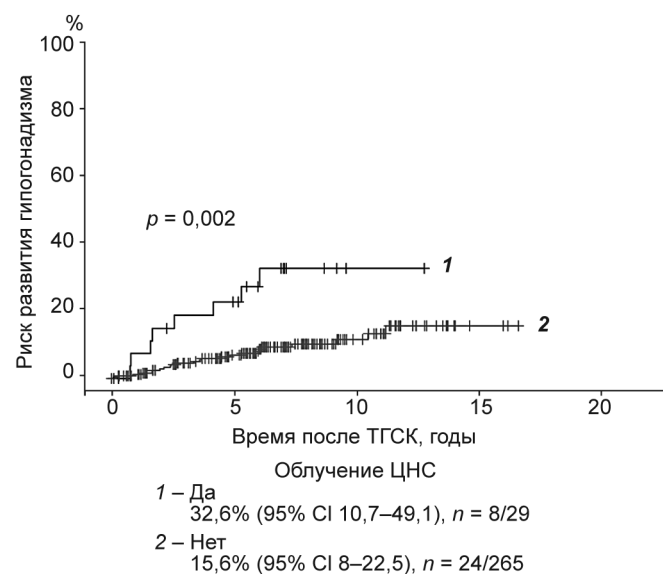


Рис. 3. Риск развития гипогонадизма в зависимости от облучения ЦНС.

В унивариантной модели наибольший риск развития гипогонадизма имели дети, получившие ТГСК в период пубертата (24,1%; $p = 0,092$) в отличие от тех, кого лечили до пубертата (14,7%) или после наступления пубертата (14,1%). Однако группа пациентов до пубертата (медиана возраста 5 лет на момент ТГСК) на протяжении минимум 5 последующих лет не могла быть подвергнута оценке, в связи с чем для данной группы был предпринят анализ спустя 5 лет от момента ТГСК: оказалось, что риск развития гипогонадизма в группе детей, получивших ТГСК до пубертата, возрастает в 3,51 раз (ДИ 0,75–16,45) через 5 лет от момента ТГСК по сравнению с группой во время пубертата ($p = 0,111$) (рис. 6).

Обсуждение

Наши результаты отражают известную картину дисфункции репродуктивной системы после алло-ТГСК. Спустя десятилетия стало очевидным выраженное гонадотоксическое влияние режимов кондиционирования с сочетанием двух алкиляторов (бусульфана и циклофосфамида, бусульфана и мелфалана), что привело к изменению схем кондиционирования в нашем центре, как и по всему миру. Снижены дозы токсичных препаратов, стараются избегать сочетания бусульфана с циклофосфамидом, ряд центров отказались от проведения ТОТ, во многих центрах применяют треоосульфана в качестве щадящего алкилирующего препарата (требуется проведение тщательных исследований его влияния на репродуктивную функцию).

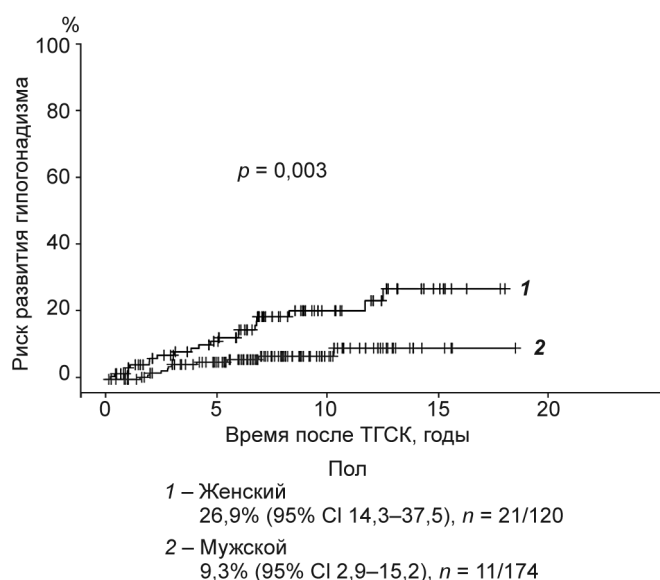


Рис. 4. Риск развития гипогонадизма в зависимости от пола.

Более высокий риск развития гипогонадизма у девочек приводит к активным попыткам проведения криопрезервации ткани яичников или витрификации яйцеклеток до ТГСК. Сочетание нескольких факторов риска, таких как злокачественное заболевание, проведение облучения ЦНС в анамнезе, использование бусульфана в кондицио-

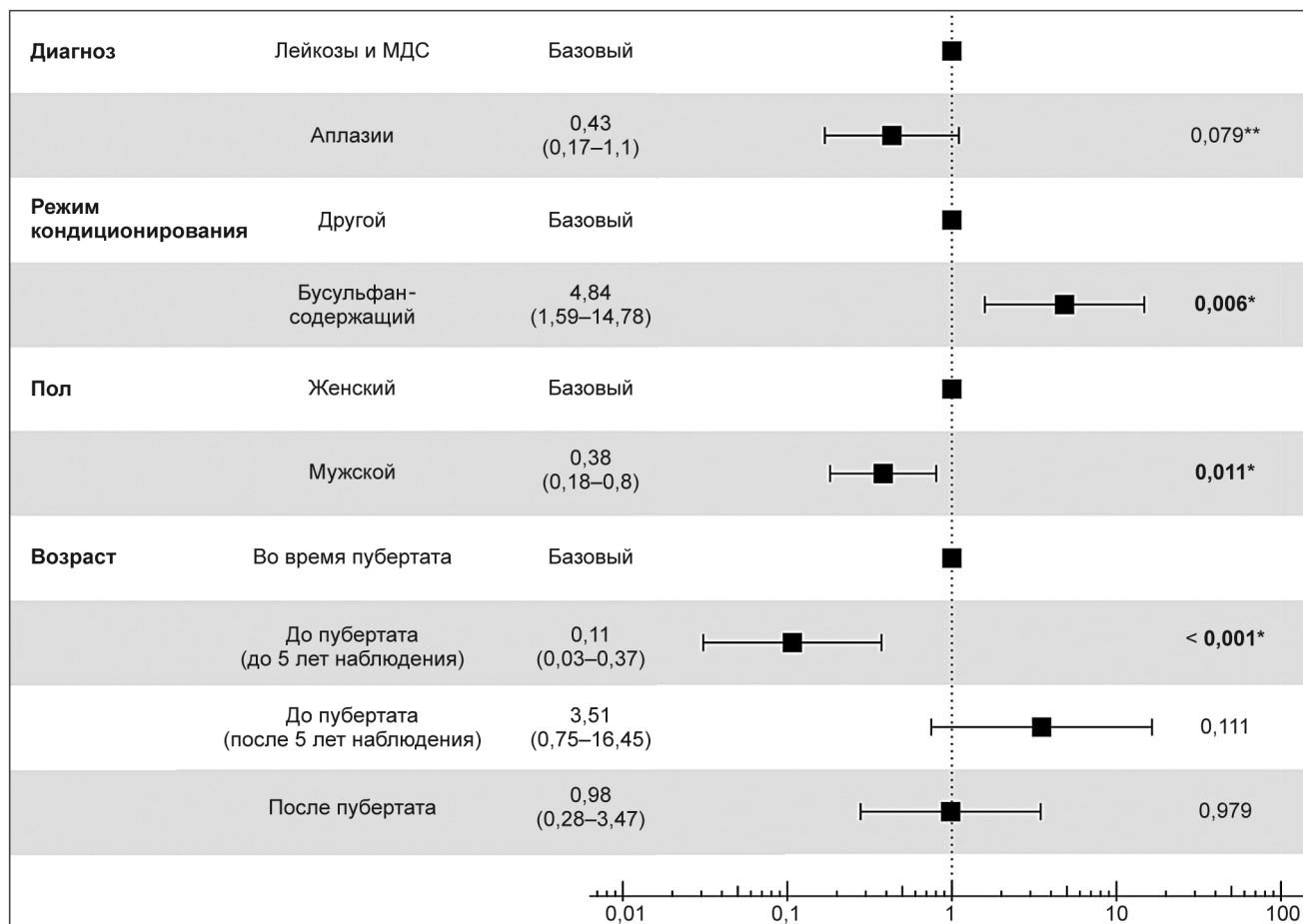


Рис. 5. Риск развития гипогонадизма в многофакторной модели Файна–Грея.

Модель демонстрирует, во сколько раз наличие каждого фактора увеличивает риск события по сравнению с наличием базового (вертикальная пунктирная линия).

Значения больше 1 – риск возрастает, меньше 1 – уменьшается.

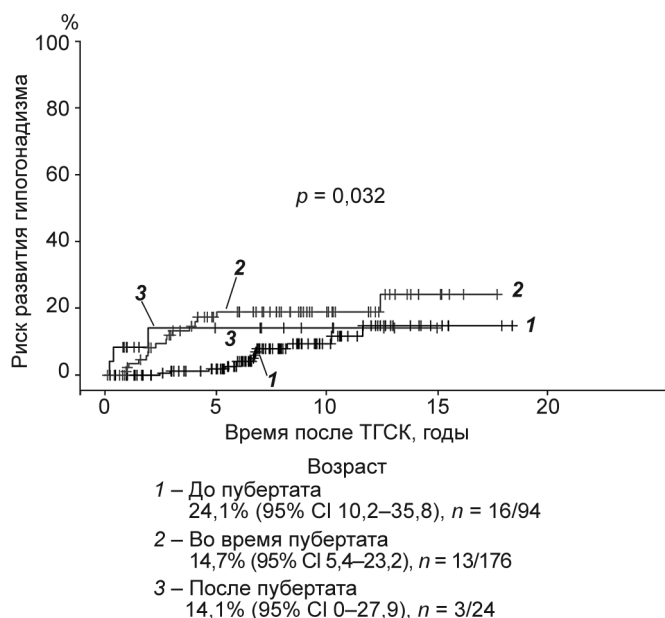


Рис. 6. Риск развития гипогонадизма в зависимости от периода полового созревания на момент ТГСК.

нировании, требует включения пациента в группу высокого риска развития ГГ с необходимостью тщательного мониторинга и своевременного назначения ЗГТ.

Наши наблюдения также показали значимость длительного контрольного обследования детей, перенесших алло-ТГСК в раннем детстве, в связи с тем, что они испытывают нарушения при вступлении в пубертат, а риск развития ГГ в данной группе возрастает в 3,5 раза по истечении 5 лет с момента ТГСК. Кроме того, для большинства повзрослевших реконвалесцентов проблемы фертильности становятся неожиданностью, так как родители стараются оберегать их от данной информации, и только половина врачей откровенно обсуждают вопросы бесплодия как следствия терапии неоплазий.

Истощение фолликулярного резерва у девушек может быть диагностировано с высокой точностью при определении показателей АМГ. Уровень АМГ отражает активность гранулезных клеток преантральных и антральных фолликулов и не зависит от фазы менструального цикла. Его определение является более надежным в оценке овариального резерва, чем визуализация антральных фолликулов при трансвагинальном УЗИ [54]. Мы наблюдали несколько девушек, имевших низкие показатели АМГ, несмотря на нормальные показатели гонадотропинов и восстановленный менструальный цикл. Та же зависимость отмечалась в отношении содержания В-ингибина и степени нарушения сперматогенеза у юношей: снижение В-ингибина статистически значимо свидетельствовало об азооспермии, несмотря на нормальные показатели гонадотропинов. Значения АМГ и В-ингибина имеют более высокую прогностическую значимость при исследовании фертильности, что следует учитывать при оценке репродуктивной системы и проведении семейного консультирования [55].

Несмотря на множество факторов риска, 8 наших бывших пациентов имеют детей (вероятность деторождения составила 3%, что является более высоким показателем, чем приводимые в литературе данные). Интересно, что только у половины этих больных применяли режимы кондиционирования со сниженной токсичностью, 4 больных получили миелоаблативные режимы с сочетанием двух алкиляторов и практически не имели шанса стать родите-

лями. Три девушки смогли реализовать репродуктивную функцию после проведения ЗГТ по поводу ГГ. Для девушки с ХМЛ восстановление функции яичников было ожидаемо, так как использовали щадящий режим кондиционирования. Пациентка с диагнозом АФ представляет уникальный случай, так как перенесла две алло-ТГСК, имела длительный период ЗГТ по поводу ГГ, да и развитие беременности у девушек с АФ само по себе является казуистической редкостью [56]. Случай беременности третьей девушки также удивителен и уже описан нами в литературе [57] (тогда она имела одну замершую беременность). Это пациентка с длительным лечением ОМЛ после облучения ЦНС в дозе 18 Гр, проведения алло-ТГСК с высокими дозами бусульфана и циклофосфида, перенесшая острую РТПХ IV стадии, длительную иммуносупрессивную терапию и развившая ГГ, потребовавший ЗГТ. Спустя год проведения ЗГТ у нее отмечалось восстановление менструальной функции, молодая женщина имела три беременности, одна из которых завершилась невынашиванием, а две последующие привели к рождению здоровых девочек.

Таким образом, несмотря на ожидаемую гонадотоксичность различных видов терапии, возможны случаи сохранения фертильности или восстановления ее на поздних сроках после алло-ТГСК, подходы должны быть индивидуальными в каждом случае. Окончательно вопрос фертильности решает только развитие спонтанной беременности или ее отсутствие.

С целью облегчения наблюдения и лечения детей после алло-ТГСК по месту жительства для каждого из них должен быть составлен отчет по перенесенной терапии с включением кумулятивных доз химиопрепаратов, объемов облучения для расчета степени риска развития той или иной патологии. Эта информация помогает как самому пациенту, так и клиницисту, наблюдающему его по месту жительства, и позволяет проводить регулярный целенаправленный скрининг и коррекцию нарушений. Группа детской онкологии (Children's Oncology Group, COG) разработала и периодически обновляет руководство по проведению мониторинга поздних осложнений вместе с материалами, содержащими рекомендации по оздоровлению [3].

С целью максимального сохранения репродуктивных способностей и предотвращения развития глубокого психологического дистресса реконвалесцентов вследствие потери способности к деторождению рекомендуется проводить тщательное обследование детей перед ТГСК с целью оценки факторов риска и подбора индивидуальных техник для сохранения фертильности.

В настоящее время Европейское общество трансплантации костного мозга (European Society of Blood and Marrow Transplantation) разработало специальное руководство по сохранению репродуктивных способностей в зависимости от возраста, пола, вида заболевания и характера терапии больных. Всем мальчикам в постпубертате рутинно предлагается забор спермы, реже — ткани яичка. Для девочек в постпубертате опцией является стимуляция и забор ооцитов (при возможности отсрочить гонадотоксичную терапию на 2 недели, необходимые для проведения данной процедуры). Для девочек до и после пубертата также предлагается осуществление забора ткани яичника.

Стандартный скрининг больных после алло-ТГСК в отношении репродуктивных функций должен проводиться каждые 6–12 мес и включает в себя: физикальный осмотр (гинеколог или уролог), УЗИ органов малого таза, исследование крови на гормоны (ФСГ, ЛГ для всех, эстрадиол и АМГ для женщин, тестостерон и ДГЭА-сульфат для мужчин), желательно определение костной минеральной плотности (денситометрия поясничного отдела позвоночника) ежегодно после ТГСК. Общей рекомендацией

для всех пациентов является воздержание от зачатия ребенка в течение минимум 6 мес от момента окончания ХТ, наступление беременности у девушек желательно не ранее, чем через 2 года от окончания терапии.

В настоящее время предпринимается множество попыток снижения токсичности кондиционирования и разработки новых методов сохранения фертильности. Задачей является сохранение эффективности лечебного воздействия кондиционирования при минимизации гонадотоксического влияния.

Требуется дополнительные исследования по схемам ЗГТ у пациентов, перенесших ТГСК в детстве, вопросам сохранения овариального резерва. Пациентам необходимо разъяснять риски бесплодия и проводить консультирование по вопросам деторождения, ЗГТ и контрацепции, мониторинга и лечения патологии репродуктивной сферы. Методики криопрезервации репродуктивных тканей должны быть предложены каждому пациенту и должны быть доступны для реализации. Важно обеспечить психологическое консультирование и социальную поддержку реконвалесцентов и их партнеров.

Осуществление тщательного мониторинга репродуктивной системы после алло-ТГСК зачастую недооценивается клиницистами, в то время как ее функционирование определяет благополучие и психологический комфорт пациентов. Поэтому следует уделять большое внимание этому вопросу и продолжать регулярные обследования функций половых желез у лиц репродуктивного возраста с целью поддержания репродуктивного здоровья и улучшения качества их жизни и социальной адаптации.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

53. Папуша Л.И., Балашов Д.Н., Тюльпаков А.Н., Скоробогатова Е.В., Курникова Е.Е., Сковрцова Ю.В., Масчан А.А. Половое развитие и функция гонад у детей и подростков после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с использованием различных режимов кондиционирования. *Онкогематология*. 2009; 2: 61–9.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

1. Smith M.A., Seibel N.L., Altekruse S.F., Ries L.A., Melbert D.L., O'Leary M., et al. Outcomes for children and adolescents with cancer: challenges for the twenty-first century. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(15): 2625–34. doi:10.1200/JCO.2009.27.0421.
2. Hudson M.M. Survivors of childhood cancer: coming of age. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 2008; 22(2): 211–31, v-vi. doi: 10.1016/j.hoc.2008.01.011.
3. Landier W., Bhatia S., Eshelman D.A., Forte K.J., Sweeney T., Hester A.L., et al. Development of risk-based guidelines for pediatric cancer survivors: the Children's Oncology Group Long-Term Follow-Up Guidelines from the Children's Oncology Group Late Effects Committee and Nursing Discipline. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22(24): 4979–90.
4. Hudson M.M. Reproductive outcomes for survivors of childhood cancer. *Obstet. Gynecol.* 2010; 116(5): 1171–83. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181f87e4b.
5. Majhail N.S., Rizzo J.D., Lee S.J., Aljurf M., Atsuta Y., Bonfim C., et al. Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation; Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR); American Society for Blood and Marrow Transplantation (ASBMT); European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT); Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation Group (APBMT); Bone Marrow Transplant Society of Australia and New Zealand (BMTSANZ); East Mediterranean Blood and Marrow Transplantation Group (EMBM); Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Ossea (SBTMO). *Hematol. Oncol. Stem Cell Ther.* 2012; 5(1): 1–30. doi: 10.5144/1658-3876.2012.1.
6. Müller J. Impact of cancer therapy on the reproductive axis. *Horm. Res.* 2003; 59(Suppl. 1): 12–20.
7. Thomson A.B., Critchley H.O., Kelnar C.J., Wallace W.H. Late reproductive sequelae following treatment of childhood cancer and options for fertility preservation. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002; 16(2): 311–34.
8. Dvorak C.C., Gracia C.R., Sanders J.E., Cheng E.Y., Baker K.S., Pulsipher M.A., Petryk A. NCI, NHLBI/PBMT first international conference on late effects after pediatric hematopoietic cell transplantation: endocrine challenges-thyroid dysfunction, growth impairment, bone health, and reproductive risks. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2011; 17(12): 1725–38. doi: 10.1016/j.bbmt.2011.10.006.
9. Bath L.E., Wallace W.H., Critchley H.O. Late effects of the treatment of childhood cancer on the female reproductive system and the potential for fertility preservation. *BJOG.* 2002; 109(2): 107–14.
10. Johnston R.J., Wallace W.H. Normal ovarian function and assessment of ovarian reserve in the survivor of childhood cancer. *Pediatr. Blood Cancer.* 2009; 53(2): 296–302. doi: 10.1002/pbc.22012.
11. Chemaitilly W., Mertens A.C., Mitby P., Whitton J., Stovall M., Yasui Y., et al. Acute ovarian failure in the childhood cancer survivor study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006; 91(5): 1723–8.
12. Sklar C.A., Mertens A.C., Mitby P., Whitton J., Stovall M., Kasper C., et al. Premature menopause in survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006; 98(13): 890–6.
13. Green D.M., Sklar C.A., Boice J.D. Jr., Mulvihill J.J., Whitton J.A., Stovall M., Yasui Y. Ovarian failure and reproductive outcomes after childhood cancer treatment: results from the Childhood Cancer Survivor Study. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(14): 2374–81. doi: 10.1200/JCO.2008.21.1839.
14. Sklar C. Maintenance of ovarian function and risk of premature menopause related to cancer treatment. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 2005; (34): 25–7.
15. Letourneau J.M., Ebbel E.E., Katz P.P., Oktay K.H., McCulloch C.E., Ai W.Z., et al. Acute ovarian failure underestimates age-specific reproductive impairment for young women undergoing chemotherapy for cancer. *Cancer.* 2012; 118(7): 1933–9. doi: 10.1002/cncr.26403.
16. Liu J., Malhotra R., Voltarelli J., Stracieri A.B., Oliveira L., Simoes B.P., Ball E.D., Carrier E. Ovarian recovery after stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41(3): 275–8.
17. Schimmer A.D., Quatermain M., Imrie K., Ali V., McCrae J., Stewart A.K., et al. Ovarian function after autologous bone marrow transplantation. *J. Clin. Oncol.* 1998; 16(7): 2359–63.
18. Howell S.J., Shalet S.M. Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 2005; (34): 12–7.
19. Brennan B.M., Shalet S.M. Endocrine late effects after bone marrow transplant. *Br J Haematol.* 2002 Jul; 118(1): 58–66. Review. No abstract available.
20. Ishiguro H., Yasuda Y., Tomita Y., Shinagawa T., Shimizu T., Morimoto T., et al. Gonadal shielding to irradiation is effective in protecting testicular growth and function in long-term survivors of bone marrow transplantation during childhood or adolescence. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 39(8): 483–90.
21. Sanders J.E., Hawley J., Levy W., Gooley T., Buckner C.D., Deeg H.J., et al. Pregnancies following high-dose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total-body irradiation and bone marrow transplantation. *Blood.* 1996; 87(7): 3045–52.
22. Bath L.E., Anderson R.A., Critchley H.O., Kelnar C.J., Wallace W.H. Hypothalamic-pituitary-ovarian dysfunction after prepubertal chemotherapy and cranial irradiation for acute leukaemia. *Hum. Reprod.* 2001; 16(9): 1838–44.
23. Orio F., Muscogiuri G., Palomba S., Serio B., Sessa M., Giudice V., et al. Endocrinopathies after allogeneic and autologous transplantation of hematopoietic stem cells. *Sci. World J.* 2014; 2014: 282147. doi: 10.1155/2014/282147.
24. Frey Tirri B., Hausermann P., Bertz H., Greinix H., Lawitschka A., Schwarze C.P., et al. Clinical guidelines for gynecologic care after hematopoietic SCT. Report from the international consensus project on clinical practice in chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant.* 2015; 50(1): 3–9. doi: 10.1038/bmt.2014.242.
25. Peigne M., Decanter C. Serum AMH level as a marker of acute and long-term effects of chemotherapy on the ovarian follicular content: a systematic review. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2014; 12: 26. doi: 10.1186/1477-7827-12-26.
26. Tauchmanova L., Salleri C., Rosa G.D., Pagano L., Orio F., Lombardi G., et al. High prevalence of endocrine dysfunction in long-term survivors after allogeneic bone marrow transplantation for hematologic diseases. *Cancer.* 2002; 95(5): 1076–84.
27. Andersson A.M., Petersen J.H., Jørgensen N., Jensen T.K., Skakkebaek N.E. Serum inhibin B and follicle-stimulating hormone levels as tools in the evaluation of infertile men: significance of adequate reference values from proven fertile men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89(6): 2873–9.
28. Molassiotis A., van den Akker O.B., Milligan D.W., Boughton B.J. Gonadal function and psychosexual adjustment in male long-term survivors of bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 16(2): 253–9.
29. Gharwan H., Neary N.M., Link M., Hsieh M.M., Fitzhugh C.D., Sherins R.J., Tisdale J.F. Successful fertility restoration after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Endocr. Pract.* 2014; 20(9): e157–61. doi: 10.4158/EP13474.CR.
30. Letourneau J.M., Ebbel E.E., Katz P.P., Katz A., Ai W.Z., Chien A.J., et al. Pretreatment fertility counseling and fertility preservation improve quality of life in reproductive age women with cancer. *Cancer.* 2012; 118(6): 1710–7. doi: 10.1002/cncr.26459.
31. Decanter C., Gligorov J. Oocyte/embryo cryopreservation before chemotherapy for breast cancer. *Gynecol. Obstet. Fertil.* 2011; 39(9): 501–3. doi: 10.1016/j.gyobfe.2011.07.011.
32. Revel A., Laufer N., Ben Meir A., Lebovich M., Mitrani E. Micro-organ ovarian transplantation enables pregnancy: a case report. *Hum. Reprod.* 2011; 26(5): 1097–103. doi: 10.1093/humrep/der063.
33. Lambertini M., Del Mastro L., Pescio M.C., Andersen C.Y., Azim H.A. Jr., Peccatori F.A., et al. Cancer and fertility preservation: international

- recommendations from an expert meeting. *BMC Med.* 2016; 14: 1. doi: 10.1186/s12916-015-0545-7.
34. Lee S.J., Schover L.R., Partridge A.H., Patrizio P., Wallace W.H., Hagerly K., et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *American Society of Clinical Oncology. J. Clin. Oncol.* 2006; 24(18): 2917–31.
 35. Loren A.W., Mangu P.B., Beck L.N., Brennan L., Magdalinski A.J., Partridge A.H., et al. Fertility preservation for patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *American Society of Clinical Oncology. J. Clin. Oncol.* 2013; 31(19): 2500–10. doi: 10.1200/JCO.2013.49.2678.
 36. Kucuk M., Bolaman A.Z., Yavasoglu I., Kadikoylu G. Fertility-preserving treatment options in patients with malignant hematological diseases. *Turk. J. Haematol.* 2012; 29(3): 207–16. doi: 10.5505/tjh.2012.72681.
 37. Vantghem M.C., Cornillon J., Decanter C., Defrance F., Karrouz W., Leroy C., et al.; Societe Francaise de Therapie Cellulaire. Management of endocrine-metabolic dysfunctions after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Orphanet. J. Rare Dis.* 2014; 9: 162. doi: 10.1186/s13023-014-0162-0.
 38. Chatterjee R., Kottaridis P.D. Treatment of gonadal damage in recipients of allogeneic or autologous transplantation for haematological malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 2002; 30(10): 629–35.
 39. Blumenfeld Z., Patel B., Leiba R., Zuckerman T. Gonadotropin-releasing hormone agonist may minimize premature ovarian failure in young women undergoing autologous stem cell transplantation. *Fertil. Steril.* 2012; 98(5): 1266–70. e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.07.1144.
 40. Cheng Y.C., Takagi M., Milbourne A., Champlin R.E., Ueno N.T. Phase II study of gonadotropin-releasing hormone analog for ovarian function preservation in hematopoietic stem cell transplantation patients. *Oncologist.* 2012; 17(2): 233–8. doi: 10.1634/theoncologist.2011-0205.
 41. Cornillon J., Decanter C., Couturier M.A., de Berranger E., François S., Hermet E., et al. Management of endocrine dysfunctions after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a report of the SFGM-TC on gonadal failure and fertility. *SFGM-TC. Pathol. Biol. (Paris).* 2013; 61(4): 164–7. doi: 10.1016/j.patbio.2013.07.008.
 42. Tichelli A., Roivo A. Fertility issues following hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Rev. Hematol.* 2013; 6(4): 375–88. doi: 10.1586/17474086.2013.816507.
 43. Donnez J., Dolmans M.M., Pellicer A., Diaz-Garcia C., Ernst E., Macklon K.T., Andersen C.Y. Fertility preservation for age-related fertility decline. *Lancet.* 2015; 385(9967): 506–7. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60198-2.
 44. Macklon K.T., Jensen A.K., Loft A., Ernst E., Andersen C.Y. Treatment history and outcome of 24 deliveries worldwide after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue, including two new Danish deliveries years after autotransplantation. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2014; 31(11): 1557–64. doi: 10.1007/s10815-014-0331-z.
 45. Dittich R., Hackl J., Lotz L., Hoffmann I., Beckmann M.W. Pregnancies and live births after 20 transplantations of cryopreserved ovarian tissue in a single center. *Fertil. Steril.* 2015; 103(2): 462–8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.10.045.
 46. Silber S., Pineda J., Lenahan K., DeRosa M., Melnick J. Fresh and cryopreserved ovary transplantation and resting follicle recruitment. *Reprod. Biomed. Online.* 2015; 30(6): 643–50. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.02.010.
 47. Salooja N., Szydlo R.M., Socie G., Rio B., Chatterjee R., Ljungman P., et al. Pregnancy outcomes after peripheral blood or bone marrow transplantation: a retrospective survey. Late Effects Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet.* 2001; 358(9278): 271–6.
 48. Cho W.K., Lee J.W., Chung N.G., Jung M.H., Cho B., Suh B.K., Kim H.K. Primary ovarian dysfunction after hematopoietic stem cell transplantation during childhood: busulfan-based conditioning is a major concern. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2011; 24(11–12): 1031–5.
 49. Byrne J., Rasmussen S.A., Steinhorn S.C., Connelly R.R., Myers M.H., Lynch C.F., et al. Genetic disease in offspring of long-term survivors of childhood and adolescent cancer. *Am. J. Hum. Genet.* 1998; 62(1): 45–52.
 50. Winther J.F., Boice J.D. Jr., Mulvihill J.J., Stovall M., Frederiksen K., Tawn E.J., Olsen J.H. Chromosomal abnormalities among offspring of childhood-cancer survivors in Denmark: a population-based study. *Am. J. Hum. Genet.* 2004; 74(6): 1282–5.
 51. Strahm B., Malkin D. Hereditary cancer predisposition in children: genetic basis and clinical implications. *Int. J. Cancer.* 2006; 119(9): 2001–6.
 52. Nakayama K., Liu P., Detry M., Schover L.R., Milbourne A., Neumann J., et al. Receiving information on fertility- and menopause-related treatment effects among women who undergo hematopoietic stem cell transplantation: changes in perceived importance over time. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009; 15(11): 1465–74. doi: 10.1016/j.bbmt.2009.07.019.
 53. Papusha L.I., Balashov D.N., Tyul'pakov A.N., Skorobogatova E.V., Kurnikova E.E., Skvortsova Yu.V., Maschan A.A. Sexual development and gonadal function in children and adolescents after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with the use of different conditioning regimens. *Oncohematology. Russian Journal (Onkogematologiya).* 2009; 2: 61–9. (in Russian)
 54. De Vet A., Laven F.H., Themmen A.P., Fauser B.C. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil. Steril.* 2002; 77(2): 357–62.
 55. Laporte S., Couto-Silva A.C., Trabado S., Lemaire P., Brailly-Tabard S., Esperou H., et al. Inhibin B and anti-Müllerian hormone as markers of gonadal function after hematopoietic cell transplantation during childhood. *BMC Pediatr.* 2011; 11: 20. doi: 10.1186/1471-2431-11-20.
 56. Nabhan S.K., Bitencourt M.A., Duval M., Abecasis M., Dufour C., Boudjedir K., et al. Fertility recovery and pregnancy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Fanconi anemia patients. *Aplastic Anaemia Working Party, EBMT. Haematologica.* 2010; 95(10): 1783–7. doi: 10.3324/haematol.2010.023929.
 57. Balashov D.N., Papusha L.I., Nazarenko T.A., Trakhtman P.E., Revishvili N.A., Maschan A.A., et al. Recovery of ovarian function and pregnancy in a patient with AML after myeloablative busulfan-based conditioning regimen. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2011; 33(4): e154–5. doi: 10.1097/MPH.0b013e3181faf7b5.

Поступила 11.09.17

Принята к печати 20.10.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616-008.331.1-053.2-092:612.115.12

Рычкова Л.В., Большакова С.Е., Гомелля М.В., Баирова Т.А., Бердина О.Н., Бугун О.В.

ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С НАЛИЧИЕМ ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА У ПОДРОСТКОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, г. Иркутск, Россия

Сердечно-сосудистые заболевания остаются важнейшей причиной смертности во всем мире. Среди них наиболее распространенным заболеванием является эссенциальная артериальная гипертензия (ЭАГ), которая в России регистрируется у 40% взрослого населения и у 2,4–18% детей и подростков. Исследования, посвященные изучению нарушений в системе гемостаза у больных с ЭАГ, свидетельствуют о возможности формирования протромботических изменений (ПТИ). В настоящее время большинство исследований посвящено изучению этиопатогенеза ЭАГ у детей и подростков, а также ассоциированных с ней патологий. При этом все чаще регистрируются случаи тромботических осложнений ЭАГ у педиатрических пациентов, а факторы, влияющие на возникновение предшествующих тромбозу ПТИ у подростков с ЭАГ, четко не определены.

Цель исследования – оценить факторы, потенциально увеличивающие частоту возникновения ПТИ у подростков с ЭАГ.

Материал и методы. У 97 подростков-европеоидов (14–17 лет) с ЭАГ, проживающих на территории Восточной Сибири, изучали особенности генеалогического анамнеза, показателей суточного мониторинга уровня артериального давления (СМАД), коагуляционные нарушения системы гемостаза и структуру полиморфизмов генов тромбофилии по данным клинико-анамнестического, функционального и лабораторного исследований. 60 подростков не имели ПТИ (1-я клиническая группа), 37 подростков имели ПТИ (2-я клиническая группа). Контрольную выборку составили 40 здоровых подростков, сопоставимых по полу и возрасту с пациентами клинических групп.

Результаты проведенного исследования позволяют с большой долей вероятности предположить, что отягощенный тромботический генеалогический анамнез, наличие стабильной артериальной гипертензии (САГ) по данным СМАД, повышение уровня тромбинемии, аллельные варианты 677CT и 677T гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*) вносят значительный вклад в возникновение ПТИ при ЭАГ у подростков.

Заключение. Учитывая мультифакториальность гемостазиологических изменений у педиатрических пациентов с сердечно-сосудистой патологией, необходимы дальнейшие научные изыскания в данной области для разработки подходов к профилактике и лечению подобных состояний с позиции персонализированной медицины.

Ключевые слова: протромботические изменения; гемостаз; полиморфизмы генов тромбофилии; эссенциальная артериальная гипертензия; подростки.

Для цитирования: Рычкова Л.В., Большакова С.Е., Гомелля М.В., Байрова Т.А., Бердина О.Н., Бугун О.В. Факторы, ассоциированные с наличием протромботических изменений в системе гемостаза у подростков с эссенциальной артериальной гипертензией. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(3): 134-140. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-134-140>

Rychkova L.V., Bolshakova S.E., Gomellya M.V., Bairova T.A., Berdina O.N., Bugun O.V.

FACTORS ASSOCIATED WITH PROTHROMBOTIC CHANGES IN ADOLESCENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, 664003, Russian Federation

Cardiovascular diseases (CVDs) are the major cause of worldwide mortality. The most common CVD is essential hypertension (EH), which is registered in 40% of the adult population and 2.4–18% of children and adolescents in Russia. The study of hemostatic status in hypertensive patients indicates to the prothrombotic changes (PTC). Both EH and hemostatic disorders are known to be heredity associated. However factors related to PTC in adolescents with EH are not clearly defined.

The aim of the study was to evaluate factors potentially increasing the frequency of PTC in adolescents with EH.

Material and methods. The heritability, indices of blood pressure monitoring (BPM), hemostasis disorders and thrombophilia gene polymorphisms are studied in 97 Caucasian adolescents (aged of 14–17 years) with EH, living in the Eastern Siberia. 60 adolescents had no PTC (1st clinical group), 37 adolescents had PTC (2nd clinical group). Forty healthy age- and gender-matched adolescents are controls.

Results. We revealed an important contribution of strong family history of thrombosis, stable arterial hypertension, thrombinemia, C/T and T/T allele carriage C677T *MTHFR* gene to the development of PTC in adolescents with EH.

Conclusion. Bearing in mind multifactoriality hemostatic changes in pediatric patients with cardiovascular diseases, the further researches in this are necessary.

Key words: prothrombotic changes; hemostasis; thrombophilia gene polymorphisms; essential hypertension; adolescents.

For citation: Rychkova L.V., Bolshakova S.E., Gomellya M.V., Bairova T.A., Berdina O.N., Bugun O.V. Factors associated with prothrombotic changes in adolescents with essential hypertension. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiology)*. 2017; 62(3): 134-140. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-134-140>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Received 12 October 2017

Accepted 20 October 2017

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются важнейшей причиной смертности во всем мире. В 2012 г. от ССЗ умерли 17,5 млн человек, что составило 31% от всех случаев смерти в мире. Из этого числа 7,4 млн человек умерли от ишемической болезни сердца и 6,7 млн – в результате инсульта. По оценкам ВОЗ, к 2030 г. от ССЗ умрет около 23,3 млн человек – в основном от болезней

сердца и инсульта, которые, по прогнозам, останутся единственными основными причинами смерти [1]. Наиболее распространенным ССЗ является эссенциальная артериальная гипертензия (ЭАГ), которая в России регистрируется у 40% взрослого населения [2] и у 2,4–18% детей и подростков [3, 4], характеризуется многообразием факторов риска и непредсказуемостью течения [5].

Исследования, посвященные изучению нарушений в системе гемостаза у больных с ЭАГ, свидетельствуют о возможности формирования протромботических изменений (ПТИ), которые могут привести к возникновению опасных для жизни тромботических осложнений (ишемический инсульт, инфаркт миокарда, тромбоз поверхностных и глубоких вен и др.), непосредственно связанных с ранней инвалидизацией и смертностью взрослых больных [6, 7]. Частота тромбозов в популяции высока и составляет 1 случай на 1000 человек [1]. Российская Федерация имеет один из самых высоких показателей смертности от инсультов в мире, при этом люди моложе 45 лет с инсультами составляют 5–15% [8].

Исследования последних лет показали, что проблема тромбозов актуальна и для педиатрии, поскольку различ-

Для корреспонденции:

Большакова Светлана Евгеньевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории педиатрии и нейрофизиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, г. Иркутск, Россия. E-mail: sebol@bk.ru

For correspondence:

Bolshakova Svetlana E., MD, PhD, researcher of Pediatrics and Neurophysiology Laboratory of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, 664003, Russian Federation. E-mail: sebol@bk.ru

Information about authors:

Rychkova L.V., <http://orcid.org/0000-0001-5292-0907>; Bolshakova S.E., <http://orcid.org/0000-0002-3104-4212>; Gomellya M.V., <http://orcid.org/0000-0002-0441-4548>; Bairova T.A., <http://orcid.org/0000-0003-3704-830X>; Berdina O.N., <http://orcid.org/0000-0003-0930-6543>; Bugun O.V., <http://orcid.org/0000-0002-2162-3683>.

ные тромботические осложнения у детей и подростков встречаются часто, а последствия перенесенного тромбоза крайне тяжелы [9, 10]. У лиц с ЭАГ в среднем школьном возрасте нарушение мозгового кровообращения отмечается в 7% случаев, а в возрасте 15–18 лет достигает 10% [11].

ЭАГ и нарушения в системе гемостаза имеют наследственную предрасположенность и комплекс молекулярно-генетических маркеров [12]. Тем не менее, на сегодняшний день не определены факторы, играющие роль в возникновении предшествующих тромбозу ПТИ у подростков с ЭАГ.

Таким образом, рост числа тромбозов во всех возрастных группах, отмечаемый в последние годы, открытие новых молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к тромбозам, трудности ранней диагностики изменений в системе гемостаза и их вклад в течение и прогрессирование многих заболеваний, очень высокая потенциальная опасность тромбогеморрагических нарушений, а также разноречивость результатов проведенных ранее исследований определяют актуальность изучения факторов, ассоциированных с развитием ПТИ у подростков с ЭАГ.

Цель исследования – оценить факторы, потенциально увеличивающие частоту возникновения ПТИ у подростков с ЭАГ.

Материал и методы

Было обследовано 97 подростков в возрасте 14–17 лет с ЭАГ, проживающих на территории Восточной Сибири (60 подростков с ПТИ – 1-я клиническая группа, 37 подростков без ПТИ – 2-я клиническая группа). У всех обследуемых изучали особенности генеалогического анамнеза, показателей суточного мониторинга артериального давления (СМАД), коагуляционные нарушения системы гемостаза и структуру полиморфизмов генов тромбофилии по данным клиничко-анамнестического, функционального и лабораторного исследований.

Диагноз ЭАГ был установлен на основании клиничко-инструментальных критериев в соответствии с классификацией, разработанной экспертной группой Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК, 2003) и Ассоциацией детских кардиологов России (2003) и верифицирован с помощью проведения СМАД.

Оценку показателей артериального давления (АД) осуществляли по таблицам перцентильного распределения АД в зависимости от возраста, пола и роста в соответствии с рекомендациями по «Диагностике, лечению и профилактике артериальной гипертензии у детей и подростков» Всероссийского научного общества кардиологов (2003). В качестве нормальных принимали показатели систолического АД (САД) и диастолического АД (ДАД) 10–89% кривой распределения АД в популяции для соответствующего возраста, пола и роста; уровень САД и/или ДАД в пределах 90–94% оценивали как высокое нормальное АД; высокими считали значения САД и/или ДАД свыше 95% кривой распределения АД в популяции для соответствующего возраста, пола и роста.

Разделение пациентов с ЭАГ на две клинические группы осуществляли по наличию или отсутствию ПТИ. Подростки были отнесены в группу с наличием ПТИ, если у них имелись изменения по одному или нескольким показателям системы гемостаза: укорочение активированного частичного тромбопластинного времени (АЧТВ), снижение протромбина по Квику, укорочение тромбинового времени (ТВ), повышение концентрации фибриногена, повышение показателей растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК). Под изменениями понимали отклонение значения от референтного значения для данного показателя. За референтные значения принимали: АЧТВ 28–40 с, протромбин по Квику 70–140%, ТВ 14–21 с, фибриноген 2–4 г/л, РФМК 3–6 мг/дл. Изменения учитывали как значимые для АЧТВ менее 28 с, для протромбина по Квику менее 70%, для ТВ менее 14 с, для фибриногена более 4 г/л, для РФМК более 6 мг/дл.

Включенные в исследование подростки не принимали лекарственных препаратов, влияющих на уровень АД и систему гемостаза.

Критериями исключения из исследования являлись: наличие симптоматической (вторичной) формы артериальной гипертензии, «гипертонии белого халата», вегетососудистой дистонии по гипертензивному типу, принадлежность к неславянской этнической группе или происхождение от смешанных браков, прием лекарственных препаратов, острые инфекционные заболевания.

Контрольную группу составили 40 здоровых подростков, которые в двух предыдущих поколениях не имели родственников с ЭАГ и/или принадлежащих к неславянской этнической группе, не предъявляли жалоб на повышение АД, показатели АД при многократном измерении и по данным суточного мониторинга не превышали 89% кривой распределения АД для соответствующего возраста, пола и роста.

Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», перед включением в исследование все подростки (а за лиц, не достигших 15-летнего возраста, – их родители) подписывали информированное согласие.

В ходе проведенного исследования применяли следующие методы: клиничко-анамнестический, в том числе генеалогический, функциональные, лабораторные, математико-статистические. Особое внимание при сборе анамнеза жизни уделялось наличию тромботического анамнеза в семье (с уточнением линии родства). Для количественной оценки отягощенности семейного тромботического анамнеза рассчитывали индекс отягощенности (ИО), определяемый отношением общего количества эпизодов тромбоза у кровных родственников пробанда, о которых есть сведения (А), к общему числу всех родственников (Б), исключая пробанда ($ИО = А/Б$). При значении ИО 0–0,2 степень отягощенности анамнеза считали низкой, 0,3–0,5 – умеренной, 0,6–0,8 – выраженной, 0,9 и выше – высокой.

СМАД с определением основных параметров проводили в течение 24 ч на аппарате Oscar 2 для системы OXFORD Medilog Prima.

Лабораторные методы исследования: оценка показателей коагуляционного гемостаза на автоматическом коагулометре STA-R Evolution («Roche Diagnostics», Швейцария) с наборами реагентов фирмы «Roche» (Швейцария) (АЧТВ, протромбин по Квику в %, ТВ, концентрация фибриногена, РФМК); определение полиморфизмов генов тромбофилии – ген протромбина (FII), аномалия Лейдена (FV), ген VII фактора свертывания крови (FVII), ген ингибитора активатора плазминогена 1-го типа (PAI-1), ген 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), ген метионинсинтазы-редуктазы (MTRR), – методом полимеразной цепной реакции с последующим изучением полиморфизма длин рестрикционных фрагментов с использованием комплектов реагентов SNP-экспресс фирмы «Литех» (Россия) по протоколу производителя.

Статистический анализ проведен с помощью электронных таблиц Excel и пакета прикладных программ Biostat и Statistica версия 6.0 («StatSoft», США). Для количественных признаков использовали оценку средних арифметических: среднее (M), среднеквадратичное отклонение (SD). Для описания распределений, не являющихся нормальными, применяли медиану и перцентили – Me (25%; 75%). Данные представляли в виде $M \pm \sigma$. Для проверки нормальности распределения использовали критерии Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Сравнения количественных и порядковых переменных проводили с применением параметрического t -критерия Стьюдента и непараметрических критериев Краскела–Уоллиса, Манна–Уитни (U), Вилкоксона (W). В случаях категориальных переменных оценивали значение χ^2 -критерия Пирсона, учитывая степени свободы (df), и точного критерия Фишера при численности хотя бы в одной из групп менее 5. Взаимосвязи между качественными признаками анализировали с помощью парных таблиц сопряженности: отношения шансов (ОШ) и двусторонних 95% доверительных интервалов (ДИ). Значимость рассчитывали с учетом критического значения $p < 0,05$.

Результаты

Анализируемый контингент клинических групп был сопоставим по возрасту и полу. Средний возраст подростков в 1-й клинической группе составил $15,5 \pm 0,4$ года, соотношение мальчиков и девочек составило 71,7 и 28,3%

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей у обследованных подростков

Ген, полиморфизм	Генотип и аллель	Частоты генотипов и аллелей исследуемых полиморфизмов						p_1	p_2
		здоровые подростки ($n = 40$)		подростки с ЭАГ без ПТИ ($n = 60$)		подростки с ЭАГ и ПТИ ($n = 37$)			
		абс.	%	абс.	%	абс.	%		
<i>FII</i> , G20210A	GG							—	—
	GA							—	—
	AA	40	100	59	98,3	37	100	—	—
	G	80	100	119	99,2	74	100	—	—
	A	0		1	0,8	0		—	—
<i>FV</i> , R506Q	RR	39	97,5	59	98,3	1	97,3	—	—
	RQ	1	2,5	1	1,7	0	2,7	—	—
	QQ	0		0				—	—
	R	79	98,7	119	99,2	73	98,6	—	—
	Q	1	1,3	1	0,8	1	1,4		
<i>FVII</i> , R353Q	RR	30	75	48	80	32	86,5	0,89	0,45
	RQ	8	20	11	18,3	5	13,5	0,61	0,74
	QQ	2	5	1	1,7	0			
	R	68	85	107	89,2	69	93,2	0,28	0,26
	Q	12	15	13	10,8	5	6,8	0,08	0,3
<i>PAI-1</i> , -675 4G5G	5G5G	20	50	27	45	13	35,2	0,79	0,41
	5G4G	16	40	23	38,3	17	45,9	0,57	0,75
	4G4G	4	10	10	16,7	7	18,9	0,73	0,52
	5G	56	70	77	64,2	43	58,1	0,67	0,31
	4G	24	30	43	35,8	31	41,9	0,12	0,78
<i>C677T</i> , <i>MTHFR</i>	CC	24	60	32	53,3	8	21,6	0,65	0,001
	CT	15	37,5	26	43,3	25	67,8	0,71	0,02
	TT	1	2,5	2	3,4	4	10,8	0,47	0,18
	C	63	78,7	90	75	41	55,4	0,45	0,34
	T	17	21,3	30	25	33	44,6	0,33	0,003
<i>A1298C</i> , <i>MTHFR</i>	AA	25	62,5	29	48,3	16	43,2	0,15	0,20
	AC	11	27,5	25	41,7	16	43,2	0,15	0,27
	CC	4	10	6	10	5	13,6	0,34	0,84
	A	61	76,3	83	69,2	48	64,9	0,46	0,29
	C	19	23,7	37	30,8	26	35,1		
<i>A66G</i> , <i>MTRR</i>	AA	22	55	26	43,3	13	35,1	0,13	0,21
	AG	13	32,5	23	38,3	15	40,6	0,59	0,75
	GG	5	12,5	11	18,3	9	24,3	0,34	0,41
	A	57	71,3	75	62,5	41	55,4		
	G	23	28,7	45	37,5	33	44,6	0,18	0,12

Примечание. Здесь и в табл. 2: уровень значимости, полученный при сравнении частот аллелей или генотипов: p_1 – между контрольной группой и группой подростков с ЭАГ и ПТИ; p_2 – между 1-й и 2-й клиническими группами. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($p < 0,05$).

соответственно; во 2-й клинической группе – $16 \pm 0,8$ года, 67,6% мальчиков и 32,4% девочек; здоровых подростков (группа контроля) – 65% мальчиков и 35% девочек, средний возраст $15,8 \pm 0,9$ года.

В проведенном нами исследовании случаев тромботического осложнения среди обследованных подростков не наблюдалось.

Изучение семейного анамнеза всех обследованных подростков в трёх поколениях показало, что с наибольшей частотой отягощенный семейный тромботический анамнез был отмечен в группе подростков с ЭАГ и ПТИ – 67,6%, что статистически значимо различалось от показателей частоты встречаемости тромбозов у родственников подростков с ЭАГ без ПТИ – 40% (ОШ 2,2; ДИ 1,28–2,99; $p < 0,05$) и группы контроля – 17,5% (ОШ 9,8; ДИ 5,1–7,3; $p < 0,05$).

Средние значения ИО семейного тромботического анамнеза среди подростков, имеющих родственников с тромбозами, были выше у подростков с ЭАГ, чем у здо-

ровых: в 1-й клинической группе – $0,28 \pm 0,09$, во 2-й клинической группе – $0,36 \pm 0,15$, в контрольной группе – $0,23 \pm 0,10$ ($H = 7,50$; $p < 0,05$). При попарном сравнении групп статистически значимые различия были выявлены между 1-й и 2-й группой, а также контролем и 2-й клинической группой ($U = 185$; $Z = 2,3$; $p < 0,05$ и $U = 41,5$; $Z = 2,1$; $p < 0,05$ соответственно).

Сравнительный анализ параметров СМАД позволил установить, что стабильная форма ЭАГ отмечалась у 67,6% подростков с гипертензией, имеющих ПТИ, и у 43,3% обследуемых без сдвигов в системе коагуляции (ОШ 2,7; ДИ 1,85–3,55; $p < 0,05$), тогда как лабильная ЭАГ наблюдалась у 32,4 и 56,7% соответственно (ОШ 0,51; ДИ 0,41–0,75; $p < 0,05$). Также у подростков с ЭАГ, имеющих и не имеющих ПТИ, средние значения АД и ЧСС были значимо более высокие, чем у здоровых подростков. При этом во все периоды обследования данные показатели были наиболее высокими у подростков с ЭАГ и изменениями в системе гемостаза.

Таблица 2

Комбинации полиморфизмов C677T, A1298C и A66G генов фолатного цикла в группах подростков

Комбинация полиморфизмов	Подростки						p_1	p_2
	здоровые ($n = 40$)		с ЭАГ без ПТИ ($n = 60$)		с ЭАГ и ПТИ ($n = 37$)			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%		
C677T + A1298C + A66G	3	7,5	9	15	8	21,6	0,04	0,33
C677T + A1298C	3	7,5	8	13,3	6	16,2	0,45	0,79
C677T + A66G	6	15	10	16,7	12	32,4	0,1	0,08

Исследование показателей коагуляционного гемостаза у подростков с ЭАГ и ПТИ свидетельствовало об интенсификации процессов внутрисосудистого свертывания по сравнению с испытуемыми как 1-й клинической группы, так и группы контроля: активация внутреннего пути свертывания – укорочение АЧТВ, ($31,69 \pm 4,22$ с против $32,89 \pm 2,21$ с и $33,53 \pm 2,68$ с соответственно; $p < 0,05$), активация внешнего пути свертывания – снижение протромбина по Квику ($80,24 \pm 6,65\%$, против $81,53 \pm 6,32\%$ и $82,42 \pm 4,55\%$ соответственно; $p < 0,05$), активация общего пути свертывания – укорочение ТВ ($16,87 \pm 2,18$ с против $17,39 \pm 1,40$ с и $17,57 \pm 1,29$ с соответственно; $p < 0,05$). Значимые различия между 2-й, 1-й и контрольной группами были обусловлены уровнем тромбоцитоза – увеличением концентрации РФМК ($7,51 \pm 1,95$ г/дл против $4,60 \pm 0,71$ г/дл; $p < 0,05$ и $4,31 \pm 0,95$ г/дл соответственно; $p < 0,05$) и фибриногена ($3,51 \pm 0,78$ г/л против $3,16 \pm 0,46$ г/л и $3,01 \pm 0,56$ г/л; $p < 0,05$ соответственно), что свидетельствует о скрытой гиперкоагуляции.

Распределение частот генотипов во всех выборках соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. В табл. 1 представлены результаты, полученные при анализе распределения частот аллелей и генотипов изученных полиморфизмов.

Между подростками трёх исследуемых групп не выявлены значимые различия частот полиморфизмов коагуляционных факторов (G20210A, R506Q и R353Q), фибринолитической системы (-675 4G/5G) и ферментов фолатного обмена (A1298C и A66G). В настоящем исследовании была показана ассоциация полиморфизма C677T гена *MTHFR* с развитием ПТИ при ЭАГ. Установлено, что носительство данного полиморфизма в 2,5 раза

увеличивает риск развития ПТИ (ОШ 2,5; ДИ 1,7–2,6; $p < 0,05$). При попарном сравнительном анализе выявлено статистически значимое повышение частоты встречаемости генотипа СТ гена *MTHFR* в группе подростков с ЭАГ и ПТИ (67,8%) по сравнению с группой пациентов с ЭАГ без ПТИ (43,3%; ОШ 2,7; ДИ 2,15–3,25; $p < 0,05$), а также с группой здоровых подростков (37,5%; ОШ 3,5; ДИ 2,8–4,0; $p < 0,05$). Частота аллеля Т полиморфизма C677T гена *MTHFR* среди пациентов с ЭАГ также преобладала у подростков 2-й клинической группы (ОШ 2,5; ДИ 1,89–3,1; $p < 0,05$). Несмотря на то что распределение генотипа ТТ гена *MTHFR* в анализируемых группах статистически значимо не различалось, наиболее часто гомозиготная форма полиморфизма встречалась также у пациентов с ЭАГ и ПТИ. Значимых различий по частоте встречаемости генотипов СС и СТ и аллеля С полиморфизма C677T гена *MTHFR* между пациентами с ЭАГ без ПТИ и контрольной выборкой не выявлено.

Также выявлено сочетание нескольких полиморфизмов генов различных компонентов системы гемостаза и их комплексное влияние на процессы свертывания (табл. 2). Прослеживается тенденция к большей частоте выявления носительства неблагоприятных генотипов и аллелей, а также сочетания нескольких полиморфных генов во 2-й клинической группе по сравнению с 1-й клинической группой (ОШ 1,5; ДИ 0,59–2,4; $p > 0,05$). При этом выявлены значимые различия в частоте встречаемости комбинированных форм носительства у пациентов с ЭАГ и ПТИ по сравнению с контрольной выборкой (ОШ 3,3; ДИ 2,4–4,08; $p < 0,05$).

Заключительным этапом нашего исследования стало изучение взаимосвязи полиморфизма C677T гена *MTHFR* с показателями АД и коагуляционного гемостаза у подростков с гипертензией.

В табл. 3 приведены сравнительные результаты изучения показателей АД по данным СМАД у пациентов-носителей аллеля Т (генотипы СТ и ТТ) полиморфизма C677T гена *MTHFR*.

Из проанализированных показателей АД внутригрупповых различий в зависимости от носительства нормального или патологического генотипа не выявлено. При межгрупповом сравнении данных показателей среди пациентов – носителей неблагоприятных генотипов СТ и ТТ статистически значимые различия получены по показателям среднелюточного и средненочного ДАД и индекс времени гипертензии САД в дневное и ночное время. Отме-

Таблица 3

Взаимосвязь генотипов СТ и ТТ полиморфизма C677T гена *MTHFR* с параметрами СМАД у подростков с гипертензией ($M \pm \sigma$)

Параметр	Подростки с ЭАГ и ПТИ (n = 37)		Подростки с ЭАГ без ПТИ (n = 60)		p_1	p_2	p_3	p_4
	СТ и ТТ (n = 29)	СС (n = 8)	СТ и ТТ (n = 28)	СС (n = 32)				
САД среднелюточное, мм рт. ст.	$138,7 \pm 7,3$	$138 \pm 6,5$	$134,8 \pm 9,1$	$133,9 \pm 8,5$	0,76	0,59	0,08	0,10
ДАД среднелюточное, мм рт. ст.	$79,3 \pm 7,1$	$79,9 \pm 4,5$	$74,9 \pm 5,5$	$75,1 \pm 6,1$	0,82	0,94	0,02	0,05
САД средненочное, мм рт. ст.	$117,8 \pm 7,8$	$120,4 \pm 11,9$	$115,9 \pm 7,8$	$112,8 \pm 6,5$	0,91	0,29	0,24	0,17
ДАД средненочное, мм рт. ст.	$62,3 \pm 8,1$	$66,7 \pm 5,4$	$58,1 \pm 5,9$	$58,1 \pm 6,4$	0,09	0,81	0,03	0,001
ИБ САД днем, %	$59,5 \pm 22,3$	$68,5 \pm 23,8$	$44,4 \pm 23,8$	$40,6 \pm 24,5$	0,27	0,49	0,01	0,01
ИБ САД ночью, %	$50,1 \pm 26,2$	$65,7 \pm 34,7$	$36,2 \pm 26,8$	$27,6 \pm 21,3$	0,12	0,23	0,03	0,01
ИБ ДАД днем, %	$25,9 \pm 16,1$	$24,5 \pm 11,9$	$19,9 \pm 16,4$	$23,4 \pm 17,2$	0,91	0,42	0,12	0,65
ИБ ДАД ночью, %	$25,9 \pm 22,8$	$28 \pm 23,3$	$20,7 \pm 23,5$	$22,2 \pm 20,2$	0,85	0,44	0,22	0,47

Примечание. Здесь и в табл. 4: уровень значимости, полученный при сравнении параметров СМАД: p_1 – между группой подростков с ЭАГ и ПТИ – носителями генотипов СТ и ТТ и группой подростков с ЭАГ и ПТИ – носителями генотипа СС; p_2 – между группой подростков с ЭАГ без ПТИ – носителями генотипов СТ и ТТ и группой подростков с ЭАГ без ПТИ – носителями генотипа СС; p_3 – между группой подростков с ЭАГ и ПТИ – носителями генотипов СТ и ТТ и группой подростков с ЭАГ без ПТИ – носителями генотипов СТ и ТТ; p_4 – между группой подростков с ЭАГ и ПТИ – носителями генотипа СС и группой подростков с ЭАГ без ПТИ – носителями генотипа СС. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($p < 0,05$).

Таблица 4

Взаимосвязь генотипов СТ и ТТ полиморфизма С677Т гена *MTHFR* с показателями коагуляционного гемостаза у подростков с гипертензией ($M \pm \sigma$)

Показатель	Подростки с ЭАГ и ПТИ ($n = 37$)		Подростки с ЭАГ без ПТИ ($n = 60$)		P_1	P_2	P_3	P_4
	СТ и ТТ ($n = 29$)	СС ($n = 8$)	СТ и ТТ ($n = 28$)	СС ($n = 32$)				
АПТВ, с	$31,9 \pm 3,8$	$30,8 \pm 5,6$	$33,1 \pm 1,9$	$32,8 \pm 2,4$	0,82	0,57	0,43	0,81
Протромбин по Квику, %	$80,1 \pm 7,5$	$80,6 \pm 1,9$	$80,9 \pm 6,2$	$82,1 \pm 6,5$	1,00	0,61	0,95	0,80
ТВ, с	$16,9 \pm 2,4$	$17,1 \pm 1,3$	$17,5 \pm 1,4$	$17,3 \pm 1,4$	0,49	0,44	0,35	0,73
Фибриноген, г/л	$3,6 \pm 0,8$	$3,1 \pm 0,5$	$3,1 \pm 0,5$	$3,2 \pm 0,4$	0,15	0,48	0,03	0,61
РФМК, г/дл	$7,9 \pm 2,0$	$6,2 \pm 0,9$	$4,8 \pm 0,6$	$4,4 \pm 0,7$	0,01	0,02	0,0001	0,0001

чены значимо более высокие значения данных параметров у обладателей аллеля Т в гомо- и гетерозиготной форме в сравнении с носителями нормального генотипа СС.

Закономерен вопрос о вкладе полиморфизма С677Т гена *MTHFR* в реализацию измененного коагуляционного потенциала у подростков с ЭАГ и ПТИ.

Исследование показателей коагуляционного гемостаза выявило значимо более выраженные гемостазиологические сдвиги, предрасполагающие к избыточному тромбообразованию, у пациентов – носителей неблагоприятных генотипов СТ и ТТ при сравнении как внутри групп, так и между группами исследования. При этом у данной когорты пациентов выявлены более высокие показатели концентрации фибриногена и РФМК в крови (табл. 4).

Обсуждение

Выявленные нами особенности семейного тромботического анамнеза у подростков с ЭАГ и изменениями гемостаза подтверждают вклад наследственного фактора в развитие ПТИ, увеличивающих риск возникновения тромботических осложнений. В результате анализа полученных данных СМАД в трех исследуемых группах установлено, что в большей степени сдвиги в системе гемостаза были обусловлены длительностью влияния гемодинамического фактора в виде повышения показателей АД в течение суток, о чем свидетельствует значимо большая частота встречаемости стабильной формы ЭАГ среди пациентов с изменениями гемостаза, чем у испытуемых без гемокоагуляционных сдвигов. Оценка показателей коагуляционного гемостаза показала, что у подростков с ЭАГ имеется тенденция к гиперкоагуляции, о чем свидетельствует значимое повышение концентрации фибриногена и РФМК. Результаты, полученные в ходе молекулярно-генетического исследования, не позволяют сделать однозначных выводов о влиянии полиморфизмов генов свертывающих факторов (FII, FV и FVII), фибринолитической системы (PAI-I) и ферментов фолатного обмена (A1298C и A66G) на генетическую предрасположенность к развитию ПТИ у подростков с ЭАГ, так как значимых различий по распределению генотипов и аллелей между группами не выявлено, а частотные характеристики были сопоставимы с распространенностью в популяции и данными других авторов [13–15]. Вместе с тем, отсутствие значимых различий между группами исследования не опровергает возможного вклада изученных полиморфизмов в развитие ПТИ в силу мультифакторной природы развития данного состояния. Возможно сочетание нескольких полиморфизмов генов различных компонентов системы гемостаза и их комплексное влияние на процессы свертывания. Кроме того, отсутствие статистически значимого различия между группами по изучаемым показателям может объясняться недостаточностью выборки исследования. Между тем, прослеживалась тенденция к большей частоте выявления носительства неблагоприятных генотипов

и аллелей, а также сочетания нескольких полиморфных генов, в группе подростков с ЭАГ и ПТИ по сравнению с другими группами исследования. В настоящем исследовании была показана ассоциация полиморфизма С677Т гена *MTHFR* с развитием ПТИ при ЭАГ. Установленные в ходе нашего исследования взаимосвязи между параметрами СМАД, показателями гемостаза и наличием неблагоприятных вариантов полиморфизма С677Т позволяют предположить, что носители генотипов СТ и ТТ имеют более выраженные гемодинамические и коагуляционные изменения, увеличивающие риск тромбообразования. По нашему мнению, это может быть обусловлено повреждающим воздействием гомоцистеина на эндотелий и снижением атромбогенности сосудистой стенки в результате нарушения метаболизма данной аминокислоты, вследствие наследственного снижения активности фермента *MTHFR*.

Выводы

1. Результаты проведенного исследования позволяют с большой долей вероятности предположить, что отягощенный семейный тромботический анамнез, наличие САГ по данным СМАД, повышенный уровень тромбинемии, наличие аллельных вариантов СТ и ТТ полиморфизма С677Т гена *MTHFR* вносят значительный вклад в возникновение ПТИ при ЭАГ у подростков.

2. У подростков с ЭАГ, являющихся носителями генотипов СТ и ТТ полиморфизма С677Т гена *MTHFR*, выше риск развития тромботических осложнений за счет более выраженных гемодинамических и коагуляционных изменений.

3. Учитывая мультифакториальность гемостазиологических изменений у подростков с кардиоваскулярной патологией, необходимы дальнейшие научные изыскания в данной области для разработки подходов к профилактике и лечению подобных состояний с позиции персонализированной медицины.

Финансирование. Финансовой поддержки исследование не имело.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- ВОЗ. Сердечно-сосудистые заболевания. Информационный бюллетень №317, январь 2015 г. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/ru/> (дата обращения: 06.02.17)
- Оганов Р.Г., Тимофеева Т.Н., Колтунов И.Е., Константинов В.В., Балашова Ю.А., Капустина А.В. и др. Эпидемиология артериальной гипертензии в России. Результаты федерального мониторинга 2003–2010 г. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2011; 1: 9–13.
- Александров А.А., Бубнова М.Г., Кисляк О.А., Конь И.А., Леонтьева И.В., Розанов В.Б. и др. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний в детском и подростковом возрасте. Российские рекомендации. *Российский кардиологический журнал*. 2012; 6: 1–39.
- Riley M., Blum B. High blood pressure in children and adolescents. *Am. Fam. Physician*. 2012; 85(7): 693–700.
- Колесникова Л.И., Долгих В.В., Поляков В.М., Рычкова Л.В. *Проблемы психосоматической патологии детского возраста*. Новосибирск: Наука; 2005.
- Козловская И.Л., Булкина О.С., Карпов Ю.А. Лечение резистентной артериальной гипертензии: новые перспективы. *Русский медицинский журнал. Кардиология*. 2012; 25: 1238–43.

7. Hamm C.W., Bassand J.P., Agewall S., Bax J., Boersma E., Bueno H., et al.; ESC Committee for Practice Guidelines. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2011; 32(23): 2999–3054.
8. Баркаган З.С., Момот А.П. *Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза*. М.: Ньюдиамед; 2006.
9. Долгих В.В., Гомелля М.В., Филиппов Е.С., Рычкова А.В. Особенности коагуляционного гемостаза и фибринолиза при эссенциальной артериальной гипертензии у детей. *Кардиология*. 2015; 55(11): 69–72.
10. Brady T.M., Feld L.G. Pediatric approach to hypertension. *Semin. Nephrol.* 2009; 29(4): 379–88.
11. Barbato J.E., Zuckerbraun B.S., Overhaus M. Nitric oxide modulates vascular inflammation and intimal hyperplasia in insulin resistance and metabolic syndrome. *J. Physiol. Heart. Circ.* 2005; 289(1): 228–36.
12. Баирова Т.А., Колесникова Л.И., Долгих В.В., Бимбаев А.Б., Шадрин Н.А. Полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента и его роль в реализации эссенциальной и симптоматической артериальной гипертензии. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2009; 88(5): 37–42.
13. Жданова Л.В., Щербак М.Ю., Решетняк Г.М., Патрушев Л.И., Александрова Е.Н., Алдаров А.Б. Причины ишемических инсультов у детей и подростков. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2011; 90(5): 88–90.
14. Постнов А.Ю., Гончарова Л.Н., Хасанова З.Б., Бирлюкова Д.В., Конавалова Н.В., Тимошкина Е.И. и др. Изучение генетических маркеров тромбоза у лиц с артериальной гипертензией титульного населения Республики Мордовия. *Архив патологии*. 2009; 71(4): 34–6.
15. Scazzone C., Acuto S., Guglielmini E., Campisi G., Bono A. Methionine synthase reductase (MTRR) A66G polymorphism is not related to plasma homocysteine concentration and the risk for vascular disease. *Exp. Mol. Pathol.* 2009; 86(2): 131–3.
3. Aleksandrov A.A., Bubnova M.G., Kislyak O.A., Kon I.A., Leonteva I.V., Rozanov V.B., et al. Prevention of cardiovascular diseases in childhood and adolescence. Russian recommendations. *Russian Journal of Cardiology (Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal)*. 2012; 6: 1–39. (in Russian)
4. Riley M., Bluhm B. High blood pressure in children and adolescents. *Am. Fam. Physician*. 2012; 85(7): 693–700.
5. Kolesnikova L.I., Dolgikh V.V., Polyakov V.M., Rychkova L.V. *Psychosomatic pathology problems in children*. Novosibirsk: Science; 2005. (in Russian)
6. Kozlovskaya I.L., Bulkina O.S., Karpov Yu.A. Treatment-resistant hypertension: a new perspective. *Russian Medical Journal. Cardiology (Russkiy meditsinskiy zhurnal. Kardiologiya)*. 2012; 25: 1238–43. (in Russian)
7. Hamm C.W., Bassand J.P., Agewall S., Bax J., Boersma E., Bueno H., et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2011; 32(23): 2999–3054.
8. Barkagan Z.S., Momot A.P. *Diagnosis and therapy controlled hemostasis disorders*. Moscow: Nyudiamed; 2006. (in Russian)
9. Dolgikh V.V., Gomelya M.V., Filippov E.S., Rychkova A.V. Features of coagulation and fibrinolysis in essential hypertension in children. *Cardiology. Russian Journal (Kardiologiya)*. 2015; 55(11): 69–72. (in Russian)
10. Brady T.M., Feld L.G. Pediatric approach to hypertension. *Semin. Nephrol.* 2009; 29(4): 379–88.
11. Barbato J.E., Zuckerbraun B.S., Overhaus M. Nitric oxide modulates vascular inflammation and intimal hyperplasia in insulin resistance and metabolic syndrome. *J. Physiol. Heart. Circ.* 2005; 289(1): 228–36.
12. Bairova T.A., Kolesnikova L.I., Dolgikh V.V., Bimbaev A.B., Shadrina N.A. Polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene and its role in implementation of essential and symptomatic hypertension. *Pediatrics Russian Journal n.a. G.N. Speransky (Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo)*. 2009; 88(5): 37–42. (in Russian)
13. Zhdanova L.V., Shcherbakova M.Yu., Reshetnyak G.M., Patrushev L.I., Aleksandrova E.N., Aldarov A.B. The causes of ischemic strokes in children and adolescents. *Pediatrics Russian Journal n.a. G.N. Speransky (Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo)*. 2011; 90(5): 88–90. (in Russian)
14. Postnov A.Yu., Goncharova L.N., Khasanova Z.B., Birlyukova D.V., Konovalova N.V., Timoshkina E.I., et al. The study of genetic markers of thrombosis in persons with arterial hypertension of the titular population of the Republic of Mordovia. *Archive of pathology. Russian journal (Arhiv patologii)*. 2009; 71(4): 34–6. (in Russian)
15. Scazzone C., Acuto S., Guglielmini E., Campisi G., Bono A. Methionine synthase reductase (MTRR) A66G polymorphism is not related to plasma homocysteine concentration and the risk for vascular disease. *Exp. Mol. Pathol.* 2009; 86(2): 131–3.

REFERENCES

© ЮРОВА Е.В., СЕМОЧКИН С.В., 2017

УДК 616-006.87-031.13-06:616.12

Юрова Е.В., Семочкин С.В.

МНОЖЕСТВЕННАЯ МИЕЛОМА, ОСЛОЖНЕННАЯ СОПУТСТВУЮЩЕЙ КАРДИОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия

Материал и методы. В период с марта 2008 г. по май 2010 г. в исследование включены 148 больных (69 мужчин и 79 женщин) множественной миеломой (ММ). Обязательным условием было наличие у всех (100%) пациентов значимой кардиологической патологии. Медиана возраста составила 64,7 года (разброс 36,3–82,7). Работа выполнена в ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина» (Москва), которая является клинической базой ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России.

Больных разделили на две группы: 1-я – с впервые диагностированной ММ ($n = 72$), 2-я – с рецидивирующей или рефрактерной ММ ($n = 76$). По поводу ММ проводили терапию бортезомиб-содержащими схемами VCD, VMP или VD.

В результате проведенного лечения получен общий ответ: частичная ремиссия у 46 (65,7%) и 44 (59,5%) соответственно, полная ремиссия у 16 (22,9%) и строгая полная ремиссия у 15 (20,3%) больных. При медиане наблюдения 4,9 года показатель 5-летней общей выживаемости (ОВ) по группам составил $22,8 \pm 5,3\%$ и $17,3 \pm 4,4\%$ ($p = 0,295$), медиана ОВ составила 40,0 и 31,8 мес соответственно. При многофакторном анализе только общий статус по шкале ECOG не менее 2 показал независимое негативное прогностическое значение в отношении как бессобытийной (отношение рисков – ОР 1,69; $p = 0,006$), так и ОВ (ОР 1,76; $p = 0,003$).

Закключение. Применение бортезомиб-содержащих схем у больных ММ с сопутствующей кардиопатологией не приводило к ухудшению состояния сердечно-сосудистой системы.

К л ю ч е в ы е с л о в а: множественная миелома; бортезомиб; кардиотоксичность; кардиологическая патология.

Для цитирования: Юрова Е.В., Семочкин С.В. Множественная миелома, осложненная сопутствующей кардиологической патологией. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(3): 140–146. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-140-146>

Yurova E.V., Semochkin S.V.

MULTIPLE MYELOMA COMPLICATED BY CONCOMITANT CARDIAC PATHOLOGY

N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation

Material and methods. 148 patients (69 males, 79 females) with multiple myeloma (MM) and cardiac pathology were included in the study during March 2008 – May 2010. The median age of patients was 64.7 years (ranges 36.3–82.7). The patients were divided in two groups. In the first group the patients with *de novo* with MM ($n = 72$) were included. The patients with relapsed or refractory MM (RR; $n = 76$) were included in the second group.

Results. The bortezomib-containing regimens (VCD, VMP or VD) were used as anti-myeloma treatment. The overall response was documented in 65.7% and 59.5% cases including complete (CR) and strong complete remission (sCR) in 22.9% and 20.3% cases respectively. For a median follow-up of 4.9 years for the comparison groups, the 5-year overall survival (OS) was $22.8 \pm 5.3\%$ and $17.3 \pm 4.4\%$ ($p = 0.295$). The median OS was 40 and 31.8 months respectively. In multivariate analysis only ECOG scores ≥ 2 were demonstrated an independent negative prognostic value both for the event-free survival (Hazard ratio 1.69; $p = 0.006$) and OS (Hazard ratio 1.76; $p = 0.003$).

Conclusion. The bortezomib-based treatment of MM patients with concomitant cardiac pathology was not accompanied by an increase in the incidence of cardiovascular adverse events.

Key words: multiple myeloma; bortezomib; cardiotoxicity; cardiac pathology.

For citation: Yurova E.V., Semochkin S.V. Multiple myeloma complicated by concomitant cardiac pathology. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(3): 140-146. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-140-146>

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 12 October 2017

Accepted 20 October 2017

Множественная миелома (ММ) – второе по распространенности онкогематологическое заболевание. В 2015 г. в России было диагностировано 3622 новых случая ММ, причем максимальная заболеваемость – 10,53 случаев на 100 тыс. населения – была зарегистрирована в когорте людей в возрасте от 70 до 74 лет [1]. Доступность новых методов лечения ММ привела к улучшению общей выживаемости (ОВ). Согласно данным отдельных исследователей, текущая медиана ОВ для пациентов, у которых впервые диагностирована ММ, в России составляет более 5 лет [2].

Больные ММ часто имеют сопутствующую сердечно-сосудистую патологию, обусловленную предрасполагающими факторами (возраст, избыточная масса тела, курение, гиперхолестеринемия), накопленными коморбидностями (артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца – ИБС, сахарный диабет и хроническая обструктивная болезнь легких), собственно ММ и кардиотоксичностью препаратов, используемых для ее лечения. Пожилой возраст является наиболее значимым фактором риска кардиологических осложнений, а учитывая, что средний возраст на момент установления диагноза ММ составляет около 65 лет, он приобретает особую значимость [3].

Осложнениями ММ, которые определяют риск поражения сердечно-сосудистой системы, являются анемия [4], гипервискозный синдром [5], систолическая сердечная недостаточность [6], почечная недостаточность [7], а также зачастую не диагностируемый прижизненно

AL-амилоидоз сердца [8]. Применение антрациклинов может приводить к нарушениям ритма, дилатационной кардиомиопатии и хронической сердечной недостаточности (ХСН) [9]. Миоперикардиты, острая кардиомиопатия, тромбозы и снижение фракции выброса левого желудочка могут быть связаны с использованием алкилирующих агентов [10]. Иммуномодуляторы в комбинации с дексаметазоном приводят к венозным и артериальным тромбозам [11]. Терапия ингибиторами протеасомы может осложняться нарушениями ритма, инфарктом миокарда, ХСН и артериальной гипертензией [12]. Высокодозная химиотерапия и трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) приводят к ИБС, кардиомиопатиям и ХСН [10].

Больных ММ с сопутствующей кардиологической патологией, даже молодого возраста, обычно не рассматривают в качестве кандидатов для ауто-ТГСК. Сопутствующая кардиологическая патология является препятствием для включения в клинические исследования, поэтому для этой категории неизвестна реальная эффективность противомиеломной терапии.

Цель работы – анализ эффективности стандартных bortezomib-содержащих программ лечения для больных ММ с сопутствующей кардиологической патологией в условиях реальной клинической практики.

Материал и методы

В период с марта 2008 г. по май 2010 г. в исследование включены 148 больных ММ (69 мужчин и 79 женщин). Медиана возраста составила 64,7 года (разброс 36,3–82,7 года), 79 (53,4%) пациентов были старше 65 лет. Работа выполнена в ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина» (Москва), которая является клинической базой ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. Больных разделили на две группы: 1-я группа – с впервые диагностированной ММ ($n = 72$, из них 46 женщин и 26 мужчин, средний возраст 64,8 года), 2-я группа – с рецидивирующей или рефрактерной ММ ($n = 76$, из них 41 женщина и 35 мужчин, средний возраст 64,7 года). Обязательным условием было наличие у всех пациентов клинически значимой сердечно-сосудистой патологии

Для корреспонденции:

Сёмочкин Сергей Вячеславович, доктор мед. наук, профессор, руководитель Университетской клиники гематологии «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия. E-mail: semochkin_sv@rsmu.ru

For correspondence:

Semochkin Sergey V., MD, PhD, DSci., Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation. E-mail: semochkin_sv@rsmu.ru

Information about authors:

Yurova E.V., <http://orcid.org/0000-0002-3064-5112>;

Semochkin S.V., <http://orcid.org/0000-0002-8129-8114>.

Таблица 1

Характеристика пациентов на момент включения в исследование

Параметр	Впервые диагностированная ММ (n = 72)		Рецидивирующая или рефрактерная ММ (n = 76)	
	абс.	%	абс.	%
Демографические сведения:				
Медиана возраста (разброс), годы	64,8 (41,0–82,7)	64,7 (36,3–80,6)		
Женщины	46	63,9	41	53,9
Мужчины	26	36,1	35	46,1
Общий статус по шкале ECOG:				
0–1	36	50	31	40,8
2–4	36	50	45	59,2
Стадия по Durie-Salmon:				
2A–2B	12	16,7	5	6,6
3A	31	43,1	33	43,4
3B	29	40,3	38	50
Клиренс креатинина по формуле Кокрофта–Голта менее 40 мл/мин	16	22,2	16	21,1
Медиана СКД-EPI (разброс), мл/мин/1,73м ²	62 (3–110)	60 (4–102)		
Изотип секретируемого парапротеина:				
IgA	14	19,4	11	14,5
IgD	1	1,4	1	1,3
IgG	50	69,4	58	76,3
IgM	1	1,4	0	0
BJ*	5	6,9	5	6,6
несекретирующая миелома	1	1,4	1	1,3
λ-легкие цепи	29	40,3	24	31,6
κ-легкие цепи	41	56,9	50	65,8
Анемия:				
Нб менее 100 г/л	27	37,5	29	38,2
Сопутствующая сердечно-сосудистая патология:				
ИБС	51	70,8	58	76,3
стенокардия напряжения	26	36,1	21	27,6
ПИКС**	9	12,5	6	7,9
аритмии	10	13,9	12	15,8
нарушения проводимости	3	4,2	7	9,2
ХСН (все степени)	39	54,2	47	61,8
базисная терапия ХСН, включая β-АБ	16	22,2	19	20,5
Гипертоническая болезнь (II–III стадия)	62	86,1	61	80,3
Индекс массы тела 25 и более	38	52,8	43	56,6
Пороки сердца	2	2,8	0	0

Примечания. * – белок Бенс-Джонса; ** – постинфарктный кардиосклероз.

Таблица 2

Оценка противоопухолевого ответа по терапевтическим группам

Параметр	Впервые диагностированная ММ n = 70*		Рецидивирующая или рефрактерная ММ n = 74**	
	абс.	%	абс.	%
ПР/сПР	16	22,9	15	20,3
≥ ОХЧР	28	40	27	36,5
≥ ЧР	46	65,7	44	59,5
Терапия по программе VMP	n = 22		n = 14	
ПР/сПР	4	18,2	3	21,1
≥ ОХЧР	9	40,9	4	28,6
≥ ЧР	16	72,7	10	71,4
Терапия по программе VCD	n = 38		n = 57	
ПР/сПР	9	23,7	12	21,1
≥ ОХЧР	16	42,1	22	38,6
≥ ЧР	23	60,5	38	66,7

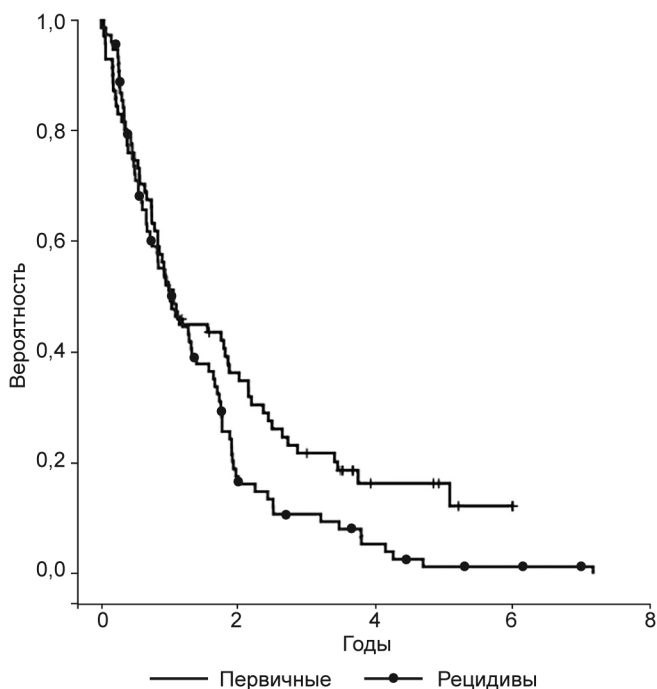
Примечание. * – 2 больных умерли в 1-е сутки терапии; ** – по техническим причинам ответ не был оценен у 2 больных.

(100% пациентов). Исследование носило наблюдательный характер, но предусматривало проспективную регистрацию всех вошедших в анализ пациентов. Лечение проводилось при непосредственном участии авторов данной публикации и отражает условия реальной практики в указанные годы. На входе в исследование пациентов не рассматривали в качестве потенциальных кандидатов для ауто-ТГСК, однако в последующем риски оценивали повторно.

Для клинического стадирования использовали систему Durie-Salmon [13]. Больным с рецидивирующей или рефрактерной ММ допускалось различное специфическое предшествующее лечение, включая применение мелфалана в высоких дозах, антрациклинов и бортезомиба. Перед началом диагностических и терапевтических процедур все пациенты подписывали информированное согласие в соответствии с правилами локальной практики.

Больные получали терапию бортезомиб-содержащими 21-дневными схемами разной интенсивности: VCD (бортезомиб 1,3 мг/м² внутривенно в дни 1, 4, 8 и 11-й; циклофосфамид 500 мг внутривенно в дни 1, 8 и 15-й или по 50 мг в сутки перорально в дни 1–21-й; дексаметазон 20 мг в дни 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11 и 12-й); VMP (бортезомиб 1,3 мг/м² внутривенно в дни 1, 4, 8 и 11-й; мелфалан 9 мг/м² в дни 1–4-й; преднизолон 60 мг/м² в дни 1–4-й); VD (бортезомиб 1,3 мг/м² внутривенно в дни 1, 4, 8 и 11-й; дексаметазон 20 мг в дни 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11 и 12-й).

Наличие периферической нейропатии и ее тяжесть оценивали перед началом каждого цикла терапии. При нейропатии 2-й степени дозу бортезомиба снижали на 25% (до 1 мг/м²). При 3-й степени лечение бортезомибом не проводили до того времени, пока осложнение не разрешится до 1-й степени, редуцируя дозу при последующих введениях на 50% (до 0,7 мг/м²). Дозы бортезомиба менее 0,7 мг/м² не применяли. С целью профилактики герпетической инфекции применялся ацикловир в дозе 800 мг в день на всем протяжении лечения бортезомибом. Использование бисфосфонатов, стимуляторов лейко- и эритропоэза допускалось. Ответ на лечение оценивали в соответствии с критериями IMWG (2006) [14]. Нежелательные явления классифицированы в соответствии с системой NCIC-CTC (версия 4.0) [15]. Степень тяжести ХСН оценивали по Нью-Йоркской классификации [16]. ОВ рассчитывали от момента начала терапии соответствующей линии до смерти или временной точки, когда неизвестно, жив ли пациент. Бессобытийную выживаемость (БСВ) оценивали от даты начала лечения до любого отрицательного события или до даты последней явки больного. Под событием понимали прогрессирование или рецидив, смену терапии вследствие ее неэффективности (отсутствие минимального или лучшего ответа) или осложнений, смерть от любой причины, а также возникновение второй опухоли или любого другого позднего осложнения лечения, угрожающего жиз-



Группа	n	Потерины	События	5-летняя БССВ, %	Медиана БССВ, мес
Первичные	72	3	58	16,4±4,7	12
Рецидивы	76	0	74	1,4±1,3	12,6
				p = 0,039	

Рис. 1. Бессобытийная выживаемость.

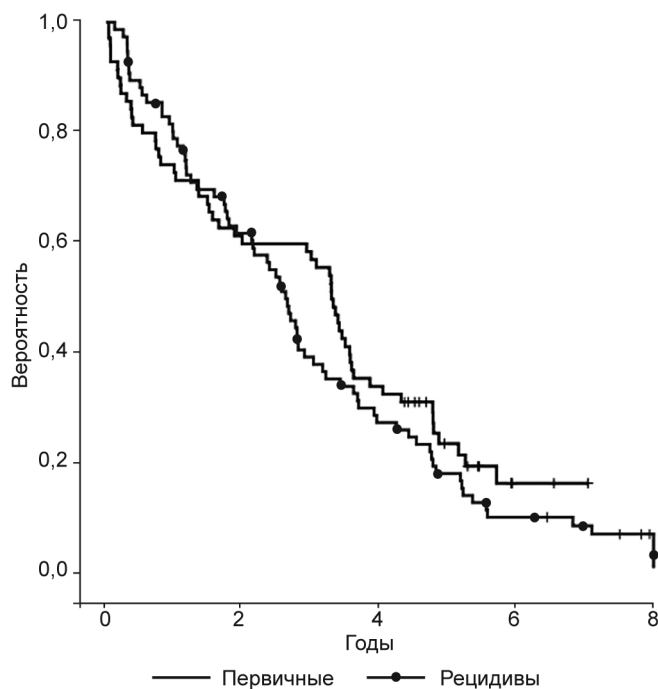
Вероятность 5-летней БССВ для группы с впервые диагностированной ММ составила 16,4 ± 4,7% (n = 72) с медианой 12 мес; для группы с рефрактерной или рецидивирующей ММ – 1,4 ± 1,3% (n = 76) с медианой 12,6 мес; БССВ – бессобытийная выживаемость.

ни. Показатели выживаемости рассчитывали с помощью метода Каплана–Мейера. Анализ прогностической значимости отдельных клинических и лабораторных признаков проводили в отношении показателей ОВ и БССВ с помощью метода регрессии Кокса с расчетом отношения рисков (ОР) и 95%-ного доверительного интервала (ДИ) [17]. Статистический анализ проводили с помощью программы SPSS (версия 23.0).

Результаты

Инициальные клинические и биологические характеристики 148 пациентов, включенных в анализ, представлены в **табл. 1**. Общий соматический статус по шкале ECOG от 2 баллов и выше на момент включения в исследование имел 81 (54,7%) пациент. Признаки почечной недостаточности, определяемые как снижение расчетного клиренса креатинина по формуле Кокрофта–Голта менее 40 мл/мин, подтверждены у 32 (21,6%) больных. Самым частым иммунохимическим вариантом была ММ с секретцией IgG – у 108 (73%) больных.

Верифицированный диагноз ИБС на момент включения был у 109 (73,6%) пациентов, включая стенокардию напряжения – у 47 (31,8%), постинфарктный кардиосклероз – у 15 (10,1%), клинически значимые нарушения ритма – у 22 (14,9%) и нарушения проводимости – у 10 (6,8%). Симптомы ХСН определялись у 86 (58,1%) больных, но только 35 (23,6%) получали по этому поводу базисную терапию, в том числе β-адреноблокаторы (β-АБ). При анализе структуры и частоты кардиопатологии не выявлено каких-либо различий между пациентами с впервые диагностированной и с рецидивирующей или рефрактерной ММ.



Группа	n	Потерины	Живы	5-летняя ОВ, %	Медиана ОВ, мес
Первичные	72	3	14	22,8±5,3	40
Рецидивы	76	0	4	17,3±4,4	31,8
				p = 0,295	

Рис. 2. Общая выживаемость.

Вероятность 5-летней ОВ для группы с впервые диагностированной ММ составила 22,8 ± 5,3% (n = 72) с медианой 40 мес; для группы с рефрактерной или рецидивирующей ММ – 17,3 ± 4,4% (n = 76) с медианой 31,8 мес. Медиана наблюдения за выжившими пациентами на момент проведения анализа составила 4,9 года.

В группе с рецидивирующей или рефрактерной ММ у большинства больных в анамнезе одна линия предшествующей терапии (медиана 1, разброс 1–6). Алкилирующие агенты получали 66 (86,1%) больных, антрациклины – 51 (67,1%), бортезомиб – 44 (57,9%), иммуномодуляторы – 2 (2,6%). Рефрактерное течение ММ к 1-й линии терапии наблюдалось у 7 (9,2%) больных, а у 11 (14,5%) отмечен ранний рецидив заболевания с продолжительностью ответа менее 12 мес. Медиана времени от начала 1-й линии терапии до включения в исследование составила 2,1 года (разброс 0,4–7,6).

В группе с впервые диагностированной ММ терапия по программе VD проведена 10 пациентам (13,9%), VMP – 22 (30,5%) и VCD – 38 (52,8%). Ауто-ТГСК удалось реализовать у 6 (8,3%) больных. 2 (2,8%) пациента умерли в 1-е сутки терапии. Для пациентов с рецидивирующей или рефрактерной ММ применяли программу VCD – 57 (75%), VMP – 14 (18,4%) и реже VD – 5 (6,6%).

Анализ непосредственной эффективности лечения отражен в **табл. 2**. Ответ на терапию оценен у 70 (97,2%) из 72 пациентов в группе ВД ММ и у 74 (97,4%) из 76 пациентов группы с рецидивирующей или рефрактерной ММ. Общий ответ в виде ≥ частичная ремиссия (ЧР) получен у 65,7 и 59,5% больных. Полная ремиссия (ПР) и строгая ПР (сПР) подтверждены у 22,9 и 20,3% больных соответственно. Не выявлено каких-либо различий по частоте и глубине ответа у больных, получавших терапию VMP или VCD (p > 0,05).

Анализ БССВ и ОВ иллюстрируется на **рис. 1 и 2**. Показатель 5-летней БССВ был значимо лучше для паци-

Таблица 3

Анализ нежелательных явлений, связанных с терапией

Нежелательное явление	Впервые диагностированная ММ (n = 55)				Рецидивирующая или рефрактерная ММ (n = 63)			
	все		3-я степень и более		все		3-я степень и более	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Нейтропения	17	32	9	16,3	20	37	13	20,6
Тромбоцитопения	13	23,6	5	9	17	27	9	14,3
Анемия	11	20	5	9	18	28,5	10	15,8
Слабость и астения	16	29	2	3,6	22	34,9	5	7,9
Инфекционные осложнения	18	32,7	8	14,5	26	41,3	14	22,2
Гастроинтестинальные	18	32,7	3	5,5	7	11,1	2	3,2
Повышение АЛТ/АСТ	5	9,1	0	0	6	9,5	0	0
Гипергликемия	6	10,9	4	7,3	3	4,8	1	1,6
Кардиологические* (стенокардия, нарушения ритма и проводимости)	3	5,5	1	1,8	2	3,2	2	3,2
Артериальная гипертензия*	12	21,8	9	16,4	10	15,9	8	12,7
Тромботические осложнения	2	3,6	1	1,8	3	4,8	2	3,2
Психические нарушения	1	1,8	1	1,8	1	1,6	1	1,6
Периферическая нейропатия	26	47,2	4	7,3	29	46	8	12,7

Примечание. * – новые события или увеличение степени тяжести ранее существовавшей патологии.

ентов с впервые диагностированной ММ по сравнению с рецидивирующей или рефрактерной ММ ($16,4 \pm 4,7\%$ против $1,5 \pm 1,3\%$; $p = 0,039$), в то время как медиана БСВ между группами не различалась (12 и 12,6 мес). При медиане наблюдения 4,9 года показатель 5-летней ОВ по группам сравнения составил $22,8 \pm 5,3\%$ и $17,3 \pm 4,4\%$ соответственно ($p = 0,295$). Медиана ОВ у больных с впервые диагностированной ММ составила 40 мес, с рецидивирующей или рефрактерной ММ 31,8 мес.

Характеристика нежелательных явлений, связанных с проведенным лечением, представлена в табл. 3. Наиболее частыми осложнениями 3–4-й степени были проявления гематологической токсичности: нейтропения у 22 (18,6%); анемия у 15 (12,7%), тромбоцитопения у 14 (11,9%), а также инфекционные осложнения у 22 (18,6%) больных. Впервые возникшие проявления ИБС (стенокардия, нарушение ритма и проводимости) или увеличение степени тяжести ранее существовавших состояний всех степеней отмечено у 5 (4,2%) пациентов, 3-й степени и выше у 3 (2,5%); артериальная гипертензия у 22 (18,6%) и у 17 (14,4%) больных соответственно. Тромботические осложнения наблюдались у 5 (4,2%) больных. Периферическая нейропатия, связанная с применением бортезомиба, отмечена у 55 (46,6%) больных. Различий по частоте и тяжести нежелательных явлений между группами не обнаружено.

Однофакторный анализ прогностической значимости отдельных инициальных клинических и биологических характеристик больных показал, что на БСВ оказывали негативное влияние: статус миеломы – рецидивирующей или рефрактерной (ОР 1,39; $p = 0,043$), мужской пол (ОР 1,26; $p = 0,019$), клиренс креатинина менее 40 мл/мин (ОР 1,86; $p = 0,009$), анемия с концентрацией гемоглобина менее 100 г/л (ОР 1,98; $p = 0,005$), применение препаратов эритропоэтина в последние 2 года (ОР 1,86; $p = 0,029$), ХСН со степенью тяжести по Нью-Йоркской классификации от 2 и выше (ОР 1,90; $p = 0,013$) и общий статус по шкале ECOG от 2 баллов и выше (ОР 2,33; $p < 0,001$). Все перечисленные показатели, за исключе-

нием статуса ММ (с впервые диагностированной против рецидивирующей или рефрактерной), также ухудшали показатели ОВ. При многофакторном анализе только общий соматический статус по шкале ECOG ≥ 2 подтвердил свое независимое негативное прогностическое значение как в отношении БСВ (ОР 1,69; $p = 0,006$), так и ОВ (ОР 1,76; $p = 0,003$).

Не оказывали влияния на выживаемость: стадия миеломы по Durie–Salmon, вариант противомиеломной терапии (VCD против VMP), а также тип миеломной секреции и конкретный нозологический вариант сердечно-сосудистой патологии. Для пациентов с рецидивирующей или рефрактерной ММ не влияли на прогноз количество линий предшествующей терапии (2 и более против 1) и применение в прошлом отдельных препаратов, включая бортезомиб.

Обсуждение

Особенностью нашего исследования стала специфическая выборка больных ММ, осложненной клинически значимой сердечно-сосудистой патологией (100%). Кроме того, стоит принимать во внимание ряд факторов, отягчающих прогноз, таких как анемия (у 37,8%), почечная недостаточность (клиренс креатинина не более 40 мл/мин у 21,6%) и плохой общий статус (ECOG ≥ 2 у 54,7%). Результаты лечения данной когорты пациентов в условиях реальной практики могут существенно отличаться от таковых в публикациях контролируемых исследований.

По данным нашей работы, для пациентов с ВД ММ частота общего ответа ($\geq$ ЧР) составила 65,7%, $\geq$ очень хороших частичных ремиссий (ОХЧР) – 40%, ПР/сПР – 22,9%, а медиана БСВ и ОВ – 12 и 40 мес соответственно. Недостаточная мощность исследования не позволила выявить преимущество какого-либо из трех использованных режимов терапии (VCD, VMP или VD), если таковое существует.

По данным двух больших клинических исследований 3-й фазы GMMG-MM5 и IFM2013-04 применение индукционного режима VCD позволяет получить общий ответ у

82–82,3%, $\geq$ ОХЧР – 44–56,2%, ПР/сПР – 8,9–23% первичных пациентов [18, 19]. В случае выполнения ауто-ТГСК и поддерживающей терапии медиана выживаемости без прогрессии (ВБП) составила 40 мес, 5-летняя ВБП – 42% и ОВ – 70% [20]. У пожилых пациентов с впервые диагностированной ММ медианы ВБП и ОВ после реализации программы VCD составили 24,2 и 29,7 мес соответственно [21]. Существенным ограничением интерпретации этих данных является отсутствие единого понимания оптимальной дозы циклофосфида, которая колебалась в процитированных исследованиях в широком диапазоне от 280 до 1500 мг/м² за цикл. В отношении комбинации VD, по данным исследований 2-й фазы, известно, что при использовании её в индукции общий ответ ($\geq$ ЧР) перед трансплантацией составлял 65–66%, а частота достижения ПР/сПР – 10–12,5% [22, 23]. В случае применения программы VMP у пациентов старшей возрастной группы с впервые диагностированной ММ и непригодных для ауто-ТГСК, согласно исследованиям VISTA и PETHEMA/GEM05, частота общего ответа составила 71–80%, ПР – 20–30%, а медианы ВБП и ОВ – 20–30,5 мес и 61–61,3 мес соответственно [24].

В группе пациентов с рецидивирующей или рефрактерной ММ в нашем исследовании как минимум ЧР достигли 59,5%, ПР/сПР – 20,3%, а медианы БСВ и ОВ составили 12,6 и 31,8 мес соответственно. Основную часть группы составили пациенты с 1-м рецидивом (медиана количества предшествующих линий – 1, разброс 1–6), чувствительным к последней терапии и с длительностью ответа более 12 мес. По данным литературы [25, 26], при терапии VCD в похожих группах пациентов вероятность достижения общего ответа составляла 71–73%, ПР/сПР – 14%, медианы ВБП и ОВ – 18,4 и 28,1 мес соответственно. Для терапевтической группы VD большого рандомизированного исследования третьей фазы ENDEVOR (медиана количества линий – 1, разброс 1–3) частота общего ответа составила 63%, ПР/сПР – 6%, а медианы ВБП и ОВ – 9,4 и 40 мес соответственно [27].

Интерпретация полученных нами результатов в сопоставлении с данными проспективных международных исследований сложна. С одной стороны, у пациентов с впервые диагностированной ММ, осложненной кардиологической патологией, показатели выживаемости существенно ниже вследствие невозможности реализации высокодозной консолидации и ауто-ТГСК. Мы не выявили вклада конкретной кардиологической патологии в общее ухудшение показателей выживаемости, но в условиях многофакторного анализа общий статус по шкале ECOG $\geq$ 2 ухудшал как БСВ (ОР 1,69; $p = 0,006$), так и ОВ (ОР 1,76; $p = 0,003$), сочетая в себе тяжесть опухолевого поражения и сопутствующей патологии. Неудовлетворительное общее состояние пациента является основным ограничительным фактором для проведения высокодозной терапии. С другой стороны, продолжительность ОВ зависит не только от начальной терапии, но и от 2-й, 3-й и всех последующих за ними линий. А здесь, конечно, определяет положение дел доступность новых противоопухолевых препаратов и общее ресурсное насыщение здравоохранения в конкретной стране.

В отличие от большинства исследователей, в своей работе мы использовали оценку БСВ вместо ВБП как несомненно более жесткий критерий эффективности лечения. При расчете ВБП не учитывается возможность смены терапии с одного режима на другой вследствие неоптимального ответа либо чрезмерной токсичности. При анализе результатов лечения в условиях рутинной практики по ВБП явно существует риск завышения эффективности конкретной стартовой программы терапии.

По данным американских исследователей, эффективность терапии ММ в реальной практике [28] действительно уступает таковой в исследованиях [18, 19, 27]. Авторы показали на большой когорте больных, что медиана ОВ вне клинических исследований составила для 1-й линии 44,1 мес, для 2-й линии 28,1 мес, для 3-й линии 19,8 мес, для 4-й линии 9,8 мес, что согласуется с нашими данными.

Очевидно, что больные ММ имеют определенные факторы риска развития сердечно-сосудистых осложнений. По данным большого популяционного исследования, выполненного в США, распространенность сердечно-сосудистых осложнений у пролеченных больных ММ (60,1%) была статистически значимо выше, чем у сверстников такого же пола без ММ (54,6%). Подтверждено значимое повышение риска аритмий, кардиомиопатии и ХСН (ОР 1,74–4,09) [29]. Амилоидоз, по некоторым оценкам встречающийся у 12–30% больных ММ, ассоциируется с ХСН [30], кардиомиопатией, жизнеугрожающими нарушениями ритма и проводимости [8]. Возможно, что амилоидоз сердца, прижизненно зачастую не диагностируемый, также может отвечать за повышение токсичности терапии.

Применение ингибиторов протеасомы сопряжено с кардиотоксичностью [12]. Прямые доказательства того, что использование бортезомиба связано с риском кардиологических осложнений по сравнению с контрольным лечением, отсутствуют. Однако обнаружено, что частота случаев кардиотоксичности, связанной с бортезомибом, среди больных ММ выше, чем у пациентов без ММ, получавших данный препарат по поводу других заболеваний [31].

Учитывая пожилой возраст большинства больных ММ и пролонгирование ОВ с появлением новых препаратов, вероятность кардиологических осложнений, очевидно, будет расти. Понимание механизмов кардиотоксичности для пациентов с исходной сердечной патологией и без таковой имеет решающее значение для профилактики, диагностики и лечения соответствующих осложнений.

Выводы

- Результаты лечения ММ в мировой клинической практике уступают эффективности в контролируемых исследованиях вследствие селекции пациентов в последних.
- Применение бортезомиб-содержащих программ (VCD, VMP и VD) у пациентов с впервые диагностированной и с рецидивирующей или рефрактерной ММ с сопутствующей кардиологической патологией не сопровождается повышением частоты нежелательных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы.
- Плохое общее соматическое состояние пациента (ECOG $\geq$ 2), обусловленное как самой ММ, так и сопутствующей патологией, является ограничительным фактором, препятствующим реализации противоопухолевой терапии в полном объеме, что снижает ее эффективность (5-летняя ОВ – ОР 1,76; $p = 0,003$).

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. *Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена; 2017.
2. Митина Т.А., Голенков А.К., Трифонова Е.В., Луцкая Т.Д., Катаева Е.В., Высоцкая Л.Л. и др. Эффективность бортезомиба, мелфалана и преднизолона (ВМП) у пациентов с впервые выявленной множественной миеломой. *Medline.ru*. 2013; 14(4): 1030–50. Доступна на: <http://www.medline.ru/public/art/tom14/art82.html>

7. Рехтина И.Г., Менделеева Л.П., Бирюкова Л.С. Диализзависимая почечная недостаточность у больных множественной миеломой: факторы обратимости. *Терапевтический архив*. 2015; 87(7): 72–6.
8. Ухолкина Г.Б., Кучин Г.А., Бычкова О.П., Чихирев О.А. Амилоидоз сердца в клинической практике. *Сердечная недостаточность*. 2016; 17(1): 57–68.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

1. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V., eds. *Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality)*. Moscow: P. Herzen Moscow Scientific Research Oncological Institute; 2017. (in Russian)
2. Mitina T.A., Golenkov A.K., Trifonova E.V., Lutskaia T.D., Kataeva E.V., Vysotskaya L.L., et al. The efficacy of bortezomib, melphalan and prednisolone (VMP) in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Medline.ru*. 2013; 14(4): 1030–50. (in Russian). <http://www.medline.ru/public/art/tom14/art82.html>
3. Kaya H., Peressini B., Jawed I., Martincic D., Elaimy A.L., Lamoireaux W.T., et al. Impact of age, race and decade of treatment on overall survival in a critical population analysis of 40,000 multiple myeloma patients. *Int. J. Hematol.* 2012; 95(1): 64–70.
4. Tim Goodnough L., Comin-Colet J., Leal-Noval S., Ozawa S., Takere J., Henry D., et al. Management of anemia in patients with congestive heart failure. *Am. J. Hematol.* 2017; 92(1): 88–93.
5. Kwaan H.C. Hyperviscosity in plasma cell dyscrasias. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2013; 55(1): 75–83.
6. Kohrt H., Logan A., Temmins C., Witteles R., Liedtke M., Medeiros B., et al. Reversible high-output cardiac failure, an unusual marker of disease status in multiple myeloma. *Leuk. Lymphoma*. 2008; 49(3): 581–5.
7. Rekhina I.G., Mendeleeva L.P., Biryukova L.S. Dialysis-dependent renal failure in patients with multiple myeloma: reversible factors. *Therapeutic archive. Russian Journal (Terapevicheskii arkhiv)*. 2015; 87(7): 72–6. (in Russian)
8. Ukholkina G.B., Kuchin G.A., Bychkova O.P., Chihirev O.A. Amyloidosis of the heart in clinical practice. *Heart failure. Russian Journal (Serdechnaya nedostatochnost)*. 2016; 17(1): 57–68. (in Russian)
9. Smith L.A., Cornelius V.R., Plummer C.J., Levitt G., Verrill M., Canney P., Jones A. Cardiotoxicity of anthracycline agents for the treatment of cancer: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMC Cancer*. 2010; 10: 337. doi: 10.1186/1471-2407-10-337.
10. Kozelj M., Zver S., Zadnik V. Long term follow-up report of cardiac toxicity in patients with multiple myeloma treated with tandem autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Radiol Oncol.* 2013; 47(2): 161–5.
11. Bagratuni T., Kastritis E., Politou M., Roussou M., Kostouros E., Gavriatopoulou M., et al. Clinical and genetic factors associated with venous thromboembolism in myeloma patients treated with lenalidomide-based regimens. *Am. J. Hematol.* 2013; 88(9): 765–70.
12. Spur E.M., Althof N., Respondek D., Klingel K., Heuser A., Overkleeft H.S., Voigt A. Inhibition of chymotryptic-like standard proteasome activity exacerbates doxorubicin-induced cytotoxicity in primary cardiomyocytes. *Toxicology*. 2016; 353–354: 34–47.
13. Durie B.G., Salmon S.E. A clinical staging system for multiple myeloma: Correlation of measure Myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer*. 1975; 36(9): 842–54.
14. Durie B.G., Harousseau J.L., Miguel J.S., Blady J., Barlogie B., Anderson K., et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006; 20(9): 1467–73.
15. U.S. Department of Health and Human Services. *Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE)*. Version 4.0. Published May 28, 2009. Available at: https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf (accessed 04.04.2017)
16. *The Criteria Committee of the New York Heart Association. Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels*. Boston: Brown & Co; 1994: 253–6.
17. Prentice R.L., Kalbfleisch J.D. Mixed discrete and continuous Cox regression model. *Lifetime Data Anal.* 2003; 9(2): 195–210.
18. Moreau P., Hulin C., Macro M., Caillot D., Chaletex C., Roussel M., et al. VTD is superior to VCD prior to intensive therapy in multiple myeloma: results of the prospective IFM2013-04 trial. *Blood*. 2016; 127(21): 2569–74.
19. Reeder C.B., Reece D.E., Kukreti V., Mikhael J.R., Chen C., Trudel S., et al. Long-term survival with cyclophosphamide, bortezomib and dexamethasone induction therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Br. J. Haematol.* 2014; 167(4): 563–5.
20. Chng W.J., Goldschmidt H., Dimopoulos M.A., Moreau P., Joshua D., Palumbo A., et al. Carfilzomib-dexamethasone vs bortezomib-dexamethasone in relapsed or refractory multiple myeloma by cytogenetic risk in the phase 3 study Available at: ENDEAVOR. *Leukemia*. 2017; 31(6): 1368–74. doi: 10.1038/leu.2016.390. (accessed 06.06.2017)
21. Tuchman S.A., Moore J.O., De Castro C.D., Li Z., Sellars E., Kang Y., et al. Phase II study of dose-attenuated bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone (VCD-Lite) in very old or otherwise toxicity-vulnerable adults with newly diagnosed multiple myeloma. *J. Geriatr. Oncol.* 2017; 8(3): 165–9. Available at: [http://www.geriatriconcology.net/article/S1879-4068\(17\)30030-9](http://www.geriatriconcology.net/article/S1879-4068(17)30030-9). (accessed 16.06.2017)
22. Rosinol L., Oriol A., Mateos M.V., Sureda A., García-Sánchez P., Gutierrez N., et al. Phase II PETHEMA trial of alternating bortezomib and dexamethasone as induction regimen before autologous stem-cell transplantation in younger patients with multiple myeloma: efficacy and clinical implications of tumor response kinetics. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25(28): 4452–8.
23. Harousseau J.L., Attal M., Leleu X., Troncy J., Pegourie B., Stoppa A.M., et al. Bortezomib plus dexamethasone as induction treatment prior to autologous stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of an IFM phase II study. *Haematologica*. 2006; 91(11): 1498–505.
24. Mateos M.V., Oriol A., Martínez-López J., Teruel A.I., Bengoechea E., Palomera L., et al. Outcomes with two different schedules of bortezomib, melphalan, and prednisone (VMP) for previously untreated multiple myeloma: matched pair analysis using long-term follow-up data from the phase 3 VISTA and PETHEMA/GEM05 trials. *Ann. Hematol.* 2016; 95(12): 2033–41.
25. de Waal E.G., de Munck L., Hoogendoorn M., Woolthui G., van der Velden A., Tromp Y., et al. Combination therapy with bortezomib, continuous low-dose cyclophosphamide and dexamethasone followed by one year of maintenance treatment for relapsed multiple myeloma patients. *Br. J. Haematol.* 2015; 171(5): 720–5.
26. Mai E.K., Bertsch U., Dürig J., Kunz C., Haenel M., Blau I.W., et al. Phase III trial of bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone (VCD) versus bortezomib, doxorubicin and dexamethasone (PAD) in newly diagnosed myeloma. *Leukemia*. 2015; 29(8): 1721–9.
27. Fu W., Delasalle K., Wang J., Song S., Hou J., Alexanian R., et al. Bortezomib-cyclophosphamide-dexamethasone for relapsing multiple myeloma. *Am. J. Clin. Oncol.* 2012; 35(6): 562–5.
28. Hajek R., Jarkovsky J., Bouwmeester W., Treur M., DeCosta L., Campioni M., et al. Exploration of Survival Stratification of Patients with Multiple Myeloma after First Relapse Using Real World Data. *Blood*. 2016; 128(22): Abstract. 2417. Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/128/22/2417> (accessed 04.06.2017)
29. Lenihan D.J., Potluri R., Bhandari H., Ranjan S., Chen C. Evaluation of cardiovascular comorbidities among patients with multiple myeloma in the United States. *Blood*. 2016; 128(22): Abstr. 4794. Available at: <http://www.bloodjournal.org/content/128/22/4794?sso-checked=true> (accessed 04.06.2017)
30. Bahlis N.J., Lazarus H.M. Multiple myeloma-associated AL amyloidosis: is a distinctive therapeutic approach warranted? *Bone Marrow Transplant.* 2006; 38(1): 7–15.
31. Xiao Y., Yin J., Wei J., Shang Z. Incidence and risk of cardiotoxicity associated with bortezomib in the treatment of cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014; 9(1): e87671. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3906186> (accessed 16.06.2017)

Поступила 12.10.17

Принята к печати 20.10.17

Кутявина С.С.¹, Логинова М.А.^{1,2}, Черанев В.В.¹, Парамонов И.В.¹, Зарубин М.В.³, Верёвкина Л.Н.³

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ HLA-АЛЛЕЛЕЙ У БУРЯТ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России», 610027, г. Киров, Российская Федерация;

²ФГБУ «Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» ФМБА России», 610002, г. Киров, Российская Федерация;

³БУЗ «Иркутская областная станция переливания крови», 664046, г. Иркутск, Российская Федерация.

Материал и методы. Проведено HLA-типирование по пяти HLA-локусам – A, B, C, DRB1 и DQB1 – у 403 потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, самоопределившихся как буряты и проживающих на территории Иркутской области. Полученные данные проанализированы с помощью программного обеспечения Arlequin v.3.5.

Результаты. При проведении исследований в изучаемой популяции выявлен новый аллель, ранее не зарегистрированный международным Комитетом по номенклатуре факторов HLA-системы ВОЗ. В ходе проведенных исследований выявлены: 31 аллель по локусу HLA-A, 58 аллелей по локусу HLA-B, 33 аллеля по локусу HLA-C, 42 аллеля по локусу HLA-DRB1, 19 аллелей по локусу HLA-DQB1. Частотой встречаемости более 10% обладают следующие аллели – HLA-A*24:02 (22,08%), HLA-A*02:01 (13,65%), HLA-A*01:01 (10,92%), HLA-B*40:02 (12,66%), HLA-C*03:04 (17,62%), HLA-C*06:02 (15,51%), HLA-DRB1*07:01 (13,65%), HLA-DRB1*04:01 (10,92%), HLA-DQB1*03:01 (29,9%), HLA-DQB1*02:02 (11,29%). Наиболее часто встречающимся HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 гаплотипом является A*24:02-B*40:02-C*03:04-DRB1*04:01-DQB1*03:01 (3,27%). Выявлены отклонения от закона Харди-Вайнберга для локусов HLA-A и HLA-DRB1.

Ключевые слова: человеческие лейкоцитарные антигены; аллель; гаплотип; частота встречаемости; HLA-типирование.

Для цитирования: Кутявина С.С., Логинова М.А., Черанев В.В., Парамонов И.В., Зарубин М.В., Верёвкина Л.Н. Генетические особенности HLA-аллелей у бурят, проживающих на территории Иркутской области. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(3): 147-152. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-147-152>

Kutyavina S.S.¹, Loginova M.A.^{1,2}, Cheranov V.V.¹, Paramonov I.V.¹, Zarubin M.V.³, Verevkin L.N.³

HLA ALLELES IN BURYATS LIVING IN THE IRKUTSK REGION

¹Kirov Scientific-Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, 610027, Russian Federation;

²"Rosplasma", Kirov, 610002, Russian Federation;

³Irkutsk Regional Blood Transfusion Station, Irkutsk, 664046, Russian Federation

Material and methods. Sequence based typing was used to identify human leukocyte antigen HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 alleles from 403 recruited volunteers in Irkutsk region (Buryats), Russia for unrelated hematopoietic stem cell registry.

Results. During the carried out research in the study population identified new allele, which were registered by The WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System. In this population, 31 – HLA-A, 58 – HLA-B, 33 – HLA-C, 42 – HLA-DRB1, 19 – HLA-DQB1 alleles were selected. Allele frequencies more than 10% included HLA-A*24:02 (22.08%), HLA-A*02:01 (13.65%), HLA-A*01:01 (10.92%), HLA-B*40, HLA-C*03:04 (17.62%), HLA-C*06:02 (15.51%), HLA-DRB1*07:01 (13.65%), HLA-DRB1*04:01 (10.92%), HLA-DQB1*03:01 (29.9%), HLA-DQB1*02:02 (11.29%). Of the 425 five-locus HLA haplotypes were determined with software Arlequin v.3.1. The highest frequency extended five-locus haplotype – A*24:02-B*40:02-C*03:04-DRB1*04:01-DQB1*03:01 was observed with frequencies of 3.27%. Distribution of allele and haplotype analysis allowed to compare the population of Buryats with other Russian populations. Deviations from the Hardy-Weinberg law for the loci of HLA-A and HLA-DRB1 are revealed.

Key words: human leukocyte antigens; allele; haplotype; allele frequency; HLA-typing.

For citation: Kutyavina S.S., Loginova M.A., Cheranov V.V., Paramonov I.V., Zarubin M.V., Verevkin L.N. HLA alleles in Buryats living in the Irkutsk region. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologia i transfusiologiya)*. 2017; 62(3): 147-152. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-147-152>

Acknowledgments. This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant №. 16-04-00059).

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

Received 22 September 2017

Accepted 20 October 2017

Для корреспонденции:

Логинова Мария Александровна, кандидат биол. наук, заведующая научно-исследовательской лабораторией прикладной иммуногенетики. 610027, г. Киров, Россия. E-mail: mlogin2010@gmail.com.

For correspondence:

Loginova Maria A., BD, PhD, head of the Research Laboratory of Applied Immunogenetics. Kirov, 610027, Russian Federation. E-mail: mlogin2010@gmail.com.

Information about authors:

Kutyavina S.S., <http://orcid.org/0000-0002-2371-4044>; Loginova M.A., <http://orcid.org/0000-0001-7088-3986>; Cheranov V.V., <http://orcid.org/0000-0001-5294-3033>; Paramonov I.V., <http://orcid.org/0000-0002-7205-912X>; Zarubin M.V., <http://orcid.org/0000-0003-0569-207X>; Verevkin L.N., <http://orcid.org/0000-0003-4491-4448>.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) – метод, применяющийся для лечения гематологических, онкологических, генетических и ряда других заболеваний [1]. Трансплантируемые ГСК способны полностью восстановить систему гемопоэза и иммунитета в организме после высокодозной химиотерапии.

Выживаемость реципиентов, риски отторжения трансплантата и возникновения реакции «трансплантат против хозяина» зависят от качества донора, совместимого по HLA-системе [2]. HLA-аллели и мультилокусные гаплотипы характеризуются высокой вариабельностью в различных популяциях, что осложняет подбор генетически совместимых пар донор-реципиент [3–5].

С учетом того, что гены системы HLA наследуются и экспрессируются кодоминантно, шанс подобрать родственного донора существует лишь у 30% больных, нуждающихся в трансплантации костного мозга. Остальным же пациентам необходим поиск неродственного HLA-совместимого донора [6, 7].

Таким образом, существует необходимость создания базы данных генетически охарактеризованных, т.е. протипированных по HLA-локусам, потенциальных доноров ГСК, которая позволяла бы подобрать совместимого донора для российских пациентов с учетом относительно низкой частоты встречаемости у них HLA-аллелей и гаплотипов, наиболее специфичных для европейских и североамериканских популяций, широко представленных в международных базах данных [8]. При создании репрезентативного регистра доноров важно учитывать многонациональность (более 180 народов) Российской Федерации с населением более 146 млн человек и генетическое разнообразие в различных популяциях [9].

Целью данного исследования является изучение генетических особенностей HLA-аллелей у бурят, проживающих на территории Иркутской области.

Материал и методы

В исследование включены 403 образца цельной крови, полученных от здоровых (не имеющих тяжелых хронических заболеваний и жалоб на момент обследования) взрослых индивидуумов, самоопределившихся как буряты и проживающих на территории Иркутской области. Образцы были получены от кадровых доноров крови и ее компонентов ГБУЗ «Иркутская областная станция переливания крови» в марте – апреле 2016 г.

Исследования проводили сотрудники лаборатории прикладной иммуногенетики ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» в течение 2016 г.

Препараты ДНК для проведения HLA-типирования были получены из замороженных образцов цельной крови (антикоагулянт – ЭДТА) методом колоночной фильтрации с помощью наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit («QIAGEN GmbH», Германия). Концентрация препаратов ДНК, определенная на спектрофотометре TECAN Infinite 200 («TECAN», Швейцария), составляла в среднем 30–70 нг/мкл при соотношении $A_{260}/A_{280}=1,7\pm 1,9$.

HLA-типирование по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 в высоком разрешении проводили по технологии секвенирования с использованием наборов реагентов HLAssure SE SBT Kit («TBG Diagnostics Limited», Тайвань).

Капиллярный электрофорез осуществляли с помощью 48-капиллярного генетического анализатора 3730 («Applied Biosystems», США), полученные сиквенсы анализировали в программном обеспечении AccuType TM («Texas Bio GeneInc.», Тайвань).

Для определения частот HLA-аллелей и частот их гаплотипов методом максимального правдоподобия с помощью EM-алгоритма для полилокусных данных использовали программное обеспечение Arlequin v.3.5 [10]. Стандартные отклонения рассчитывали при начальном значении итераций, равном 100. Распределение генов по закону Харди–Вайнберга с количеством шагов в цепи Маркова, равным 100 000 [10], определяли с помощью программного обеспечения Arlequin v.3.5 [10].

Результаты

При проведении исследования с локус-специфичными праймерами для образца №2415 не было найдено полного соответствия с библиотекой HLA-аллелей IMGT/HLA 3.25.0 по локусу HLA-C.

В результате HLA-типирования образца №2415 был определен генотип A*24:02, 30:01; B*07:02, 13:02; DRB1*07:01, 15:01; DQB1*02:02, 06:02; C*06, 07 с одним несоответствием базе данных HLA-аллелей. В позиции 408 экзона 3 локуса HLA-C вместо G был обнаружен R – четкий пик в прямом и обратном направлении.

Для разрешения неоднозначностей типирования, а также для выявления и описания нового аллеля были поставлены реакции амплификации с аллель-специфичными праймерами. Полученные данные показали, что образец № 2415 имеет по локусу C генотип C*07:02, 06:новый. При этом у нового аллеля в позиции 408 экзона 3 вместо G стоит A, что приводит к изменению кодона 112 с GGG на GGA, но не приводит к изменению аминокислоты – глицина.

Последовательности нуклеотидов, полученные при использовании аллель-специфичных праймеров, позволили подать данный аллель на регистрацию в международной номенклатуре (номер последовательности в базе данных EBML – LT718450), и 28.02.2017 указанному аллелю был присвоен номер C*06:02:48.

Частоты встречаемости аллелей HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 и HLA-DQB1 с соответствующими стандартными отклонениями представлены в табл. 1 и 2. По результатам данного исследования выявлены: 31 аллель по локусу HLA-A, 57 – по локусу HLA-B, 33 – по локусу HLA-C, 42 – по локусу HLA-DRB1, 19 – по локусу DQB1.

Наибольшей частотой встречаемости среди аллелей локуса HLA-A является HLA-A*24:02 (22,08%), а затем в порядке убывания частоты встречаемости распадаются HLA-A*02:01 (13,65%), HLA-A*01:01 (10,92%), HLA-A*11:01 (8,8%), HLA-A*03:01 (7,44%), HLA-A*31:01 (6,7%), HLA-A*02:06 (5,58%), HLA-A*33:03 (4,84%), HLA-A*26:01 (3,85%), HLA-A*23:01 (3,72%). Наименьшей частотой встречаемости обладают аллели HLA-A*24:10, HLA-A*24:128, HLA-A*26:08, HLA-A*29:02, HLA-A*30:02, HLA-A*33:01, HLA-A*66:01, HLA-A*68:02 и HLA-A*68:24, выявленные по одному разу (см. табл. 1).

В локусе HLA-B наиболее часто встречались следующие 10 аллелей: HLA-B*40:02 (12,66%), HLA-B*51:01 (8,68%), HLA-B*37:01 (6,95%), HLA-B*07:02 (6,7%), HLA-B*15:01 (6,2%), HLA-B*13:02 (5,46%), HLA-B*58:01 (4,84%), HLA-B*40:01 (4,71%), HLA-B*44:03 (4,59%), HLA-B*35:01 (3,97%). Вместе они составляют 64,76% от общего числа выявленных аллелей локуса HLA-B.

В локусе HLA-C можно выделить 7 наиболее часто встречающихся аллелей: HLA-C*03:04 (17,62%), HLA-C*06:02 (15,51%), HLA-C*07:02 (9,68%), HLA-C*01:02 (8,06%), HLA-C*15:02 (8,06%), HLA-C*03:03 (7,69%), HLA-C*04:01 (7,2%).

Наиболее часто встречающимися аллелями в локусе HLA-DRB1 (частота более 10%) являются HLA-DRB1*07:01 (13,65%), HLA-DRB1*04:01 (10,92%); и далее в порядке убывания частоты располагаются HLA-DRB1*15:01, HLA-DRB1*09:01, HLA-DRB1*12:01, HLA-DRB1*03:01, HLA-DRB1*13:01, HLA-DRB1*11:01, HLA-DRB1*10:01, HLA-DRB1*13:02 (см. табл. 2).

Для локуса HLA-DQB1 было выявлено 19 аллелей. Из них наиболее частым является HLA-DQB1*03:01 (частота встречаемости 29,9%). К наиболее редким аллелям относятся HLA-DQB1*03:13 и HLA-DQB1*06:11, каждый из которых выявлен лишь в одном случае.

Таблица 1

Аллели локусов HLA-A, HLA-B, HLA-C и частота их встречаемости

HLA-A			HLA-B			HLA-C		
аллель	частота встречаемости	стандартное отклонение	аллель	частота встречаемости	стандартное отклонение	аллель	частота встречаемости	стандартное отклонение
A*01:01	0,109181	0,009068	B*07:02	0,066998	0,008084	C*01:02	0,080645	0,007677
A*02:01	0,136476	0,011162	B*07:05	0,007444	0,002619	C*02:02	0,017370	0,004702
A*02:03	0,003722	0,002339	B*08:01	0,019851	0,004523	C*03:02	0,048387	0,007514
A*02:05	0,006203	0,002491	B*13:01	0,021092	0,004001	C*03:03	0,076923	0,008481
A*02:06	0,055831	0,007588	B*13:02	0,054591	0,010467	C*03:04	0,176179	0,014396
A*02:07	0,016129	0,005012	B*14:02	0,001241	0,000868	C*04:01	0,071960	0,009363
A*02:17	0,002481	0,001582	B*15:01	0,062035	0,008580	C*04:03	0,008685	0,003412
A*03:01	0,074442	0,009939	B*15:02	0,001241	0,000827	C*05:01	0,017370	0,004855
A*03:02	0,012407	0,003908	B*15:05	0,001241	0,001021	C*05:02	0,001241	0,001181
A*11:01	0,088089	0,009290	B*15:08	0,002481	0,002512	C*06:01	0,001241	0,001312
A*11:02	0,002481	0,001790	B*15:11	0,004963	0,002563	C*06:02	0,155087	0,014252
A*23:01	0,037221	0,006666	B*15:13	0,001241	0,001013	C*07:01	0,018610	0,005144
A*24:02	0,220844	0,016572	B*15:18	0,013648	0,003150	C*07:02	0,096774	0,010468
A*24:10	0,001241	0,001343	B*15:220	0,001241	0,000837	C*07:04	0,016129	0,004097
A*24:128	0,001241	0,001160	B*15:27	0,001241	0,001281	C*07:08	0,001241	0,001201
A*25:01	0,006203	0,002813	B*18:01	0,004963	0,002693	C*07:18	0,001241	0,001072
A*26:01	0,038462	0,007146	B*27:02	0,002481	0,001755	C*08:01	0,038462	0,006575
A*26:08	0,001241	0,001243	B*27:04	0,002481	0,001553	C*08:02	0,001241	0,001307
A*29:01	0,011166	0,003875	B*27:05	0,017370	0,002280	C*08:03	0,003722	0,002382
A*29:02	0,001241	0,001283	B*35:01	0,039702	0,007054	C*08:22	0,006203	0,003051
A*30:01	0,018610	0,004849	B*35:02	0,001241	0,001140	C*08:44	0,001241	0,001241
A*30:02	0,001241	0,001289	B*35:03	0,016129	0,004494	C*08:66	0,001241	0,001331
A*30:04	0,003722	0,001977	B*37:01	0,069479	0,006273	C*12:02	0,016129	0,004520
A*31:01	0,066998	0,007942	B*37:02	0,001241	0,000599	C*12:03	0,022333	0,005384
A*32:01	0,004963	0,002727	B*38:01	0,009926	0,002339	C*14:02	0,013648	0,003860
A*33:01	0,001241	0,001375	B*38:02	0,003722	0,002553	C*14:03	0,006203	0,002654
A*33:03	0,048387	0,008342	B*39:01	0,008685	0,002645	C*14:06	0,001241	0,001351
A*66:01	0,001241	0,001262	B*40:01	0,047146	0,006455	C*15:02	0,080645	0,009515
A*68:01	0,024814	0,005653	B*40:02	0,126551	0,014088	C*15:05	0,008685	0,003402
A*68:02	0,001241	0,001325	B*40:03	0,001241	0,000915	C*16:01	0,001241	0,001032
A*68:24	0,001241	0,001347	B*40:06	0,011166	0,004316	C*16:02	0,003722	0,002190
			B*41:01	0,002481	0,001365	C*16:04	0,003722	0,002171
			B*44:01	0,001241	0,000785	C*17:01	0,001241	0,001103
			B*44:02	0,019851	0,005646			
			B*44:03	0,045906	0,005913			
			B*44:05	0,001241	0,000837			
			B*44:27	0,003722	0,002030			
			B*45:01	0,001241	0,001234			
			B*46:01	0,019851	0,003799			
			B*48:01	0,037221	0,003793			
			B*49:01	0,002481	0,001891			
			B*50:01	0,013648	0,002971			
			B*51:01	0,086849	0,012605			
			B*51:02	0,001241	0,001340			
			B*52:01	0,014888	0,004185			
			B*53:01	0,001241	0,000704			
			B*54:01	0,016129	0,004760			
			B*55:01	0,008685	0,004290			
			B*55:02	0,019851	0,006239			
			B*55:07	0,002481	0,002109			
			B*56:01	0,003722	0,002125			
			B*56:03	0,001241	0,000915			
			B*57:01	0,017370	0,004605			
			B*58:01	0,048387	0,006212			
			B*67:01	0,001241	0,001340			
			B*73:01	0,001241	0,001439			
			B*81:02	0,002481	0,002280			

Таблица 2

Аллели локусов HLA-DRB1, HLA-DQB1 и частота их встречаемости

HLA-DRB1			HLA-DQB1		
аллель	частота встречаемости	стандартное отклонение	аллель	частота встречаемости	стандартное отклонение
DRB1*01:01	0,031017	0,005285	DQB1*02:01	0,052109	0,008770
DRB1*01:02	0,001241	0,001182	DQB1*02:02	0,112903	0,011116
DRB1*03:01	0,052109	0,008490	DQB1*03:01	0,299007	0,014879
DRB1*04:01	0,109181	0,012671	DQB1*03:02	0,066998	0,008327
DRB1*04:02	0,008685	0,003018	DQB1*03:03	0,079404	0,009048
DRB1*04:03	0,011166	0,003475	DQB1*03:04	0,002481	0,001821
DRB1*04:04	0,019851	0,004641	DQB1*03:05	0,003722	0,002318
DRB1*04:05	0,032258	0,006632	DQB1*03:13	0,001241	0,001403
DRB1*04:06	0,002481	0,001532	DQB1*04:01	0,032258	0,005306
DRB1*04:07	0,001241	0,001241	DQB1*04:02	0,026055	0,005604
DRB1*04:08	0,004963	0,002599	DQB1*05:01	0,076923	0,009871
DRB1*04:10	0,003722	0,002564	DQB1*05:02	0,013648	0,004596
DRB1*04:13	0,002481	0,001514	DQB1*05:03	0,014888	0,004462
DRB1*07:01	0,136476	0,012692	DQB1*06:01	0,050868	0,007945
DRB1*08:01	0,018610	0,004756	DQB1*06:02	0,081886	0,009863
DRB1*08:02	0,021092	0,005736	DQB1*06:03	0,048387	0,007535
DRB1*08:03	0,026055	0,006127	DQB1*06:04	0,009926	0,003315
DRB1*08:04	0,001241	0,001241	DQB1*06:09	0,026055	0,005045
DRB1*09:01	0,059553	0,008325	DQB1*06:11	0,001241	0,001257
DRB1*10:01	0,043424	0,006744			
DRB1*11:01	0,048387	0,006942			
DRB1*11:03	0,003722	0,002063			
DRB1*11:04	0,007444	0,002783			
DRB1*11:06	0,001241	0,001487			
DRB1*12:01	0,059553	0,009727			
DRB1*12:02	0,017370	0,004709			
DRB1*12:10	0,002481	0,001527			
DRB1*13:01	0,049628	0,008513			
DRB1*13:02	0,042184	0,042184			
DRB1*13:03	0,002481	0,001577			
DRB1*13:05	0,001241	0,001405			
DRB1*14:03	0,021092	0,005163			
DRB1*14:04	0,002481	0,001705			
DRB1*14:05	0,004963	0,002427			
DRB1*14:07	0,002481	0,001591			
DRB1*14:12	0,014888	0,004576			
DRB1*14:27	0,008685	0,003271			
DRB1*14:54	0,014888	0,003880			
DRB1*15:01	0,088089	0,010347			
DRB1*15:02	0,014888	0,004086			
DRB1*16:01	0,003722	0,002055			
DRB1*16:02	0,001241	0,001189			

Гаплотипы HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 были рассчитаны с помощью *EM*-алгоритма (Expectation-maximization algorithm) в программном обеспечении Arlequin v.3.5. В табл. 3 представлены гаплотипы, частота встречаемости которых более 1%.

В общей сложности было определено 425 из 8672 потенциально возможных гаплотипов. Наиболее часто встречающимся HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 гаплотипом является А*24:02-В*40:02-С*03:04-DRB1*04:01-DQB1*03:01

(3,27%), а затем следуют А*01:01-В*37:01-С*06:02-DRB1*10:01-DQB1*05:01, А*23:01-В*44:03-С*04:01-DRB1*07:01-DQB1*02:02, А*02:01-В*13:02-С*06:02-DRB1*07:01-DQB1*02:02. На эти гаплотипы приходится 8,06% от общего числа.

Соответствие равновесному распределению Харди-Вайнберга выявляли с помощью программного обеспечения Arlequin 3.5. Результаты анализа для каждого локуса представлены в табл. 4.

Для локусов HLA-B, HLA-C и HLA-DQB1 значение $p > 0,05$ – следовательно, распределение генотипов данных локусов соответствует закону Харди-Вайнберга. Для локусов HLA-A и HLA-DRB1 выявлены отклонения от закона Харди-Вайнберга ($p < 0,05$) (см. табл. 4).

Отклонения от равновесного состояния объясняются генетической гетерогенностью выборки и ее малым размером, вследствие чего увеличивается число гомозигот и уменьшается число гетерозигот относительно ожидаемых показателей.

Обсуждение

В настоящее время известны данные о частотах встречаемости HLA-аллелей и гаплотипов в некоторых российских популяциях [2, 8, 11–14]. При этом в большинстве исследований представлены результаты HLA-типирования в низком разрешении [2, 3, 11] или только локусов II класса [15].

Данное исследование позволило получить данные о частотах встречаемости HLA-аллелей и гаплотипов в популяции бурят, проживающих на территории Иркутской области. В исследованной группе выявлены: 31 аллель по локусу A, 57 – по локусу B, 33 – по локусу C, 42 – по локусу DRB1, 19 – по локусу DQB1.

Полученные данные свидетельствуют о следующем профиле частоты распределения аллельных групп локуса HLA-A: HLA-A*24 (22,33%), HLA-A*02 (22,08%), HLA-A*01 (10,92%), который сильно отличается от профилей большинства российских популяций. Для популяции, проживающей на территории Кировской области, распределение частот выглядит как HLA-A*02, А*03, А*24 [2]; для татар, проживающих на территории Республики Татарстан, – HLA-A*02, А*03, А*24 [11]; для русских, проживающих на территории Челябинской области, – HLA-A*02, А*01, А*03 [12]. Это вполне ожидаемо, так как буряты относятся к монголоидной расе, а вышеперечисленные популяции – к европеоидной.

Три наиболее часто встречающихся в популяции бурят аллеля по локусу HLA-A – HLA-A*24:02 (22,08%), HLA-A*02:01 (13,65%), HLA-A*01:01 (10,92%), – по данным сайта The Allele Frequency Net Database [16], совпадают с аллелями в популяции монголов – HLA-A*24:02:01 (20%), HLA-A*02:01:01 (14,3%), HLA-A*01:01:01 (11,4%). Также аллельная группа HLA-A*24 является наиболее часто встречающейся в популяции этнической группы хотонов, относящихся к монголам [16].

Схожие профили распределения частот встречаемости аллелей локуса HLA-A наблюдаются у всех подгрупп монгольского народа [16].

Для локуса HLA-B распределение аллельных групп следующее: HLA-B*40 (18,61%), HLA-B*51 (8,81%), HLA-B*37 (7,07%). В популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан, наибольшей частотой встречаемости обладают группы HLA-B*35 (11,51%), HLA-B*07 (10,76%), HLA-B*13 (9,3%), а на самый частый аллель из выявленных в данном исследовании HLA-B*40 приходится 6,39% – также, как и на аллель HLA-B*51 [8].

Для Кировской области наиболее часто встречающимися являются аллельные группы HLA-B*35, HLA-B*07, HLA-B*44. На аллель HLA-B*40 приходится лишь 2,91% [2].

В ходе исследования были выявлены аллельные группы HLA-B*67 (0,12%) и HLA-B*81 (0,25%), которые не обнаружены в популяциях Кировской области и Республики Башкортостан [2, 8].

У подгруппы халха-монголов HLA-B*40 также является наиболее частым вариантом (14,5%), на 2-м месте – HLA-B*51 (12,5%), а на 3-м – HLA-B*15 (11,5%), который занял 5-е место по частоте в популяции бурят [16]. Аллель HLA-B*58, имеющий в популяции бурят частоту встречаемости 4,84%, является наиболее часто встречающимся (19,4%) аллелем у популяции цаатанов – тюркоязычного народа Монголии [16].

Среди аллельных групп HLA-C наиболее часто встречающимися являются HLA-C*03 (30,15%), HLA-C*06 (15,63%), HLA-C*07 (13,4%). Схожий профиль распределения аллелей характерен для популяции халха-монголов – HLA-C*03 (31%), HLA-C*07 (16,5%), HLA-C*06 (10%) [16].

HLA-C*07, расположившийся на 3-м месте, является самым частым аллелем в популяции Кировской области [2], HLA-C*06 – третьим по частоте, а HLA-C*03 – пятым [2]. Похожий профиль выявлен для популяции, проживающей на территории республики Башкортостан: HLA-C*07, C*06, C*04, C*03 [8].

На данный момент объем данных о частотах встречаемости локуса HLA-C в российских популяциях невелик. Возможно, причина этого в том, что большинство исследований в российских популяциях так или иначе связаны с базами данных потенциальных доноров ГСК, а минимальным требованием для включения доноров в регистр является HLA-типирование только по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 [17, 18].

Среди аллельных вариантов локуса HLA-DRB1 наиболее часто встречаются HLA-DRB1*04 (19,59%), HLA-DRB1*07 (13,65%). Аллель HLA-DRB1*07 (17,25%) также является самым частым в популяции, проживающей на территории республики Башкортостан [8], и вторым по встречаемости на территории Кировской области [2].

Аллель HLA-DRB1*03:01, который занимает 1-е место по частоте выявления в популяции монгольских хотонов (14,3%), у изученной нами популяции представлен значительно реже и имеет частоту встречаемости 5,21% [16]. Аллель HLA-DRB1*07:01 так же, как и в изученной популяции, преобладает над другими вариантами у халха-монголов (12%) [16]. Наиболее часто встречающийся аллель в популяции оолд-монголов HLA-DRB1*11:01 (13,5%) [16] в популяции бурятов имеет частоту 4,83%.

Согласно исследованию популяции бурят ($n = 87$), проживающих на территории

Таблица 3

**Гаплотипы HLA-A-B-C-DRB1-DQB1
в порядке уменьшения частоты встречаемости**

Гаплотипы HLA-A-B-C-DRB1-DQB1	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
A*24:02-B*40:02-C*03:04-DRB1*04:01-DQB1*03:01	0,032653	0,006845
A*01:01-B*37:01-C*06:02-DRB1*10:01-DQB1*05:01	0,029777	0,005578
A*23:01-B*44:03-C*04:01-DRB1*07:01-DQB1*02:02	0,028477	0,005783
A*02:01-B*13:02-C*06:02-DRB1*07:01-DQB1*02:02	0,022333	0,005155
A*33:03-B*58:01-C*03:02-DRB1*13:02-DQB1*06:09	0,018610	0,004566
A*24:02-B*07:02-C*07:02-DRB1*15:01-DQB1*06:02	0,018557	0,005649
A*01:01-B*37:01-C*06:02-DRB1*15:01-DQB1*06:02	0,013638	0,004164
A*33:03-B*58:01-C*03:02-DRB1*03:01-DQB1*02:01	0,011166	0,003684
A*02:01-B*51:01-C*15:02-DRB1*12:01-DQB1*03:01	0,011156	0,003561
A*31:01-B*48:01-C*08:01-DRB1*12:01-DQB1*03:01	0,010859	0,003513

Гусино-Озерского района Бурятии, проведенному М.Н. Болдыревой и соавт. [16], выявлен схожий профиль распределения частот встречаемости аллелей локуса HLA-DRB1 – HLA-DRB1*04 (20,1%), DRB1*14 (14,4%) и DRB1*07 (13,2%).

Наиболее часто встречающийся в популяции бурят аллель HLA-DQB1*03:01 (29,9%) также значительно преобладает над другими выявленными аллелями в популяциях халха-монголов (25,5%) и оолд-монголов (44,2%). HLA-DQB1*02:02, занимающий в изученной нами популяции 2-е место (частота 11,29%), в популяции монголов выявлен значительно реже (6%) [16]. Несколько отличается профиль распределения частот встречаемости в популяции Тариланских хотонов: DQB1*02:01 (28,8%), DQB1*03:01 (24,6%), DQB1*05:01 (10,3%) [16].

В популяции Кировской области аллельная группа HLA-DQB1*03 также преобладает над всеми остальными – на нее приходится 32,48% [2].

Наиболее часто встречающийся в изученной популяции HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 гаплотип – A*24:02-B*40:02-C*03:04-DRB1*04:01-DQB1*03:01 имеет частоту встречаемости 3,27%. Отсутствие данных о пятилокусных гаплотипах для изученных российских популяций и популяций монголов не позволяет провести сравнение полученных данных.

Проведенные исследования позволили выявить сходство профиля HLA-аллелей бурят, проживающих на территории Иркутской области, с большинством популяций монголов и бурят, проживающих на территории Республики Бурятия, и ряд генетических отличий от некоторых российских популяций – так, частоты встречаемости HLA-аллелей по локусам HLA класса I значительно

Таблица 4

**Уровни соответствия закону Харди–Вайнберга
и ожидаемая гетерозиготность изученных локусов**

Локус	Количество образцов	Гетерозиготность		Достижимый уровень значимости (p -value)	Стандартное отклонение
		обнаруженная экспериментально	ожидаемая		
HLA-A	403	0,90323	0,89402	0,02585	0,00009
HLA-B	403	0,94045	0,94782	0,14008	0,00005
HLA-C	403	0,90819	0,90631	0,59121	0,00023
HLA-DRB1	403	0,92556	0,93883	0,01980	0,00005
HLA-DQB1	403	0,87841	0,86493	0,11710	0,00022

отличаются от выявленных профилей частот встречаемости у потенциальных доноров, проживающих на территории Кировской области и Республики Татарстан [2, 11].

Выявленный новый аллель, а также отличия в HLA-профиле относительно некоторых российских популяций, обуславливают важность проведения дальнейших исследований популяций, проживающих на территории Иркутской области, что будет способствовать генетическому разнообразию национального регистра потенциальных доноров ГСК.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-04-00059).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мелкова К.Н. Аллогенная трансплантация костного мозга: ключевые аспекты и основные этапы развития. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2012; 5(1): 1–3.
2. Логинова М.А., Парамонов И.В., Трофимова Н.П. HLA-аллели I и II классов и гаплотипы у населения, проживающего на территории Кировской области. *Вестник службы крови России*. 2010; (3): 27–31.
8. Логинова М.А., Парамонов И.В., Павлов В.Н., Сафуанова Г.Ш. Генетические особенности популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18(1): 58–66.
9. Население России: численность, динамика, статистика. <http://www.statdata.ru/russia> (доступ 06.04.17)
13. Рудакова Г.А., Вавилов М.Н., Беляева С.В., Завьялова Т.М., Суздалева С.Л., Сулова Т.А. Опыт подбора совместимых доноров костного мозга из регистра Челябинской ОСПК. *Вестник гематологии*. 2015; 11(2): 27–8.
14. Преимачук Е.А., Степанов А.А., Коротаев Е.В. Пономарев С.А. Распределение аллелей HLA у жителей Ханты-Мансийского автономного округа. *Вестник гематологии*. 2015; 11(2): 26–7.
15. Болдырева М.Н., Гуськова И.А., Богатова О.В., Янкевич Т.Э., Хромова Н.А., Кабдулова Д.Д. и др. HLA-генетическое разнообразие населения России и СНГ. III. Народы Евразии. *Иммунология*. 2006; 6: 324–9.
18. Павлова И.Е., Бубнова Л.Н., Реутова Н.В., Беляева Е.В. Международные требования к проведению иммуногенетического обследования при выполнении трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и аккредитации лабораторий тканевого типирования. *Медицинская иммунология*. 2011; 13(4–5): 541–3.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

1. Melkova K.N. Allogeneic bone marrow transplantation: key aspects and main stages of development. *Clinical oncohematology. Fundamental research and clinical practice. (Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika)*. 2012; 5 (1): 1–3. (in Russian)
2. Loginova M.A., Paramonov I.V., Trofimova N.P. HLA alleles of I and II classes and haplotypes in the population living in the territory of the Kirov region. *Bulletin of Blood Service of Russia (Vestnik sluzhby krovi Rossii)*. 2010; (3): 27–31. (in Russian)
3. Kupatawintu P., Pheancharoen S., Srisuddee A., Tanaka H., Tadokoro K., Nathalang O. HLA-A, -B, -DR haplotype frequencies in the Thai Stem Cell Donor Registry. *Tissue Antigens*. 2010; 75(6): 730–6.
4. Mack S.J., Tu B., Lazaro A., Lankaster A.K., Cao K., Ng J., et al. HLA-A, -B, -C and -DRB1 allele and haplotype frequencies distinguish Eastern European Americans from the general European American population. *Tissue Antigens*. 2009; 73(1): 17–32.
5. Sulcebe G., Sanchez-Mazas A., Tiercy J.M., Shyti E., Mone I., Ylli Z., Kardhashi V. HLA allele and haplotype frequencies in the Albanian population and their relationship with the other European populations. *Int. J. Immunogenet.* 2009; 36(6): 337–43.
6. Mackay I., Rosen F.S. The HLA system. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343(11): 782–7.
7. Petersdorf E.W., Hansen J.A., Martin P.J., Woolfrey A., Malkki M., Gooley T., et al. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345(25): 1794–800.
8. Loginova M.A., Paramonov I.V., Pavlov V.N., Safuanova G.Sh. Genetic features of the population living on the territory of the Republic of Bashkortostan. *Bulletin of Transplantology and Artificial Organs. Russian Journal (Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov)*. 2016; 18(1): 58–66. (in Russian)
9. Population of Russia: number, dynamics, statistics. Available at: <http://www.statdata.ru/russia> (accessed 06 Apr 2017).
10. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*. 2007; 23(1): 47–50. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2658868/>. (accessed 06 Apr 2017).
11. Loginova M., Paramonov I. HLA class I and class II and haplotypes in Tatars, living in the Republic of Tatarstan, Russia. 28th Annual Meeting Abstracts. *Tissue Antigens*. 2014; 84(1): Abstr.136.
12. Suslova T.A., Burmistrova A.L., Chernova M.S., Khromova E.B., Lupar E.I., Timofeeva S.V. Et al. HLA gene and haplotype frequencies in Russians, Bashkirs and Tatars, living in the Chelyabinsk Region (Russian South Urals). *Inter. J. Immunogenetics*. 2012; 39(5): 394–408.
13. Rudakova G.A., Vavilov M.N., Belyaeva S.V., Zavyalova T.M., Suzdaleva S.L., Suslova T.A. Experience of selection of compatible bone marrow donors from the register of the Chelyabinsk ISPK. *Journal of Hematology. Russian Journal (Vestnik gematologii)*. 2015; 11(2): 27–8. (in Russian)
14. Preimachuk E.A., Stepanov A.A., Korotaev E.V., Ponomarev S.A. Distribution of HLA alleles among residents of the Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug. *Journal of Hematology. Russian Journal (Vestnik gematologii)*. 2015; 11(2): 26–7. (in Russian)
15. Boldyreva M.N., Guskova I.A., Bogatova O.V., Yankevich T.E., Khromova N.A., Kabdulova D.D., et al. HLA-genetic diversity of the population of Russia and the CIS. III. The peoples of Eurasia. *Immunology. Russian Journal (Immunologiya)*. 2006; 6: 324–9. (in Russian)
16. The Allele Frequency Net Database. Available at: <http://www.allelefrequencies.net/> (accessed 06 Apr 2017).
17. Standards for Histocompatibility and Immunogenetics Testing. Available at: <http://efiweb.eu/> (accessed 06 Apr 2017).
18. Pavlova I.E., Bubnova L.N., Reutova N.V., Belyaeva E.V. International requirements for conducting immunogenetic examination in the implementation of transplantation of hematopoietic stem cells and the accreditation of tissue typing laboratories. *Medical immunology. Russian Journal (Medicinskaya immunologiya)*. 2011; 13(4–5): 541. (in Russian)

Поступила 22.09.17

Принята к печати 20.10.17

Катаева Е.В.¹, Голенков А.К.¹, Митина Т.А.¹, Клинушкина Е.Ф.¹, Трифонова Е.В.¹,
Высоцкая Л.Л.¹, Черных Ю.Б.¹, Чуксина Ю.Ю.¹, Когарко И.Н.², Когарко Б.С.²,
Марьина С.А.³, Белоусов К.А.¹, Захаров С.Г.¹

КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНЫХ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

¹ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт
им. М.Ф. Владимирского», 129110, г. Москва, Россия;

²Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, 119991, г. Москва, Россия;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России,
126167, г. Москва, Россия

У 15 больных впервые выявленным хроническим лимфолейкозом проводили анализ свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов (Ig) сыворотки крови методом Free Light. Одновременно изучали иммунофенотип лимфоцитов периферической крови (включая κ/λ-соотношение легких цепей Ig), выраженность абсолютного лимфоцитоза и клинические проявления болезни. У 11 из 15 больных отмечен клональный характер изменений концентраций СЛЦ. При этом у 7 установлен κ-тип клона (κ/λ > 1,65), у 4 – λ-тип клона (κ/λ < 0,26). Клональность по СЛЦ совпадала с изотипом легких цепей Ig клональных В-лимфоцитов, установленным при иммунофенотипическом исследовании. У остальных 4 больных не выявлено клонального характера концентраций СЛЦ, хотя была обнаружена рестрикция по λ-типу легкой цепи на мембране клональных В-лимфоцитов и наличие абсолютного лимфоцитоза в анализах крови. У 10 больных концентрацию СЛЦ изучали до и после проведения 6 курсов RFC-терапии. В этой группе у 6 больных был обнаружен опухолевый клон СЛЦ. После лечения у 4 пациентов получено снижение концентрации опухолевых легких цепей в среднем на 63,1%, нормализация κ/λ-соотношения на В-лимфоцитах, что совпадало с отсутствием абсолютного лимфоцитоза. У 2 больных не было отмечено снижения концентрации опухолевых СЛЦ, хотя нормализовалось κ/λ-соотношение на мембране В-лимфоцитов, отсутствовал абсолютный лимфоцитоз, что сопровождалось клиническим улучшением. У 4 больных концентрация СЛЦ сыворотки крови до и после лечения колебалась в пределах нормальных значений. Таким образом, у 73,7% больных в ходе исследования был отмечен клональный характер изменений концентраций СЛЦ. Данный критерий можно рассматривать как интегральный показатель массы опухоли и фактор эффективности терапии.

Ключевые слова: свободные легкие цепи; хроническим лимфолейкоз; RFC-терапия; эффективность лечения.

Для цитирования: Катаева Е.В., Голенков А.К., Митина Т.А., Клинушкина Е.Ф., Трифонова Е.В., Высоцкая Л.Л., Черных Ю.Б., Чуксина Ю.Ю., Когарко И.Н., Когарко Б.С., Марьина С.А., Белоусов К.А., Захаров С.Г. Клинические аспекты определения свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови у больных хроническим лимфолейкозом. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(3): 153-157. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-153-157>

Kataeva E.V.¹, Golenkov A.K.¹, Mitina T.A.¹, Klinushkina E.F.¹, Trifonova E.V.¹, Vysotskaya L.L.¹, Chernykh Yu.B.¹,
Chuksina Yu.Yu.¹, Kogarko I.N.², Kogarko B.S.², Maryina S.A.³, Belousov K.A.¹, Zakharov S.G.¹

CLINICAL ASPECTS OF SERUM-FREE IMMUNOGLOBULIN LIGHT CHAINS DETECTION IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

¹Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, 129110, Russian Federation;

²N. Semenov Institute Chemical Physics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991, Russian Federation;

³National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation

Presence of Serum-Free Immunoglobulin Light Chains (sFLC) was analyzed for 15 patients with newly diagnosed Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). All patients were also characterized by peripheral blood lymphocytes' immunotype (including κ/λ), presence of absolute lymphocytosis and clinical data. Of the 15 patients 11 had elevated concentrations of monoclonal sFLC: 7 patients had elevated κ sFLC (κ/λ ratio > 1,65); 4 patients had elevated λ sFLC (κ/λ ratio < 0,26). The type of elevated clone for sFLC was the same as the isotype of clonal lymphocytosis. The remaining 4 of 15 patients did not have elevated concentrations of sFLC whereas clonal lymphocytosis (λ type for all 4 patients) and absolute lymphocytosis were observed. 10 of 15 patients received 6 courses of RFC-therapy. For those patients sFLC concentration was measured before and after the therapy. In 6 of 10 patients tumor clone of sFLC was detected. After RFC-therapy, 4 of those patients demonstrated a reduction in concentrations of elevated sFLC on average for 63,1% and a normal κ/λ ratio that corresponded with the absence of clonal and absolute lymphocytosis. The remaining 2 patients did not have a decrease in sFLC concentrations and had abnormal κ/λ ratio, however, tumor clone lymphocytes and absolute lymphocytosis were not detected, that was presented with better overall clinical outcome. In 4 out of 10 patients that demonstrated no initial elevation in

clonal sFLC, measured sFLC concentrations varied within the normal range. Conclusions: 73,7% of CLL patients in our study showed elevated concentrations of clonal sFLC. Serum-Free Light Chains concentration could serve as an integral criterion for evaluation of tumor mass and therapy effectiveness.

Key words: Serum-Free Light Chains; Chronic Lymphocytic Leukemia; RFC-therapy; therapy effectiveness.

For citation: Kataeva E.V., Golenkov A.K., Mitina T.A., Klinushkina E.F., Trifonova E.V., Vusotskaya L.L., Chernykh Yu.B., Chuksina Yu.Yu., Kogarko I.N., Kogarko B.S., Mariina S.A., Belousov K.A., Zakharov S.G. Clinical aspects of serum-Free Immunoglobulin Light Chains detection in patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2017; 62(3): 153-157. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-153-157>

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 06 October 2017

Accepted 20 October 2017

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) относится к лимфо-пролиферативным заболеваниям и характеризуется накоплением CD5⁺ В-лимфоцитов. Опухолевый клон определяется в крови, костном мозге, лимфатических узлах, печени, селезенке и других органах.

В связи с тем, что в норме В-лимфоциты являются предшественниками клеток-антителопродуцентов, у части больных ХЛЛ опухолевые лимфоциты сохраняют способность синтезировать моноклональные иммуноглобулины (Ig). Это подтверждается исследованиями, обнаружившими М-градиент при электрофорезе белков сыворотки крови и иммунофиксации [1].

При определении свободных легких цепей (СЛЦ) Ig сыворотки крови при ХЛЛ методом Free Light, чувствительность которого значительно выше электрофореза или иммунофиксации, изменение концентрации СЛЦ или клональный характер к/λ-отношения наблюдаются значительно чаще [1].

Рассматривая более детально патогенез ХЛЛ, следует учитывать этапы В-лимфогенеза, которые могут быть мишенями для опухолевой трансформации. Первой подобной точкой В-клеточной дифференцировки, которая подвергается опухолевой трансформации, может быть лимфоцит, не прошедший через зародышевый центр фолликула лимфатического узла. В этих случаях развивается немутированная форма ХЛЛ. Другой вероятной точкой развития ХЛЛ может быть В-лимфоцит, прошедший через зародышевый центр, где он подвергается соматической гипермутации и селекции с последующим превращением в В-лимфоцит памяти. В этих случаях развивается мутированная форма болезни. Имеющиеся

исследования в этом направлении также подтверждают это положение на генетическом и клиническом уровнях [2]. При измененном к/λ-отношении СЛЦ Ig сыворотки крови чаще выявляются немутированные формы генов, кодирующих синтез вариабельных регионов тяжелых цепей Ig [3]. Связь выявленных изменений концентраций СЛЦ Ig сыворотки крови у больных ХЛЛ с клинической картиной заболевания представлены в ряде работ [3–6]. При этом установлено три типа нарушений синтеза СЛЦ Ig сыворотки крови при ХЛЛ [3].

Первое выражается в моноклональном увеличении концентрации κ- или λ-СЛЦ, определяемом по измененному к/λ-отношению. Другое – в поликлональном увеличении концентрации СЛЦ (увеличении концентрации κ и/или λ с нормальным к/λ-отношением). Третье нарушение характеризуется измененным к/λ-отношением без увеличения концентрации κ- или λ-СЛЦ. Отмечено уменьшение времени до начала терапии и общей выживаемости в группе больных ХЛЛ с измененным к/λ-отношением по сравнению с больными с нормальной концентрацией СЛЦ Ig сыворотки крови [5, 6].

Основываясь на представленных данных литературы, можно рассматривать концентрацию СЛЦ Ig как новый биологический маркер, позволяющий разделить ХЛЛ по этому признаку на СЛЦ-позитивную и СЛЦ-негативную формы. Больные ХЛЛ с разными формами могут иметь разные прогностические риски течения заболевания. Интерес к этим исследованиям по-прежнему остается высоким. Это связано с недостаточным количеством работ по использованию метода определения концентрации СЛЦ Ig сыворотки крови в качестве критерия эффективности терапии.

Цель работы – оценить влияние изменения концентрации СЛЦ Ig сыворотки крови на клиническое течение и эффективность противоопухолевого лечения.

Материал и методы

В исследование включены 15 больных ХЛЛ (13 мужчин и 2 женщины) в возрасте от 41 до 74 лет, средний возраст 56 лет. Стадию болезни и эффективность лечения оценивали согласно критериям, которые были предложены Международной рабочей группой по хроническому лимфолейкозу (IWCLL) в 2008 г. [7].

Впервые выявленный ХЛЛ был у 12 больных, из них у 6 – II стадия, а еще у 6 – IV стадия по Rai [7]. У 3 больных диагностирован рецидив после лечения программами RFC (ритуксимаб, флударабин, циклофосфан) и RB (ритуксимаб, бендамустин) [8], все 3 больных со II стадией по Rai, из них у 2 зафиксирована резистентность к проводимому лечению. Всем больным проводили стандартные клинические исследования и иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови (ПК) для установления диагноза и подтверждения рецидива. Концентрацию СЛЦ Ig определяли в сыворотке крови больных нефелометрическим методом на иммунохимическом анализаторе Immage 800

Для корреспонденции:

Катаева Елена Васильевна, кандидат мед. наук, старший научный сотрудник отделения клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», 129110, г. Москва, Россия. E-mail: e.kataeva2010@yandex.ru.

For correspondence:

Kataeva Elena V., MD, PhD, senior researcher Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, 129110, Russian Federation. E-mail: e.kataeva2010@yandex.ru.

Information about authors:

Kataeva E.V., <http://orcid.org/0000-0003-2650-7646>;
Golenkov A.K., <http://orcid.org/0000-0002-6523-9157>;
Mitina T.A., <http://orcid.org/0000-0001-7493-0030>;
Klinushkina E.F., <http://orcid.org/0000-0001-8249-5753>;
Trifonova E.V., <http://orcid.org/0000-0001-8132-3378>;
Vusotskaya L.L., <http://orcid.org/0000-0002-4604-2842>;
Chernykh Yu.B., <http://orcid.org/0000-0002-7271-1560>;
Chuksina Yu.Yu., <http://orcid.org/0000-0002-4393-1759>;
Kogarko I.N., <http://orcid.org/0000-0002-5065-6249>;
Kogarko B.S., <http://orcid.org/0000-0002-3879-1528>;
Maryina S.A., <http://orcid.org/0000-0003-3116-6764>;
Belousov K.A., <http://orcid.org/0000-0001-9028-7671>;
Zakharov S.G., <http://orcid.org/0000-0003-2847-4374>.

Таблица 1

Сравнительный анализ к/λ-отношения СЛЦ Ig сыворотки крови, иммунофенотипа лимфоцитов крови, клинических данных у 15 больных ХЛЛ

№ исследования	Отношение к/λ-СЛЦ (клон) (норма 0,26–1,65)	Отношение к/λ на В-лимфоцитах крови (норма 2,5–4)	Абсолютный лимфоцитоз крови, $\times 10^9/\text{л}$ (норма до $5 \times 10^9/\text{л}$)	Стадия и фаза болезни
κ-тип ($\kappa/\lambda > 1,65$)				
1	2,85	2,7	7,8	II BB
2	3,3	11,1	90,0	IV BB
3	3,63	59,8	24,9	IVBB
4	2,84	2	0,56	II PP
5	4,72	5,3	3,6	II PP
6	8,97	23	181,0	IV BB
λ-тип ($\kappa/\lambda < 0,26$)				
7	0,16	0,007	26,3	II BB
8	0,11	0,054	9,2	II PP
9	0,09	0,003	53,9	IV BB
10	0,25	Н.д.	93,0	IV BB
11	0,15	0,009	83,0	II BB
Нет клона ($0,26 > \kappa/\lambda < 1,65$)				
12	0,32	0,03	216	IV BB
13	1,47	0,05	21	II BB
14	0,62	0,05	40	II BB
15	0,5	0,02	191	II BB

Примечание. Здесь и в табл. 2: BB – впервые выявленный ХЛЛ, PP – резистентный/рецидивный ХЛЛ (стадия по Rai [7]).

“Beckman Coulter”, США (метод Free Light). Использовали поликлональные антисыворотки к κ- и λ-СЛЦ (“Binding Site”, Англия). Иммунофенотипирование лимфоцитов ПК проводили методом 4-цветной проточной цитофлуориметрии (2-лазерный проточный цитометр “Facs Calibur”, США) с использованием панели моноклональных антител “Becton Dickinson”, США. Определяли экспрессию CD45, CD19, CD20, CD22, CD5, CD23, CD38, а также экспрессию легких цепей Ig и их соотношение (κ/λ).

Определение концентрации СЛЦ Ig и оценку соотношения κ/λ на поверхности лимфоцитов ПК проводили перед началом курса терапии или через 2 мес после предыдущего цикла лечения. У 10 больных концентрацию СЛЦ Ig сыворотки крови исследовали в динамике до и после завершения 6 индукционных циклов RFC-терапии. RFC-терапия включала в себя инфузионное введение ритуксимаба 375 мг/м² в 1-й день 1-го цикла, со 2-го цикла – 500 мг/м², флударабин 25 мг/м² в виде в/в инфузии во 2–4-й дни или 40 мг/м² в таблетках во 2–4-й дни, циклофосфан 250 мг/м² в/в струйно во 2–4-й дни. Циклы повторяли каждые 4 недели.

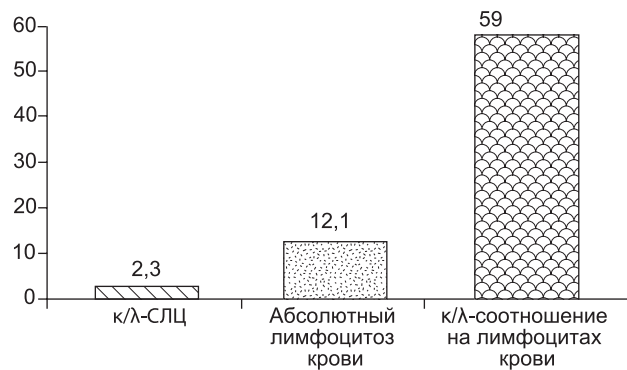
Статистическую обработку данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты

При изучении концентраций СЛЦ Ig сыворотки крови клональный (опухолевый) характер изменений κ/λ-отношения выявлен у 11 (73,7%) из 15 больных ХЛЛ (табл. 1). У 6 больных установлен κ-тип опухолевого клона, у 5 – λ-тип. У остальных 4 (36,3%) больных κ/λ-отношение было в пределах нормы (0,26–1,65) [9], что свидетельствовало об отсутствии клонального характера изменений концентрации СЛЦ. Из 11 больных с наличием клона СЛЦ Ig сыворотки крови у 9 установлено повышение концентрации одного изотипа СЛЦ. У 2 других клональный тип κ/λ-отношения был сформирован за счет супрессии κ-СЛЦ. Анализ концентрации СЛЦ у больных с нормальным κ/λ-отношением выявил их колебания в пределах нормальных значений у 2 больных. В этой группе

у 1 больного было отмечено увеличение концентрации κ-СЛЦ до 16,3 мг/л (норма до 7,3 мг/л) и значительное увеличение концентрации λ-СЛЦ до 51,4 мг/л (норма 12,7 мг/л), что можно расценивать как поликлональный (неопухолевый) характер их изменения [2]. У другого больного выявлена супрессия κ-СЛЦ, на что указывает их концентрация, выходящая за пределы нижней границы нормы.

Проведен сравнительный анализ между κ/λ-отношением СЛЦ в сыворотке крови, соотношением κ/λ-цепей на поверхности лимфоцитов ПК, абсолютным лимфоцитозом и клинической картиной заболевания у 11 больных (см. рисунок). Для этого использовали показатель кратности превышения нормальных значений изучаемых параметров. Кратность превышения нормальных значений для κ/λ-отношения СЛЦ составила 2,3, для абсолютного лимфоцитоза крови 12,1, κ/λ-соотношения на лимфоцитах ПК – 59. У всех больных диагностированы



Кратность превышения нормальных значений κ/λ-СЛЦ Ig, абсолютного лимфоцитоза крови, κ/λ-соотношения на В-лимфоцитах крови у 11 больных ХЛЛ с наличием СЛЦ-клона.

Таблица 2

Динамика концентраций СЛЦ у 10 больных ХЛЛ после 6 индукционных циклов RFC-терапии

№ исследования	Отношение концентраций СЛЦ к/λ в сыворотке крови*		Концентрация опухолевых СЛЦ, мг/л		Концентрация неопухолевых к-СЛЦ, мг/л		Концентрация неопухолевых λ-СЛЦ, мг/л		к/λ-соотношение на мембране В-лимфоцитов ПК**		Лимфоциты, × 10 ⁹ /л		Фаза болезни	Ответ на ХТ
	до	после ХТ	до	после ХТ	до	после ХТ	до	после ХТ	до	после ХТ	до	после ХТ		
1	0,5(-)	0,96(-)	—	—	2,9	8,5	5,8	8,8	0,02	0	191	2,8	ВВ	ПР
2	2,84(+)	4,19(+)	41,2 κ	41,2 κ	—	—	14,5	9,8	2,0	0	0,5	0,6	РР	ПБ
3	0,62(-)	1,69(+)	—	—	11,6	51	18,8	30,1	0,05	0	40,9	0,9	ВВ	ЧР
4	0,25(+)	0,19(+)	27,7 λ	47,1 λ	6,9	8,7	—	—	14,9	N	93	0,5	ВВ	ЧР
5	0,11(+)	0,53(-)	124 λ	20,8 λ	13,2	11	—	—	0,054	2,5	9,2	1,6	ВВ	ПР
6	0,32(-)	0,82(-)	—	—	16,3	19,3	51,4	23,5	0,03	0	216	0,7	ВВ	ЧР
7	3,3(+)	1,0(-)	27,1 κ	12,6 κ	—	—	8,2	12,4	11,1	3,0	90	1,4	ВВ	ПР
8	0,16(+)	0,4(-)	16,9 λ	11 λ	2,8	4,4	—	—	0,007	2,7	26	0,8	ВВ	ЧР
9	3,63(+)	0,69(-)	36,4 κ	8,17 κ	—	—	9,54	11,9	55,8	0	24,9	0,8	ВВ	ЧР
10	1,47(-)	1,06(-)	—	—	9,95	8,39	6,76	7,94	0,05	0	21,6	1,6	ВВ	ЧР
Средние величины/диапазон изменений			κ		κ		(M ± m)		(M ± m)		(M ± m)		(M ± m)	
			34,9		20,7		9,0 ± 2,1		15,8 ± 5,6		16,4 ± 5,3		14,9 ± 3,4	
			(27,1–41,2)		(8,2–41,2)									
			λ 56,2		λ 26,3									
			(16,9–124)		(11–47,1)									

Примечание. * – минус – СЛЦ-негативный клон (κ/λ = 0,26–1,65); плюс – СЛЦ-позитивный клон κ или λ (κ/λ < 0,26 или κ/λ > 1,65); ** – клон κ – κ/λ ≥ 4, клон λ – κ/λ ≤ 0,5. ХТ – химиотерапия; ПБ – прогрессирование болезни.

II и IV стадии болезни. Оценивая полученные результаты, важно подчеркнуть, что динамика выявленных изменений была схожа. Это означает, что при СЛЦ-позитивном варианте заболевания СЛЦ Ig сыворотки крови секретируются опухолевыми клетками. Однако большие различия кратностей превышения (СЛЦ – 2,3; соотношение κ/λ мембранной экспрессии на лимфоцитах ПК – 59) позволяют утверждать, что интенсивность синтеза СЛЦ при ХЛЛ опухолевой клеткой достаточно низкая.

У 4 больных с отсутствием клона СЛЦ (СЛЦ-негативный вариант ХЛЛ) была выявлена клональность по κ/λ-соотношению на лимфоцитах ПК (кратность превышения нормальных значений – 23,4). При клиническом исследовании установлен ХЛЛ II и IV стадии. У всех больных клональные лимфоциты были λ-типа.

Обсуждение

Сравнивая две группы больных с СЛЦ-позитивным и СЛЦ-негативным вариантами ХЛЛ, можно отметить клиническое значение выявленных различий.

При СЛЦ-негативном варианте ХЛЛ концентрация СЛЦ в сыворотке крови отражает состояние нормальных клонов антителопродукторов по двум изотипам. При СЛЦ-позитивном варианте только концентрация неопухолевых СЛЦ может указывать на состояние нормальных антителопродукторов по одному изотипу. СЛЦ-позитивный и СЛЦ-негативный варианты ХЛЛ не различались по величине массы опухоли согласно выраженности абсолютного лимфоцитоза крови и клиническому стадированию болезни. Это означает, что СЛЦ-позитивная и СЛЦ-негативная формы ХЛЛ различаются по активности генов, синтезирующих СЛЦ Ig сыворотки крови. В одних случаях (СЛЦ-позитивный вариант) обеспечивается мембранная экспрессия и секреция, в других (СЛЦ-негативный вариант) – реализуется только цитоплазматическая и мембранная экспрессия легких цепей и отсутствует секреция СЛЦ.

Оценку эффективности RFC-терапии после завершения 6-циклового индукционного периода проводили у 10 больных, из них у 6 выявлен СЛЦ-клон, у 4 он отсутствовал. В анализ включали динамику концентрации СЛЦ Ig сыворотки крови, κ/λ-соотношение по экспрессии на циркулирующих В-лимфоцитах крови ПК, абсолютный лимфоцитоз крови и клинический ответ (табл. 2).

В группе больных с СЛЦ-позитивным вариантом ХЛЛ уменьшение концентрации клональных СЛЦ достигнуто у 4 из 6 на 63,1% (в среднем 35–83,3%). Это сопровождалось нормализацией κ/λ-отношения СЛЦ Ig сыворотки крови, которое определялось в пределах 0,4–0,69. При анализе клинических данных полная ремиссия (ПР) установлена у 2, частичная ремиссия (ЧР) у 2 больных. При этом соотношение κ/λ на мембране лимфоцитов ПК нормализовалось, и клон не определялся, а абсолютное число лимфоцитов приближалось к норме. На этом основании можно считать, что нормализация κ/λ-отношения СЛЦ Ig сыворотки крови может быть дополнительным критерием эффективности противоопухолевой терапии за счет визуализации минимальной остаточной болезни при СЛЦ-позитивном варианте ХЛЛ. У 2 больных не отмечено уменьшения концентрации опухолевых СЛЦ, хотя и нормализовалось κ/λ-соотношение на мембране В-лимфоцитов ПК при отсутствии в крови лимфоцитов опухолевого клона и отсутствии абсолютного лимфоцитоза, что сопровождалось клиническим улучшением. Это может свидетельствовать о более высокой чувствительности метода Free Light в определении остаточной болезни по сравнению со стандартными оценочными критериями эффективности лечения и рассматривать концентрацию СЛЦ как интегральный критерий массы опухоли, что очень важно для ХЛЛ, характеризующегося топографической асимметрией опухолевого роста.

У 4 больных с неизменным κ/λ-отношением СЛЦ Ig сыворотки крови (СЛЦ-негативным вариантом ХЛЛ)

после проведения 6-цикловой RFC-индукции был получен клинический результат. У 1 больного достигнута ПР, у 3 больных – ЧР. В этой группе секрецию СЛЦ Ig сыворотки крови расценивали как поликлональную, отражающую состояние нормальных клеток-антителопродуцентов. В этой связи колебания концентрации СЛЦ можно расценивать в аспекте избирательности противоопухолевого действия RFC-программы. У 1 больного наблюдался переход СЛЦ-негативной формы в СЛЦ-позитивную форму ХЛЛ за счет колебания концентрации неопухолевых СЛЦ в процессе лечения. Средние концентрации СЛЦ до лечения были в пределах нормы: κ – 10,1 мг/л (2,9–16,3 мг/л), λ – 20,6 мг/л (5,8–51,4). У 1 больного концентрация κ - и λ -СЛЦ была снижена, что свидетельствовало о гуморальном дефиците.

После завершения программы RFC не зафиксировано цитостатической супрессии антителопродукции. При этом концентрация κ -СЛЦ возросла до 21,8 (норма 8,4–51) мг/л, а λ -СЛЦ снизилась в пределах нормы – 17,5 (норма 7,9–30,1) мг/л. У всех больных циркулирующие лимфоциты, экспрессирующие клональные легкие цепи (все λ -изотипа) не определялись после лечения, а абсолютное число лимфоцитов снизилось до нормальных значений. Анализ полученных результатов позволяет считать, что у больных с СЛЦ-негативным вариантом ХЛЛ RFC-программа лечения обладала высокой избирательностью противоопухолевого действия. Таким образом, проведенное исследование показало, что у 11 (73,7%) из 15 больных ХЛЛ определялось измененное κ/λ -отношение СЛЦ Ig сыворотки крови, что характеризует клональный характер изменения концентрации СЛЦ Ig сыворотки крови. По этому признаку можно выделить СЛЦ-позитивный и СЛЦ-негативный варианты болезни. Определение концентрации клональных СЛЦ Ig сыворотки крови в динамике проводимой терапии при СЛЦ-позитивной форме ХЛЛ является более точным критерием эффективности противоопухолевого лечения по сравнению с критериями нормализации абсолютного количества лимфоцитов ПК и отсутствия рестрикции легких цепей Ig при иммунофенотипическом мониторинге. Анализ изменений концентраций опухолевых СЛЦ и величины СЛЦ-клона позволяет расценивать метод Free Light как более информативный критерий эффективности лечения СЛЦ-позитивного варианта ХЛЛ. Оценка концентрации неопухолевой СЛЦ по одному изотипу при СЛЦ-позитивном варианте ХЛЛ и по двум изотипам СЛЦ-негативного варианта ХЛЛ позволяет визуализировать гуморальный иммунодефицит и избирательность противоопухолевого действия RFC-программы лечения ХЛЛ.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

8. Поддубная И.В., Савченко В.Г., ред. *Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний*. М.; 2016. Доступно на: http://www.hematology.ru/oncohematology/standarts/clinical_guidelines-draft.pdf

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

1. Martin W., Abraham R., Shanafelt T., Clark R.J., Bone N., Geyer S.M., et al. Serum free light chain – a new biomarker for patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Transl. Res.* 2007; 149(4): 231–5.
2. Fabbri G., Dalla-Favera R. The molecular pathogenesis of chronic Lymphocytic leukemia. *Nature Rev. Cancer.* 2016; 16(3): 145–62.
3. Maurer M.J., Cerhan J.R., Katzmman J.A., Link B.K., Allmer C., Zent C.S., et al. Monoclonal and polyclonal serum free light chains and clinical outcome in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2011; 118(10): 2821–6. doi: 10.1182/blood-2011-04-349134.
4. Katzman J.A., Clark R.J., Abraham R.S., Bryant S., Lymph J.F., Bradwell A.R., Kyle R.A. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin. Chem.* 2002; 48(9): 1437–44.
5. Pratt G., Harding S., Holder R., Fegan C., Pepper C., Oscier D., et al. Abnormal serum free light chain ratios are associated with poor survival and may reflect biological subgroups in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2009; 144(2): 217–22. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07456.x.
6. Maurer M.J., Micallef I.N., Cerhan J.R., Katzmman J.A., Link B.K., Colgan J.P., et al. Elevated serum free light chains are associated with event-free and overall survival in two independent cohorts of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29(12): 1620–6. doi: 10.1200/JCO.2010.29.4413.
7. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D., Caligaris-Cappio F., Dighiero G., Dohner H., et al.; International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute – Working Group 1996 guidelines. *Blood.* 2008; 111(12): 5446–56. doi: 10.1182/blood-2007-06-093906.
8. Поддубная И.В., Савченко В.Г., eds. *Russian clinical guidelines for the diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases*. Moscow: 2016. Available at: http://www.hematology.ru/oncohematology/standarts/clinical_guidelines-draft.pdf (in Russian) (accessed 04.04.2017)
9. Despezieri A., Kyle R.A., Katzmman J.A., Therneau T.M., Larson D., Benson J., et al. Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood.* 2008; 111(2): 785–9.

Поступила 06.10.17

Принята к печати 20.10.17

Уважаемые авторы и читатели журнала!

Обращаем Ваше внимание на то, что мы обновили сайт нашего журнала, новый адрес сайта:

www.medlit.ru/journalsview/haemathology

Теперь вы можете подписаться через наш сайт на электронную версию журнала или купить отдельные статьи по издательской цене.

Для этого нужно пройти простую регистрацию на сайте.

ЮБИЛЕЙ

УДК 616.15:92 Погорелов

ВАЛЕРИЙ МИХАЙЛОВИЧ ПОГОРЕЛОВ (к 75-летию юбилею)



11 августа 2017 г. исполнилось 75 лет Валерию Михайловичу Погорелову, доктору медицинских наук, профессору кафедры производственной и клинической трансфузиологии факультета дополнительного профессионального образования Московского государственного медико-стоматологического университета (МГМСУ) им. А.И. Евдокимова.

Валерий Михайлович – профессионал высокого уровня, умеющий выделить главное и прогнозировать ход событий. Очень доброжелательный, эрудированный, интеллигентный человек с широким кругом интересов: хорошо знает историю, литературу и искусство. Пользуется заслуженным уважением и авторитетом.

В 1965 г. окончил с отличием лечебный факультет Астраханского медицинского Института. В 1982 г. защитил под руководством проф. Г.И. Козинца кандидатскую диссертацию на тему «С-сегменты хромосом гемопоэтических клеток в норме и при лей-

козе». В 1992 г. успешно защитил докторскую диссертацию на тему «Морфологические особенности нуклеогенеза лимфоидных клеток в норме, при лимфосаркомах и остром лимфобластном лейкозе». Работал во Всесоюзном научно-исследовательском институте по изучению лепры. В 2007 г. возглавил лабораторию гемоцитологии.

Автор более 200 печатных работ, включая книги и монографии.

Высококвалифицированный специалист в области компьютерного анализа клеточного изображения.

Являлся руководителем нескольких тем научно-исследовательских работ Гематологического научного центра и ответственным исполнителем договоров на проведение опытно-конструкторских работ с другими институтами.

В 2001 г. В.М. Погорелов обосновал включение в Федеральную систему внешней оценки качества (ФСВОК) разделов по лейкоцитарной формуле и диагностике анемий, официальным экспертом которых является по настоящее время.

Под его руководством выполнены и успешно защищены 9 кандидатских диссертаций.

Член проблемных комиссий «Гемобластозы и депрессии кроветворения» и «Фундаментальные исследования в гематологии, трансплантологии, трансфузиологии: гемопоэз, молекулярная биология, биотехнология, иммуногематология, биохимия, биофизика».

С 2010 г. профессор кафедры производственной и клинической трансфузиологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

В 2017 г. введен в состав редакционной коллегии «Journal of Blood Disorders, Symptoms & Treatments» (Канада).

Ученики и коллеги сердечно поздравляют Валерия Михайловича Погорелова с юбилеем.

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.155.294-092:612.017.1.064]-07

Меликян А.Л., Егорова Е.К., Калинина М.В., Пустовая Е.И., Колошейнова Т.И.,
Гилязитдинова Е.А., Суборцева И.Н.

ВТОРИЧНАЯ ИММУННАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ ПРИ ПЕРВИЧНОМ ИММУНОДЕФИЦИТНОМ СОСТОЯНИИ ВО ВЗРОСЛОЙ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

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

Тромбоцитопения – симптом широкого спектра гематологических и негематологических заболеваний, требующий выполнения обширного диагностического поиска. Быстрое выявление основной причины тромбоцитопении влияет на прогноз и лечебную тактику у ряда пациентов с гематологическими заболеваниями. Одной из причин развития вторичной тромбоцитопении являются первичные иммунодефицитные состояния (ПИДС), дебют которых возможен в возрасте старше 18 лет. Диагностика данной патологии затруднена в связи с малой информированностью врачей первичного звена здравоохранения о наличии благоприятно протекающих первичных иммунодефицитов, первым проявлением которых может быть иммунная тромбоцитопения, выявленная у взрослого человека. Данная статья посвящена описанию клинических случаев ПИДС, впервые диагностированного во взрослом возрасте, с дебютом в виде аутоиммунных осложнений.

Ключевые слова: вторичная иммунная тромбоцитопения; первичное иммунодефицитное состояние; селективный иммунодефицит иммуноглобулина А.

Для цитирования: Меликян А.Л., Егорова Е.К., Калинина М.В., Пустовая Е.И., Колошейнова Т.И., Гилязитдинова Е.А., Суборцева И.Н. Вторичная иммунная тромбоцитопения при первичном иммунодефицитном состоянии во взрослой гематологической практике. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(3): 159-163. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-159-163>

Melikyan A.L., Egorova E.K., Kalinina M.V., Pustovaya E.I., Kolosheynova T.I., Gilyazitdinova E.A., Subortseva I.N.

SECONDARY IMMUNE THROMBOCYTOPENIA IN THE PRIMARY IMMUNODEFICIENCY DISORDER IN ADULT HEMATOLOGICAL PRACTICE

National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

Thrombocytopenia is a symptom of a wide range of hematological and non-hematological diseases, requiring extensive diagnostic search. Rapid detection of the main cause of thrombocytopenia affects the prognosis and therapeutic tactics in a number of patients with hematological diseases. One of the reasons for the development of secondary thrombocytopenia are primary immunodeficiency disorders (PID), whose debut is possible at the age of over 18 years. Diagnosis of this pathology is difficult, due to the low alertness of primary care physicians about the presence of favorably occurring primary immunodeficiencies, the first manifestation of which can be the immune thrombocytopenia revealed in an adult. This article is devoted to the report of the clinical cases of newly diagnosed PID in adulthood, debuting from autoimmune complications.

Key words: secondary immune thrombocytopenia; primary immunodeficiency disorder; selective immunodeficiency of immunoglobulin A.

For citation: Melikyan A.L., Egorova E.K., Kalinina M.V., Pustovaya E.I., Kolosheynova T.I., Gilyazitdinova E.A., Subortseva I.N. Secondary immune thrombocytopenia in the primary immunodeficiency state in adult hematological practice (description of clinical cases). *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2017; 62(3): 159-163. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-159-163>

Acknowledgments. The authors thank Shcherbina A.Yu. for her help in formulating of the final diagnosis and the choice of therapeutic tactics in these patients.

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

Received 27 June 2017

Accepted 20 October 2017

Для корреспонденции:

Меликян Анаит Левоновна, доктор медицинских наук, заведующая научно-клинического отделения стандартизации методов терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, 126167, г. Москва, Россия. E-mail: anoblood@mail.ru.

For correspondence:

Melikyan Anait Levonovna, MD, PhD, DSc., Head Department of standardization of methods therapy, National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation. E-mail: anoblood@mail.ru.

Information about authors:

Melikyan A.L., <http://orcid.org/0000-0002-2119-3775>, ResearcherID: M-7116-2014; Egorova E.K., <http://orcid.org/0000-0001-6038-9474>, ResearcherID: G-3839-2016; Gilyazitdinova E.A., <http://orcid.org/0000-0002-3883-185X>; Subortseva I.N., <http://orcid.org/0000-0001-9045-8653>, ResearcherID: M-7101-2014.

Снижение количества тромбоцитов (тромбоцитопения) ниже порогового значения – часто встречающаяся и актуальная проблема в амбулаторном звене здравоохранения. Тромбоцитопения является симптомом многих заболеваний, может встречаться у детей и взрослых и требует проведения обширного диагностического поиска.

Принято выделять наследственные тромбоцитопении, связанные с врожденными дефектами синтеза альфа-гранул, утратой тех или иных рецепторов на мембранах тромбоцитов, и приобретенные, которые могут быть обусловлены нарушением продукции тромбоцитов (лекарственные, токсические, а также возникающие вследствие метастазирования гематологических и негематологических опухолей в костный мозг) и ускоренным разрушением тромбоцитов.

Одной из причин, ускоряющих разрушение тромбоцитов, является появление у человека аутоантител к гликопротеинам на поверхности мембраны клетки. В случае выработки антитромбоцитарных антител класса IgG, направленных против гликопротеинов GPIIb/IIIa или GPIb/IX на поверхности мембраны тромбоцитов, говорят о первичной иммунной тромбоцитопении (идиопатической тромбоцитопенической пурпуре – ИТП); выработки иных аутоантител – о вторичной иммунной тромбоцитопении, которая может являться симптомом инфекционных, в том числе вирусных, аутоиммунных заболеваний (системная красная волчанка, антифосфолипидный синдром, ревматоидный артрит) и первичных иммунодефицитных состояний (ПИДС) [1].

Клинических отличий вторичная иммунная тромбоцитопения не имеет. К диагностическим особенностям можно отнести:

- нормальный уровень тромбоцитассоциированных антител в сыворотке крови;
- сниженное количество мегакариоцитов (МКЦ) в костном мозге (пунктате, трепанобиоптате) и/или гипоплазию кроветворения.

Вторичная иммунная тромбоцитопения обычно встречается у детей и подростков с диагностированными ПИДС, входя в симптомокомплекс последних. В связи с этим вторичная иммунная тромбоцитопения как дебют ПИДС у взрослых в практике врача-гематолога встречается редко, что затрудняет своевременную диагностику и лечение этих случаев [2].

ПИДС – врожденные нарушения иммунной системы, связанные с генетическими дефектами одного или нескольких ее компонентов: системы комплемента, фагоцитоза, гуморального и/или клеточного звеньев [3, 4].

Первый случай ПИДС описал американский педиатр Отген Брутон в 1952 г. на примере 8-летнего мальчика [5], анамнез жизни которого состоял из многочисленных рецидивирующих инфекционных заболеваний: пневмонии, синуситы, отиты, менингиты и сепсис. Во время обследования ребенка при исследовании белков сыворотки крови методом электрофореза была выявлена агаммаглобулинемия. Генетический механизм данного заболевания, а именно – мутация в гене рецепторной тирозиназы, был открыт только в 1993 г., после чего описанная патология получила название X-сцепленная агаммаглобулинемия или болезнь Брутона [6, 7].

В 80% случаев ПИДС диагностируется до 18 лет, и только в 20% случаев при благоприятном течении дебют заболевания и первичная диагностика приходится на взрослый возраст. Исследование, проведенное на основе Бразильского регистра, показало, что число пациентов с ПИДС старше 20 лет составляет около 30% [8]. Это связано с повышением качества общей медицинской помощи больным с различными патологиями, а также с улучшением диагностики и специализированной терапии ПИДС [9].

По эпидемиологическим данным, мужчины болеют в 3 раза чаще женщин, что обусловлено сцепленностью большинства синдромов с X-хромосомой. Частота встречаемости значительно варьирует в зависимости от варианта ПИДС и сейчас, по данным многочисленных исследований, превышает 1 случай на 10 000 населения [10].

В настоящее время классификация ПИДС насчитывает около 300 нозологий, которые подразделяются в зависимости от пораженного звена иммунитета [3, 11]. Пациенты с дефектами гуморального звена иммунитета составляют 60% от всех случаев [12].

Клиническая картина, диагностика и лечебная тактика зависят от варианта ПИДС. Но существует ряд общих клинических характеристик: частые рецидивирующие и хронические инфекции, цитопении, аутоиммунные и аллергические реакции, расстройства пищеварения (диарея и синдром мальабсорбции), осложнения при вакцинации (сепсис), сочетание с врожденными пороками развития, высокий риск развития лимфопролиферативных и онкологических заболеваний.

К клиническим особенностям ПИДС международными экспертами отнесено атипичное течение развившихся на их фоне аутоиммунных и гематологических заболеваний, позволяющее в ряде случаев заподозрить вторичную природу последних [13].

Диагностика ПИДС включает в себя определение концентрации нормальных иммуноглобулинов в сыворотке крови – IgA, M, G, подклассов IgG, иммунофенотипирование лейкоцитов, оценку функционального состояния фагоцитов, определение компонентов комплемента, анализ на ВИЧ-инфекцию, молекулярно-генетические исследования [14].

Наиболее часто встречаемым ПИДС (1 на 500 человек) является селективный дефицит IgA, для которого характерно снижение сывороточного IgA менее 0,05 г/л при нормальных количественных показателях других звеньев иммунитета [12–16].

Молекулярно-генетические основы данного иммунодефицита неизвестны. Предполагается, что в патогенезе заболевания лежит функциональный дефект В-клеток, о чем свидетельствует снижение IgA-экспрессирующих В-лимфоцитов у больных с этим синдромом [12].

Селективный дефицит IgA является некорригируемым первичным дефектом иммунной системы, при котором не показано специфической заместительной терапии. Коррекция инфекционных, аллергических и аутоиммунных заболеваний у пациентов с селективным дефицитом IgA не отличается от тактики ведения больных без данного ПИДС, исключение составляет заместительная терапия препаратами крови (свежезамороженная плазма и др.), которая противопоказана из-за риска развития аллергических реакций немедленного типа (анафилактические реакции и др.) [4, 12]. При необходимости введения внутривенных иммуноглобулинов рекомендовано использование качественных препаратов с низким содержанием IgA [9].

Течение ПИДС, обусловленного селективным дефицитом IgA, благоприятное, серьезные инфекционные осложнения встречаются редко, в отличие от атипично протекающих аутоиммунных реакций. Основную роль в формировании аутоиммунных осложнений у пациентов с ПИДС играют нарушения как центральной, так и периферической толерантности В-клеток. Центральная В-клеточная толерантность формируется за счет клональной делеции аутореактивных незрелых В-лимфоцитов в костном мозге. Главный механизм в данном случае – рецепторное редактирование, в результате которого происходит снижение аффинности В-клеточного рецептора к аутоантигену ниже порогового уровня, ведущее к

возникновению аутоиммунного процесса. Ключевым механизмом периферической толерантности является супрессорная толерантность, осуществляемая регуляторными CD4⁺ Т-лимфоцитами. В основе формирования аутоиммунных осложнений у больных ПИДС лежит нарушение супрессорного воздействия Т-клеток на аутореактивные В-лимфоциты, что приводит к повышенной выработке аутоантител [12, 17].

В связи с благоприятным течением селективного иммунодефицита IgA диагностика данного ПИДС в детском и подростковом возрасте затруднена. Выявление у взрослого пациента аутоиммунного заболевания с атипичным течением, неадекватным ответом на стандартную терапию требует обязательного обследования на наличие/отсутствие ПИДС. В данной статье представлено описание двух клинических случаев ПИДС, впервые диагностированного во взрослом возрасте, с дебютом в виде аутоиммунных осложнений.

Клиническое наблюдение №1

Пациентка К., 20 лет, обратилась в поликлиническое отделение ФГБУ «Гематологический научный центр» (ныне «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» – НМИЦ гематологии) Минздрава России в июле 2016 г. с жалобами на изменения в общем анализе крови – снижение количества тромбоцитов и концентрации гемоглобина.

Из анамнеза стало известно, что заболевание дебютировало в январе 2016 г. с геморрагического синдрома в виде спонтанных и контактных экхимозов и петехий на коже верхних и нижних конечностей. При обследовании по месту жительства в общем анализе крови была выявлена умеренная анемия с концентрацией гемоглобина 93 г/л (норма 120–140 г/л), тромбоцитопения 24×10^9 /л (норма $150\text{--}320 \times 10^9$ /л). Морфологическое исследование мазка периферической крови выявило наличие гипохромии эритроцитов, встречались овалоциты и серповидные эритроциты. В биохимическом анализе крови – изолированная гипербилирубинемия до 25,7 мкмоль/л (норма 5–21 мкмоль/л) за счёт непрямой фракции – 20,5 мкмоль/л (норма 1,7–17 мкмоль/л).

При исследовании пунктата костного мозга показатели МКЦ составляли 2–4 в поле зрения, без видимой отшнуровки тромбоцитов, в эритроидном ростке преобладал нормобластический тип кроветворения, гранулоцитарный росток соответствовал норме.

С учетом клинической картины и данных обследования, была диагностирована первичная иммунная тромбоцитопения. В связи с наличием глубокой тромбоцитопении и кожного геморрагического синдрома с февраля по май 2016 г. больная получала терапию 1-й линии: глюкокортикостероидные (ГКС) гормоны (преднизолон) в дозе 1 мг/кг массы тела в течение 2 нед с последующей медленной отменой и полным клинико-гематологическим ответом в виде нормализации количества тромбоцитов до 150×10^9 /л, билирубина 19,2 мкмоль/л и полного купирования геморрагического синдрома.

В июле 2016 г. на фоне полного здоровья пациентка отметила возобновление геморрагического синдрома в виде контактных экхимозов на коже верхних и нижних конечностей. В гемограмме отмечено снижение количества тромбоцитов до 47×10^9 /л, в связи с чем пациентка обратилась в ФГБУ ГНЦ (Москва).

При объективном осмотре признаков геморрагического синдрома и других отклонений не выявлено. Из анамнеза жизни выяснилось, что пациентка с детства страдает частыми инфекционными заболеваниями – хронический тонзиллит с обострениями до 3 раз в течение года.

Пациентку обследовали по протоколу дифференциальной диагностики тромбоцитопений, представленному в «Национальных клинических рекомендациях по диагностике и лечению ИТП у взрослых» [1]. В общем анализе крови: гемоглобин 122 г/л, эритроциты $4,68 \times 10^{12}$ /л (норма $3,9\text{--}4,7 \times 10^{12}$ /л), количество тромбоцитов при подсчете по Фонио составило 51×10^9 /л, микроцитоз (MCV 71 фл) и гипохромия (MCH 23 пг). Обращали на себя внимание увеличение количества ретикулоцитов 45,9% (норма 0,2–1,2%) и стойкая гипербилирубинемия до 47 мкмоль/л за счет непрямой фракции (38,6 мкмоль/л) в биохимическом анализе крови при отрицательной прямой пробе Кумбса.

Учитывая наличие в мазке периферической крови овалоцитов и эритроцитов серповидной формы, признаки гемолиза (гипербилирубинемия и ретикулоцитоз), для исключения наследственного характера анемии было выполнено исследование осмотической резистентности эритроцитов (без отклонений) и анализ распределения эритроцитов по плотности (отмечено уменьшение средней плотности эритроцитов, характерное для железодофицитных состояний, было подтверждено снижением содержания сывороточного железа до 5,47 мкмоль/л). Это позволило исключить наследственную гемолитическую анемию, однако не исключило наличие гемолитической анемии иного генеза.

Дальнейшее обследование пациентки показало повышение титра антитромбоцитарных антител до 640% (норма до 200%), качественный скрининг на системные заболевания соединительной ткани (методом ELISA) отклонений от нормы не выявил.

Повторное исследование костномозгового кроветворения выявило в миелограмме признаки дизэритропоэза (мегалобластоподобный оттенок, цитоплазматические мостики, анизоцитоз клеточных элементов) и умеренное количество МКЦ (10–20). Появление признаков дизэритропоэза и небольшое увеличение количества МКЦ в пунктате костного мозга в динамике расценены как ответ на предшествующую терапию кортикостероидными гормонами. В трепанобиоптате определялся нормоклеточный костный мозг с относительным расширением эритроидного ростка, с признаками омоложения, наличием мегалобластоподобных форм, что не противоречило диагнозу «гемолитическая анемия». Данных, которые подтверждали бы первичный иммунный генез тромбоцитопении, не получено.

При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости выявили увеличение размеров селезенки до 138×43 мм (норма 110×45 мм).

Основной находкой стал обнаруженный при иммунохимическом исследовании белков сыворотки крови и мочи полный селективный дефицит IgA – менее 5 МЕ/мл (норма 55–250 МЕ/мл), моноклональная секреция отсутствовала.

Для уточнения варианта ПИДС пациентке проведено дополнительное иммунологическое обследование: исследование популяций иммуноглобулинов, выявившее изолированное снижение IgA до уровня менее 0,233 г/л (норма 1–2,3 г/л) при нормальных показателях системы комплемента и отсутствии aberrаций иммунофенотипа по результатам иммунофенотипирования лейкоцитов с панелью CD45/CD3/CD4/CD8/CD19/CD16/CD56 и определением индекса CD4/CD8, CD3⁺HLADR⁺, CD25.

Результаты комплексного обследования позволили установить окончательный диагноз: первичное иммунодефицитное состояние – селективный дефицит IgA, осложнившийся развитием вторичной иммунной тромбоцитопении, аутоиммунной гемолитической анемии.

Учитывая отсутствие инфекционных осложнений и геморрагического синдрома, безопасный уровень тромбоцитов и минимальные проявления гемолитической анемии, совместно с врачом-иммунологом пациентке было рекомендовано динамическое наблюдение без проведения специфической терапии. В настоящее время отмечается спонтанное увеличение количества тромбоцитов до $120 \times 10^9/\text{л}$, признаки гемолиза не нарастают, сохраняется незначительная гипербилирубинемия – общий билирубин $28,3 \text{ мкмоль/л}$, специфическая терапия не проводится.

Клиническое наблюдение №2

Пациентка Х., 20 лет, обратилась в ФГБУ ГНЦ (Москва) в октябре 2016 г. с жалобами на увеличение массы тела, появление спонтанных синяков на коже живота, отсутствие менструаций в течение последних 3 мес, язвенные высыпания в надлобковой области, сухой кашель. Заболевание дебютировало в июне 2016 г. с геморрагического синдрома в виде спонтанных экхимозов на коже нижних конечностей.

При обследовании по месту жительства в общем анализе крови была выявлена изолированная тромбоцитопения ($12 \times 10^9/\text{л}$). При исследовании пунктата костного мозга определялось значительно увеличенное количество МКЦ (более 50) без отшнуровки тромбоцитов. На основании этих результатов пациентке был установлен диагноз первичной иммунной тромбоцитопении.

С июля 2016 г. начата терапия 1-й линии: ГКС (преднизолон) в суточной дозе 1 мг/кг массы тела перорально; без эффекта. Через 2 нед в связи с сохраняющимся кожным геморрагическим синдромом суточную дозу увеличили до 2 мг/кг массы тела перорально. Прием преднизолона сопровождался появлением сильных болей в мышцах бедер и голеней, для купирования которых применялись нестероидные противовоспалительные препараты либо, при их неэффективности, наркотические анальгетики – тримеперидин (промедол).

Увеличения количества тромбоцитов не было получено, в связи с чем с августа на фоне гормональной терапии назначен агонист рецепторов тромбопоэтина – ромиплостим (энплейт) из расчета 3 мкг/кг массы тела (150 мкг подкожно), достигнут частичный ответ – количество тромбоцитов колебалось от 30 до $90 \times 10^9/\text{л}$.

Длительная терапия ГКС осложнилась развитием синдрома Кушинга, появлением болезненных гнойничковых высыпаний на кожных покровах лобка, артериальной гипертензии с показателями артериального давления до $150/100 \text{ мм рт. ст.}$, а к осени 2016 г. – артериальной гипотонии ($100/70 \text{ мм рт. ст.}$) как начального проявления вторичной надпочечниковой недостаточности.

Сохраняющийся кожный геморрагический синдром, тромбоцитопения до $33 \times 10^9/\text{л}$, неэффективность и осложнения 1-й и 2-й линий терапии ИТП послужили причиной обращения пациентки в ФГБУ ГНЦ (Москва).

При сборе анамнестических данных стало известно, что больная с детства страдает частыми рецидивирующими инфекционными заболеваниями верхних дыхательных путей (до 4 раз в год), которые требуют применения антибактериальной терапии.

При оценке соматического статуса обращали на себя внимание выраженный синдром Кушинга, развернутый кожный геморрагический синдром в виде экхимозов в области живота и на нижних конечностях, многочисленные болезненные гнойничковые высыпания на кожном покрове лобковой области с формированием небольших язвенных дефектов.

Больную обследовали по протоколу дифференциальной диагностики тромбоцитопений, представленному

в «Национальных клинических рекомендациях по диагностике и лечению ИТП у взрослых» [1]. Выявлено: в общем анализе крови глубокая тромбоцитопения до $12 \times 10^9/\text{л}$ при подсчете по методу Фонио, лейкоцитоз до $12 \times 10^9/\text{л}$ (норма $4\text{--}10 \times 10^9/\text{л}$) без изменений в лейкоцитарной формуле; СОЭ до 25 мм/ч (норма $0\text{--}20 \text{ мм/ч}$); в коагулограмме определялось выраженное снижение агрегационной способности тромбоцитов с аденозиндифосфатом до 13% (норма $50\text{--}80\%$), агрегация с коллагеном полностью отсутствовала (норма $50\text{--}80\%$); в биохимическом анализе крови – изолированное повышение лактатдегидрогеназы (ЛДГ) до 818 ЕД/л (норма $208\text{--}378 \text{ ЕД/л}$); повышение титра антитромбоцитарных антител до 620% на фоне приема пероральных ГКС; исследование пунктата костного мозга в динамике подтвердило достаточное количество МКЦ (более 50) и нормальное соотношение ростков кроветворения; по данным гистологического исследования трепанобиоптата обращало на себя внимание увеличенное количество МКЦ. При иммунохимическом исследовании белков сыворотки крови был выявлен изолированный дефицит IgA (3 МЕ/мл).

Проведенное обследование позволило установить диагноз – первичный иммунодефицит: селективный дефицит IgA, осложнившийся развитием вторичной иммунной тромбоцитопении.

В связи с отсутствием эффекта от терапии ГКС и ромиплостимом (глубокая тромбоцитопения, развернутый кожный геморрагический синдром) и развитием многочисленных осложнений (синдром Кушинга, артериальная гипертензия, гнойничковое поражение кожных покровов, миалгии), обусловленных длительным приемом преднизолона, 02.11.16 больной была выполнена лапароскопическая спленэктомия с биопсией печени. Послеоперационный период протекал без особенностей.

При гистологическом исследовании в селезенке были выявлены морфологические изменения, характерные для иммунной тромбоцитопении.

В послеоперационном периоде было отмечено увеличение количества тромбоцитов максимально до $363 \times 10^9/\text{л}$, что позволило начать отмену ГКС терапии и выписать больную под амбулаторное наблюдение.

Контрольное обследование через 2 нед после спленэктомии позволило констатировать клинко-гематологическую ремиссию и рекомендовать полную отмену преднизолона.

В настоящее время состояние пациентки сохраняется удовлетворительным, за прошедший период геморрагического синдрома и инфекционных осложнений не было, количество тромбоцитов $500 \times 10^9/\text{л}$.

Таким образом, во взрослой гематологической практике не диагностированное ранее ПИДС может манифестировать в виде аутоиммунных осложнений – в частности анемии и тромбоцитопении – с атипичным течением и/или неадекватным ответом на стандартную терапию, что продемонстрировано в данных клинических случаях. Обследование пациентов по протоколу дифференциальной диагностики тромбоцитопений, рекомендованному в «Национальных клинических рекомендациях по диагностике и лечению ИТП у взрослых» [1], с обязательным выполнением иммунохимического исследования белков сыворотки крови/определением концентрации нормальных иммуноглобулинов в сыворотке крови позволяет уточнить истинную причину снижения количества тромбоцитов на любом этапе течения заболевания.

Терапия иммунных цитопений у пациентов с ПИДС: селективным дефицитом IgA проводится по стандартному протоколу лечения данных состояний, однако имеет свои особенности (запрет на трансфузии компонентов

крови, введение качественных препаратов внутривенных иммуноглобулинов с низким содержанием IgA только по жизненным показаниям и др.), знание которых позволяет избежать серьезных осложнений в процессе лечения.

Внедрение в практику новых методов генетического обследования, улучшение диагностики и лечения ПИДС у детей приводят к увеличению когорты пациентов, достигших и перешагнувших 18-летний рубеж, что требует от врачей других специальностей знаний, насыщенности и преемственности в ведении таких больных.

Благодарность. Авторы выражают благодарность Щербине А.Ю. за помощь в формулировании окончательного диагноза и выборе лечебной тактики у данных пациентов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меликян А.Л., Пустовая Е.И., Цветаева Н.В., Абдулкадыров К.М., Лисуков И.А., Грицаев С.В. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению первичной иммунной тромбоцитопении (идиопатической тромбоцитопенической пурпуры) у взрослых. *Гематология и трансфузиология*. 2015; 60(1): 44–56.
4. Сетдикова Н.Х., Латышева Т.В., Пинегин Б.В., Ильина Н.И. Иммунодефициты: принципы диагностики и лечения. М.: Фармарус Принт; 2006.
9. Щербина А.Ю. Маски первичных иммунодефицитных состояний: проблемы диагностики и терапии. *Российский журнал детской гематологии и онкологии*. 2016, 3(1): 52–8.
12. Кондратенко И.В. Первичные иммунодефициты. *Медицинская иммунология*. 2005; 7 (5–6): 467–76.
17. Щербина А.Ю., Пашанов Е.Д., ред. Иммунология детского возраста. Практическое руководство по детским болезням. М.: Медпрактика-М; 2006.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

1. Melikyan A.L., Pustovaya E.I., Tsvetaeva N.V., Abdulkadyrov K.M., Lisukov I.A., Gritsae S.V., et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of primary immune thrombocytopenia (idiopathic thrombocytopenic purpura) in adults. *Hematology and Transfusiology, Russian journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2015; 60(1): 44–56. (in Russian)
2. Stasi R. How to approach thrombocytopenia. *Hematology Am. Soc Hematol. Educ. Program*. 2012; 2012: 191–7.
3. Bousfiha A., Jeddane L., Al-Herz W., Ailal F., Casanova J.L., Chatila T., et al. The 2015 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J. Clin. Immunol.* 2015; 35(8): 727–38.

4. Setdikova N.Kh., Latysheva T.V., Pinegin B.V., Ilina N.I. Immunodeficiencies: principles of diagnosis and treatment. Moscow: Farmarus Print; 2006. (in Russian).
5. Bruton O.C., Apt L., Gitlin D., Janeway C.A. Absence of serum gamma globulins. *AMA Am. J. Dis. Child.* 1952; 84(5): 632–6.
6. Tsukada S., Saffran D.C., Rawlings D.J., Parolini O., Allen R.C., Klisak I., et al. Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia. *Cell*. 1993; 72(2): 279–90.
7. Vetrie D., Vorechovsky I., Sideras P., Holland J., Davies A., Flinter F., et al. The gene involved in X-linked agammaglobulinemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases. *Nature*. 1993; 361(6409): 226–33.
8. Carneiro-Sampaio M., Moraes-Vasconcelos D., Kokron C.M., Jacob C.M., Toledo-Barros M., Dorna M.B., et al. Primary immunodeficiency diseases in different age groups: a report on 1,008 cases from a single Brazilian reference center. *J. Clin. Immunol.* 2013; 33(4): 716–24.
9. Shcherbina A.Yu. Masks of primary immunodeficiency disorders: diagnostic and therapeutic problems. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology (Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i oncologii)*. 2016, 3(1): 52–8. (in Russian)
10. Boyle J.M., Buckley R.H. Population prevalence of diagnosed primary immunodeficiency diseases in the United States. *J. Clin. Immunol.* 2007; 27(5): 497–502.
11. Picard C., Al-Herz W., Bousfiha A., Casanova J.L., Chatila N., Conley M.E., et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *J. Clin. Immunol.* 2015; 35(8): 696–726.
12. Kondratenko I.V. Primary immunodeficiencies. *Medical Immunology. Russian journal (Meditsinskaya immunologiya)*. 2005; 7(5–6): 467–76. (in Russian)
13. Geha R.S., Notarangelo L.D., Casanova J.L., Chapel H., Conley M.E., Fischer A., et al. Primary immunodeficiency diseases: an update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007; 120(4): 776–94.
14. Oliveira J.B., Fleisher T.A. Laboratory evaluation of primary immunodeficiencies. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125(2, Suppl. 2): 297–305.
15. Wanchu A., Sud A., Bamberg P., Singh S., Dutta U., Varma S. Common variable immunodeficiency in adult. *Indian J. Chest. Dis. Allied. Sci.* 2000; 42(3): 185–7.
16. Clark J.A., Callicott P.A., Brenner N.A., Bradley C.A., Smith D.M.Jr. Selective IgA deficiency in blood donors. *Am. J. Clin. Pathol.* 1983; 80(2): 210–3.
17. Shcherbina A.Yu., Pashanov E.D., eds. Childhood Immunology. A practical guide to children's illnesses. Moscow: Medpraktika-M; 2006. (in Russian)

Поступила 21.06.17

Принята к печати 20.10.17

Уважаемые читатели!

На сайте Научной Электронной Библиотеки www.elibrary.ru открыта подписка на электронную версию нашего журнала и других журналов Издательства «Медицина» на 2018 год.

Архив журналов Издательства Медицина 2012–2014 гг. находится в открытом (бесплатном) доступе на сайтах Научной электронной библиотеки www.elibrary.ru и Киберленинки www.cyberleninka.ru

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.155.392.2-036.11-06:616-002.828]-085

Клясова Г.А.¹, Блохина Е.В.², Охмат В.А.¹, Мальчикова А.О.¹, Паровичникова Е.Н.¹**УСПЕШНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ДИСSEМИНИРОВАННОГО ИНВАЗИВНОГО МИКОЗА, ВЫЗВАННОГО *SAPROCHAETE CAPITATA*, У БОЛЬНОГО ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия;²Центральный клинический госпиталь, 123182, г. Москва, Россия

Представлено клиническое наблюдение редкого диссеминированного инвазивного микоза, обусловленного *Saprochaete capitata*, у больного острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ). Основными факторами риска были длительная гранулоцитопения в течение 21 дня, наличие центрального венозного катетера (ЦВК), резистентная форма ОЛЛ. *S. capitata* были выделены из гемокультуры и из ЦВК. Инвазивный микоз, обусловленный *S. capitata*, возник на фоне применения эхинокандина в течение 5 дней и характеризовался развитием септического шока, ранней диссеминацией в органы (печень, селезенку, почки), длительной гипертермией в течение 167 дней. Клиническое улучшение было достигнуто при сочетанном применении вориконазола с амфотерицином В и удалении ЦВК. Общая длительность применения вориконазола составила более 200 дней, из них 101 день в сочетании с амфотерицином В. Лечение ОЛЛ была возобновлено при улучшении состояния больного на фоне продолжения приема вориконазола. Рецидива инвазивного микоза не было.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз; инвазивный микоз; *Saprochaete capitata*; амфотерицин В; вориконазол.

Для цитирования: Клясова Г.А., Блохина Е.В., Охмат В.А., Мальчикова А.О., Паровичникова Е.Н. Успешное лечение диссеминированного инвазивного микоза, вызванного *Saprochaete capitata*, у больного острым лимфобластным лейкозом. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(3): 164-168. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-164-168>

Klyasova G.A.¹, Blokhina E.V.², Okhmat V.A.¹, Malchikova A.O.¹, Parovichnikova E.N.¹**SUCCESSFUL TREATMENT OF DISSEMINATED INVASIVE MYCOSIS CAUSED BY *SAPROCHAETE CAPITATA* IN A PATIENT WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA**¹National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation;²Central clinical hospital, Moscow, 123182, Russian Federation

The case report of a rare disseminated invasive mycosis due to *Saprochaete capitata* in a patient with acute lymphoblastic leukemia (ALL). The main risk factors were prolonged granulocytopenia for 21 days, presence of a central venous catheter (CVC), refractory form of ALL. *S. capitata* was isolated from blood cultures and CVC. Invasive mycosis due to *S. capitata* developed in patient receiving echinocandin for 5 days and was represented by septic shock at the onset, early dissemination in the organs (liver, spleen, kidney), prolonged fever for 167 days. Clinical improvement was achieved by using the combination of voriconazole with amphotericin B and removing of CVC. Total duration of voriconazole treatment was more than 200 days, of those 101 days in combination with amphotericin B. ALL treatment was continued with concomitant voriconazole therapy after improvement of patient condition. Relapse of invasive mycosis did not occur.

Key words: acute lymphoblastic leukemia; invasive mycosis; *Saprochaete capitata*; amphotericin B; voriconazole.

For citation: Klyasova G.A., Blokhina E.V., Okhmat V.A., Malchikova A.O., Parovichnikova E.N. Successful treatment of disseminated invasive mycosis caused by *Saprochaete capitata* in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i transfusiology)*. 2017; 62(3): 164-168. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-164-168>

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 05 September 2017

Accepted 20 October 2017

Для корреспонденции:

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

For correspondence:

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

Information about authors:

Klyasova G.A. <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>, ResearcherID: M-6329-2014;

Blokhina E.V. <http://orcid.org/0000-0003-3070-348X>;

Okhmat V.A., <http://orcid.org/0000-0002-6195-4508>, ResearcherID: M-7089-2014;

Malchikova A.O., <http://orcid.org/0000-0002-8725-5131>;

Parovichnikova E.N. <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>. ResearcherID: N-4840-2016.

Инвазивные микозы являются частым осложнением при реализации программной химиотерапии (ХТ) у больных гемобластозами и у реципиентов гемопоэтических клеток. Наряду с ростом числа этих инфекций наблюдаются изменения в их структуре, которые заключаются в увеличении доли инвазивного аспергиллеза, сохранении или некотором снижении инвазивного кандидоза, а также в расширении спектра потенциальных возбудителей инвазивных микозов за счет как плесневых, так и дрожжеподобных грибов [1, 2]. Инвазивные микозы, вызванные дрожжеподобными грибами, не принадлежащими к кандидам, например, *Saprochaete capitata*, имеют свои особенности как в течении инфекционного процесса, так и в лечении. Несмотря на то, что фунгемии, вызванные *S. capitata*, не превышают 0,5% в структуре всех фунгемий, их значимость у иммунокомпрометированных больных определяется тяжелым течением. Так, при инфекции, обусловленной *S. Capitata*, диссеминация грибов в паренхиматозные органы наблюдается у 60–80% больных против 20% у пациентов с кандидемией, летальность в течение 30 дней составляет 60% против 24%, соответственно [3–5].

Публикации, посвященные больным с инфекцией, обусловленной *S. capitata*, немногочисленны и в основном представлены описанием единичных случаев. Имеется дефицит клинических данных в отношении выбора оптимальной противогрибковой терапии и ее длительности у больных гемобластозами. По-прежнему актуальной остается проблема тактики ведения этих пациентов в период выполнения им программной ХТ. В связи с этим, мы приводим собственное наблюдение успешного лечения диссеминированного инвазивного микоза, вызванного *S. capitata*, возникшего у больного в процессе терапии острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ).

Материал и методы

Использованы критерии диагностики инвазивных микозов EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group), а также клинические рекомендации ESCMID (European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases) и ECMM (European Confederation of Medical Mycology) по диагностике и лечению инвазивных микозов, вызванных редкими дрожжеподобными грибами [6, 7]. Микробиологическое исследование выполнялось на базе научно-клинической лаборатории клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «Гематологический научный центр» (ныне «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии», НМИЦ гематологии) Минздрава России. Кровь для микробиологического исследования брали у больного одновременно из периферической вены и из центрального венозного катетера (ЦВК) в объеме 10 мл во флаконы, предназначенные для культивирования аэробных бактерий и грибов (“Becton-Dickinson”, США). Инкубирование флаконов с кровью проводилось в течение 5 дней в автоматическом анализаторе для гемокультур (BD BACTEC FX, “Becton-Dickinson”, США). В случае положительной гемокультуры проводили микроскопию содержимого флакона с окраской по Граму, затем культуральное исследование на агаризованной среде Сабуро с хлорамфениколом (“Sigma-Aldrich”, США). Чашки Петри инкубировали при температуре 37°C в течение 18–24 ч. Идентификацию дрожжеподобных грибов проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF-MS) на анализаторе Microflex (“Bruker Daltonics”, Германия), считая достоверными результаты при значениях коэффициента совпадения (score) от 2 и выше.

Клиническое наблюдение

В январе 2016 г. в отделение гематологии Центрального клинического госпиталя поступил больной Р. в возрасте 36 лет с впервые диагностированным ОЛЛ, вариант В, Ph-негативный. Больному было начато лечение в соответствии с протоколом “ALL-2009” [8]. Однако в апреле 2016 г. была документирована резистентная форма острого лейкоза, и начата ХТ по программе “FLAG-Ida”, включающая флударабин 50 мг с 1-го по 4-й дни, цитарабин 4 г с 1-го по 5-й дни, идарубицин 20 мг в 1-й и 3-й дни. На 6-е сутки перерыва после данного курса ХТ (01.05.16) в период гранулоцитопении (число лейкоцитов $0,05 \times 10^9/\text{л}$) у пациента развился септический шок с повышением температуры тела до 40°C и ознобом. У больного была взята кровь для гемокультуры и назначены одновременно антибиотики широкого спектра (цефоперазон/сульбактам по 4 г 2 раза в сутки, амикацин по 1 г 1 раз в сутки, внутривенно) и противогрибковый препарат – каспофунгин (70 мг в 1-й день, затем 50 мг в сутки, внутривенно). Через 2 сут (03.05.16) из гемокультуры была выделена *Pseudomonas aeruginosa*, а по данным компьютерной томографии (КТ) грудной полости диагностирована левосторонняя нижнедолевая пневмония. Была проведена модификация противомикробной терапии, включающая отмену цефоперазона/сульбактама с амикацином и назначение меропенема (по 1 г 3 раза в сутки, внутривенно) в сочетании с линезолидом (по 0,6 г 2 раза в сутки), введения каспофунгина были продолжены. Однако изменения в лечении не привели к улучшению состояния, и у больного сохранялась гипертермия до 40°C. В этой связи ежедневно проводилось взятие крови для микробиологического исследования на гемокультуру, и впервые 05.05.16 из гемокультуры, полученной из периферической вены и из ЦВК, были выделены дрожжеподобные грибы. В тот же день у больного был удален ЦВК, вновь взята кровь на гемокультуру, откуда 10.05.16 повторно была получена культура дрожжеподобных грибов. Число катетеро-дней на момент первого выделения микромицетов из гемокультуры составило 63 дня. Параллельно исследование гемокультуры было выполнено в лаборатории НМИЦ гематологии, где также были выделены дрожжеподобные грибы, которые были идентифицированы до вида как *S. capitata* (рис. 1, 2, см. на 3-й стр. обложки). Каспофунгин был отменен, назначен вориконазол внутривенно (по 6 мг/кг 2 раза в 1-й день, затем по 4 мг/кг 2 раза в сутки) в качестве монотерапии, а через несколько дней – в сочетании с амфотерицином В дезоксихоломатом (1 мг/кг в сутки, внутривенно) ввиду отсутствия эффекта от лечения (персистирующая температура до 40 °C). Выделение микромицетов *S. capitata* из гемокультуры наблюдалось в течение 5 дней.

На фоне проводимого лечения 17.05.16 состояние больного стабилизировалось, была отмечена эрадикация грибов из гемокультуры, однако, по данным КТ и УЗИ брюшной полости были выявлены множественные мелкие гиподенсные очаги в селезенке, а затем и в печени, которые были расценены как диссеминация *S. capitata* из кровотока в паренхиматозные органы (рис. 3, 4, см. на 3-й стр. обложки). Очаговые изменения в органах были обнаружены в период восстановления гранулоцитопоза (число лейкоцитов $2,4 \times 10^9/\text{л}$, гранулоцитов $0,5 \times 10^9/\text{л}$ и более). По результатам исследования костного мозга (24.05.16) была констатирована ремиссия ОЛЛ. Больному были отменены антибиотики и продолжено противогрибковое лечение сочетанием вориконазола с амфотерицином В дезоксихоломатом. За период применения антимикотиков была проведена кратковременная отмена вориконазола на

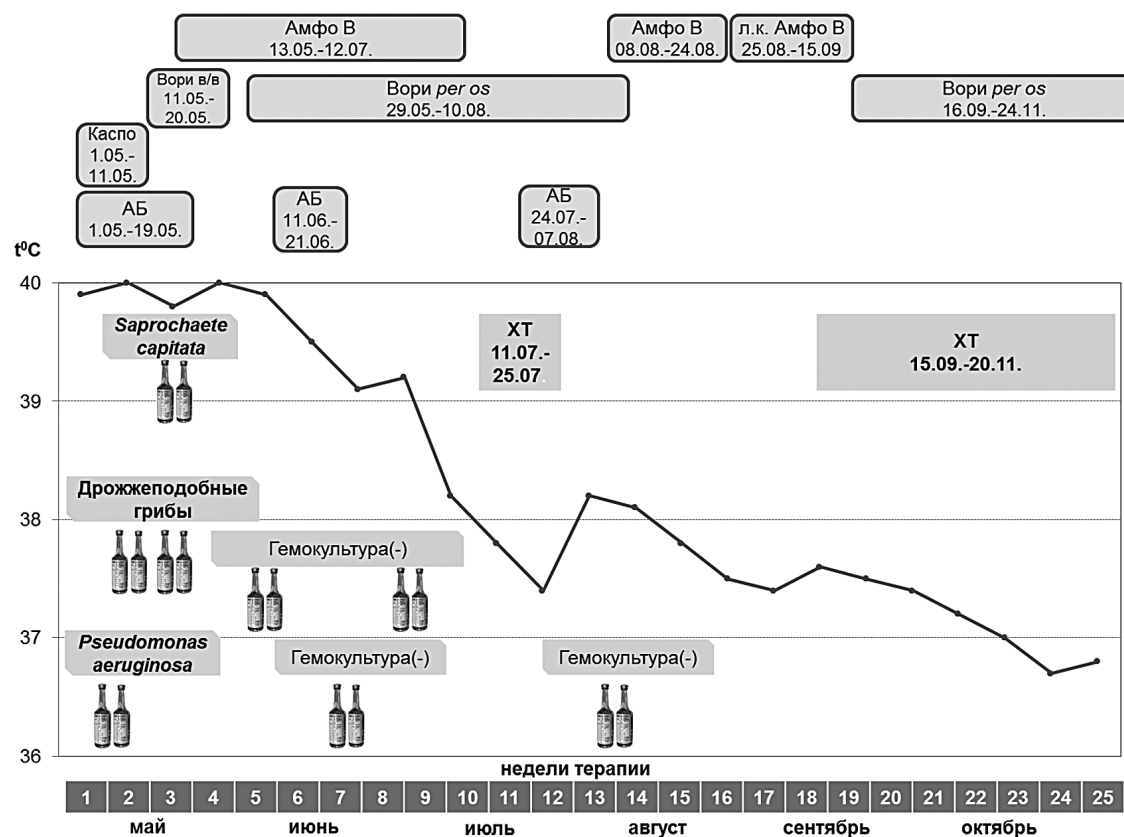


Рис. 6. График температуры и противомикробные препараты, использованные в лечении инфекционного процесса.

АБ – антибиотики; каспо – каспифунгин; вори – вориконазол; в/в – внутривенно; амфо В – амфотерицин В; л.к. Амфо В – липидный комплекс амфотерицина В; ХТ – химиотерапия 6-меркаптопурином и метотрексатом.

8 дней из-за печеночной токсичности (повышение активности аминотрансфераз до 3 норм, щелочной фосфатазы – до 5 норм, γ -глутамилтранспептидазы – до 13 норм), введение вориконазола возобновили после нормализации показателей. Несмотря на проводимое лечение, у больного сохранялась гипертермия до 39–40 °C, наблюдался нейтрофильный лейкоцитоз, при этом неоднократные исследования гемокультуры были отрицательными. Тенденция к снижению температуры с 40 °C до 38 °C была отмечена на сочетании вориконазола с амфотерицином В только через 47 дней их применения.

В конце июня 2016 г. было зарегистрировано стойкое снижение температуры тела до 37–38 °C, и больному возобновили ХТ острого лейкоза на фоне продолжения приема вориконазола (по 200 мг 2 раза в сутки, в таблетках). Лечение препаратами 6-меркаптопурином и метотрексатом осуществляли в период с 11.07. по 25.07.16, в послекурсовом перерыве гранулоцитопении не было (число лейкоцитов $3,4 \times 10^9/\text{л}$). Осложнением ХТ явилось развитие левосторонней нижнедолевой пневмонии, а также появление в корковом веществе обеих почек очагов небольшого размера (по данным КТ брюшной полости от 08.08.16), аналогично имеющимся в печени и селезенке, которые были расценены как диссеминация *S. capitata* (рис. 5, см. на 3-й стр. обложки). Пациенту был назначен антибиотик цефоперазон/сульбактам (по 4 г 2 раза в сутки, внутривенно) и возобновлено введение амфотерицина В дезоксихолата (1 мг/кг в сутки внутривенно), который был заменен на липидную форму амфотерицина В (25.08.16) по причине развития нефротоксичности (повышение концентрации креатинина до 2 норм). В процессе лечения у

больного сохранялось повышение температуры тела до 37,7 °C, однако по результатам контрольной КТ брюшной полости от 14.09.16 не было выявлено отрицательной динамики со стороны количества и размеров очагов микотической инвазии в органах, было отмечено разрешение пневмонии. Была продолжена ХТ острого лейкоза, включающая 6-меркаптопурин и метотрексат, на фоне продолжения приема вориконазола в таблетках (по 200 мг 2 раза в сутки).

Нормализация температуры тела у больного была констатирована в начале октября 2016 г., а уменьшение количества, размеров и плотности очагов в печени, селезенке и почках только в конце октября (КТ брюшной полости от 30.10.16) – через 166 дней лечения противогрибковыми препаратами (рис. 6).

Вполне очевидно, что из-за такого тяжелого осложнения, как диссеминированный инвазивный микоз, невозможно было провести лечение строго по программе, и у больного развился рецидив ОЛЛ. Больному было проведено лечение рецидива с 24.11 по 15.12.16 по программе, включающей применение бортезомиба, митоксантрона, L-аспарагиназы, дексаметазона на фоне внутривенного введения вориконазола (по 4 мг/кг 2 раза в сутки) [8]. Реактивации инвазивного микоза по данным культуральных исследований крови и инструментальных исследований внутренних органов не отмечено. В результате ХТ 22.12.16 была достигнута вторая ремиссия ОЛЛ. В настоящее время пациенту проводится поддерживающая терапия по протоколу «ALL-2009» на фоне вторичной профилактики вориконазолом (по 200 мг 2 раза в сутки, в таблетках). Общая длительность приема вориконазола составляет более 200 дней.

Обсуждение

Дрожжеподобные грибы *S. capitata*, ранее именуемые как *Trichosporon capitatum*, *Geotrichum capitatum*, *Ascotrichosporon capitatum*, *Blastoschizomyces capitatus*, известны с 1942 г., а современное наименование им было присвоено в 2004 г. [9]. Микромицеты *S. capitata* относятся к семейству *Dipodascaceae*, порядку *Saccharomycetales*, классу *Hemiascomycetes*. Грибы данного вида распространены повсеместно и определяются в окружающей среде (почва, воздух, вода, растения, деревья), в жилых помещениях (душевые, посудомоечные машины), у животных (выделены при мастите крупного рогатого скота), в помёте птиц, а также могут являться частью нормальной микрофлоры кожи и слизистых оболочек дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта здоровых людей.

Инфекции, обусловленные *S. capitata*, возникают в основном у иммунокомпрометированных больных, среди которых 92% составляют больные с гемобластомами и гранулоцитопениями. Частота инвазивных микозов у больных ОЛЛ не превышает 10%, но при наличии ряда факторов, к которым относятся интенсификация программ ХТ, резистентность гемобластома, приводящие к длительной гранулоцитопении, этот показатель может быть существенно выше [1]. При этом инфекция может быть обусловлена не только *Candida* spp. или *Aspergillus* spp., но и другими редкими микромицетами. В представленном клиническом случае диссеминированный инвазивный микоз, вызванный *S. capitata*, развился после лечения по программе “FLAG-Ida” по поводу резистентной формы ОЛЛ. У больного наблюдался длительный период гранулоцитопении, продолжительность которого на момент выделения *S. capitata* из гемокультуры составила 15 дней, а в целом – 21 день. По данным других исследователей, гранулоцитопения (число гранулоцитов менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$) была у 80–100% больных с инфекцией, вызванной *S. capitata* [4, 10–12].

Другим значимым фактором в развитии фунгемии является наличие ЦВК. Дрожжеподобные грибы обладают способностью образовывать биопленки, а при наличии инородных устройств в макроорганизме вероятность формирования биопленок существенно возрастает. Катетер-ассоциированная фунгемия в данном случае была подтверждена выделением *S. capitata* из образцов крови, взятой из периферической вены и из ЦВК, а также с дистального отрезка удаленного ЦВК. Инфицирование ЦВК дрожжеподобными грибами может быть первичным – с рук медицинского персонала или с кожи пациента – и ретроградным, когда транслокация грибов со слизистой оболочки кишечника происходит в кровоток, а далее из кровотока наблюдается адгезия грибов на поверхность инородных устройств и инвазия в паренхиматозные органы. Исследование состава микрофлоры слизистой оболочки кишечника в представленном случае не проводилось. Тем не менее, нельзя исключить ретроградный вариант инфицирования ЦВК, поскольку персистенция *S. capitata* из гемокультуры определялась в течение 5 дней после удаления ЦВК, за короткий временной промежуток была отмечена инвазия грибов в паренхиматозные органы, подобной инфекции не наблюдалось у других больных в гематологическом отделении. В исследовании R. Martino и соавт. [4], включающем анализ 26 случаев инфекции, обусловленной *Blastoschizomyces capitatus* у больных острыми лейкозами, ЦВК был установлен 88% больных.

Своевременная диагностика фунгемии остается значимой проблемой, так как клиническая картина инфекции неспецифична, а промедление в установлении диагноза и назначении противогрибковых препаратов сопряжено с

высокой летальностью. Диагностика фунгемии, вызванной дрожжеподобными грибами, основана на хотя бы однократном выделении грибов из гемокультуры у больных с симптомами инфекции [6, 7]. У данного больного культуральные исследования крови выполнялись ежедневно, что позволило выделить и идентифицировать возбудителя. Согласно рекомендациям ESCMID и ECMM при подозрении на инфекцию, вызванную дрожжеподобными грибами, необходимо производить взятие крови из вены для микробиологического исследования в адекватном количестве (10 мл у взрослых пациентов в один флакон для гемокультуры), одновременно в несколько флаконов (в 2–3 аэробных и в 2–3 анаэробных флакона), при необходимости исследование повторять в последующие дни [7]. Важным является общий объем взятой крови, который составляет у взрослых суммарно 40–60 мл (4 или 6 флаконов), полученный при одной или нескольких венопункций в ограниченный промежуток времени – не более 30 мин. Крайне важно провести идентификацию до вида всех дрожжеподобных грибов, выделенных из стерильных локусов, с помощью современных тест-систем или масс-спектрометрии [13]. Нельзя делать заключение о принадлежности грибов к определенному роду, например *Candida* spp., только на основании культуральных свойств или микроскопии.

По данным литературы, инфекция, обусловленная *S. capitata*, возникала в 35–42% случаев у больных на фоне применения противогрибковых препаратов и являлась так называемой «инфекцией прорыва» [3, 4, 10–12]. В исследовании из Испании у 35% (9 из 26) больных инвазивный микоз, вызванный *S. capitata*, развился при использовании таких антимикотиков, как флуконазол ($n = 7$), амфотерицин В и итраконазол [4], в исследовании из Швейцарии – у 3 из 5 больных при лечении каспофунгином [14]. В нашем случае микромицеты *S. capitata* также были выделены у больного на фоне каспофунгина, длительность применения которого составила 5 дней.

Инфекция, вызванная *S. capitata*, характеризовалась тяжелым течением и дебютировала с развития септического шока. Особенностью клинического проявления являлась длительная фебрильная лихорадка, в первые дни с ознобом, на протяжении 47 дней температура тела была до 39–40 °С с последующим длительным периодом фебрильной и субфебрильной температуры в течение 120 дней на фоне лечения антимикотиками. Необходимо отметить раннюю диссеминацию *S. capitata* из кровотока в органы (в селезенку, печень, почки), которая возникла через 7 дней от момента выделения их из гемокультуры. Высокий процент диссеминации в органы является характерным для инфекции, вызванной *S. capitata*, и достигает 60–80% [4]. Преобладает инвазия *S. capitata* в легкие (66%), далее следуют печень (28%), селезенка (24%), кожа (26%) и центральная нервная система (18%) [4, 10–14].

Ввиду высокой частоты диссеминации всем больным с данной инфекцией показано проведение дополнительного обследования, направленного на поиск возможных очагов инвазии грибами, включающего выполнение офтальмоскопии, эхокардиографии, КТ легких и КТ органов брюшной полости с внутривенным болюсным контрастным усилением. Исследования необходимо повторять в период восстановления гранулоцитопоза.

Лечение больного проводили в соответствии с клиническими рекомендациями ESCMID/ECMM 2014 г. [7]. Число публикаций по этим инфекциям ограничено, и наиболее высокий уровень доказательства (В III) для лечения имеют амфотерицин В (возможно сочетание с флуцитозином) и вориконазол. Некоторые исследователи также использовали сочетание амфотерицина В

с вориконазолом, и доля таких больных достигала 31% [4]. В отношении *S. capitata* проявляют активность *in vitro* также итраконазол и позаконазол, не активен – флуконазол. Применение эхинокандина в лечении *S. capitata* не рекомендовано (уровень доказательств D II) по причине природной резистентности *in vitro* и регистрации «инфекций прорыва», вызванных *S. capitata*, на фоне применения эхинокандина.

В представленном случае отмечался продолжительный период использования противогрибковых препаратов. Общая длительность применения вориконазола составила более 200 дней, из них в сочетании с амфотерицином В – 101 день. Положительная динамика со стороны очагов в органах была отмечена только через 166 дней применения вориконазола с амфотерицином В.

Достоверное влияние на результаты лечения инфекции, обусловленной *S. capitata*, оказывает тактика в отношении ЦВК. В исследовании R. Martino и соавт. [4] выживаемость в течение 30 дней при данной инфекции была выше в том случае, если у больных удаляли ЦВК в течение первых 5 дней после выделения *S. capitata* ($p = 0,02$). Удаление ЦВК сопряжено с появлением проблемы венозного доступа у тяжелой категории больных, но, несмотря на это, является необходимым, особенно больным с персистирующей положительной гемокультурой. По результатам того же исследования, другими факторами, оказывающими достоверное влияние на выживаемость, являлись своевременное назначение противогрибкового препарата – в 1-е сутки от момента выделения гемокультуры *S. capitata* ($p = 0,006$), а также состояние больного по шкале ECOG ($p = 0,003$) [4]. Оценка по шкале ECOG отражает ситуацию по опухоли и восстановление гранулоцитопоза в процессе терапии, что также относится к прогностически значимым факторам.

В данном клиническом наблюдении у больного дважды удалось достигнуть ремиссии ОЛЛ, что в немалой степени определило благоприятный прогноз инвазивного микоза. Также необходимо отметить важность проведения дальнейшей циторедуктивной терапии, которая была возобновлена при стабилизации состояния больного, а не при полной регрессии всех проявлений инфекции, и, что крайне важно, на фоне применения антимикотика, при использовании которого было достигнуто клиническое улучшение. В данном случае для этих целей был использован вориконазол в таблетках, а при введении цитостатических препаратов – его внутривенная форма.

Представленный клинический случай показал возможность развития редкого диссеминированного инвазивного микоза, вызванного *S. capitata*, у больного ОЛЛ. Инфекция, обусловленная *S. capitata*, дебютировала с развития септического шока, характеризовалась тяжелым течением и ранней диссеминацией грибов в органы. Клиническое улучшение в виде купирования симптомов инфекции и сокращения очагов микотического поражения в органах было достигнуто в результате длительного сочетанного применения вориконазола с амфотерицином В, а также удаления ЦВК. Инфекция, обусловленная *S. capitata*, возникла на фоне применения эхинокандина (каспофунгина) – противогрибкового препарата, имеющего природную резистентность в отношении *S. capitata*, подтверждая тем самым важность проведения идентификации до вида дрожжеподобных грибов из гемокультуры для реализации прецизионной терапии. Несмотря на тяжелую инфекцию, лечение острого лейкоза было возобновлено на фоне продолжения приема вориконазола.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клясова Г.А., Охмат В.А., Васильева В.А., Попова М.О., Капорская Т.С., Свешникова Ю.В. и др. Инвазивные микозы у больных острыми лейкозами и у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток. Результаты многоцентрового проспективного наблюдательного исследования в России (RIFI). *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(1, Прил. 1): 19.
2. Веселов А.В., Клишко Н.Н., Кречикова О.И., Клясова Г.А., Агапова Е.Д., Мултых И.Г. и др. *In vitro* активность флуконазола и вориконазола в отношении более 10000 штаммов дрожжей: результаты 5-летнего проспективного исследования: ARTEMIS DISK в России. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2008; 10(4): 345–54.
8. 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

1. Klyasova G.A., Okhmat V.A., Vasilyeva V.A., Popova M.O., Kaporskaya T.S., Sveshnikova U.V., et al. Invasive mycoses in patients with acute leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients. Results of prospective observational multicenter study in Russia (RIFI). *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologya)*. 2016; 61(1, Suppl. 1): 19. (in Russian)
2. Veselov A.V., Klimko N.N., Krechikova O.I., Klyasova G.A., Agapova E.D., Multih I.G. *In vitro* activity of fluconazole and voriconazole against more than 10000 yeast strains: results of 5 years prospective ARTEMIS disk study in Russia. *Antimicrob. Agents Chemother. Russian Journal (Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya)*. 2008; 10(4): 345–54. (in Russian)
3. Girmenia C., Pagano L., Martino B., D'Antonio D., Fanci R., Specchia G., et al. ; GIMEMA Infection Program. Invasive infections caused by Trichosporon species and Geotrichum capitatum in patients with hematological malignancies: a retrospective multicenter study from Italy and review of the literature. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(4): 1818–28. doi: 10.1128/JCM.43.4.1818-1828.2005.
4. Martino B., Salavert M., Parody R., Tomas J.F., de la Camara R., Vazquez L., et al. Blastoschizomyces capitatus infection in patients with leukemia: Report of 26 cases. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 38(3): 335–41. doi: 10.1086/380643.
5. Viscoli C., Girmenia C., Marinus A., Collette L., Martino P., Vandercam B., et al. Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin. Infect. Dis.* 1999; 28(5): 1071–9. doi: 10.1086/514731.
6. De Pauw B., Walsh T., Donnelly J., Stevens D., Edwards J., Calandra T., et al. Revised definitions of invasive fungal disease from 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.
7. Arendrup M., Boekhout T., Akova M., Meis J., Cornely O., Lortholary O., et al. ESCMID and EMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of rare invasive yeast infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20(Suppl. 3): 76–98. doi: 10.1111/1469-0691.12360.
8. Savchenko V.G., ed. *Program treatment of blood system diseases*. Moscow: Praktika; 2012. (in Russian)
9. De Hoog G.S., Guarro J., Gené J., Figueras M.J., eds. *Atlas of clinical fungi*. 2nd ed.; Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures; Reus: Universitat Rovira i Virgili; 2000.
10. Martino P., Vindetti V., Micozzi A., Morace G., Polonelli L., Mantovani M., et al. Blastoschizomyces capitatus: an emerging cause of invasive fungal disease in leukemia patients. *Rev. Infect. Dis.* 1990; 12(4): 570–82. doi: 10.1093/clinids/12.4.570.
11. Herbrecht R., Liu K., Koenig H., Waller J., Dufour P., Marcellin L., et al. Trichosporon capitatum septicemia: apropos of 5 cases. *Agressologie*. 1992; 33(Spec. No 2): 96–8. (in French)
12. Perez-Sanchez I., Anguita J., Martín-Rabadan P., Muñoz P., Serrano D., Escudero A., Pintado T. Blastoschizomyces capitatus infection in acute leukemia patients. *Leuk. Lymphoma*. 2000; 39(1–2): 209–12. doi: 10.3109/10428190009053556.
13. Cuenca-Estrella M., Verweij P., Arendrup M., Arikan-Akdagli S., Bille J., Donnelly J., et al. ESCMID guidelines for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: diagnostic procedures. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18(Suppl. 7): 9–18. doi: 10.1111/1469-0691.12038.
14. Birrenbach T., Bertschy S., Aebbersold F., Mueller J., Achermann Y., Muehlethaler K., et al. Emergence of Blastoschizomyces capitatus yeast infections, Central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(1): 98–101. doi: 10.3201/eid1801.111192.

Поступила 05.09.17

Принята к печати 20.10.17