

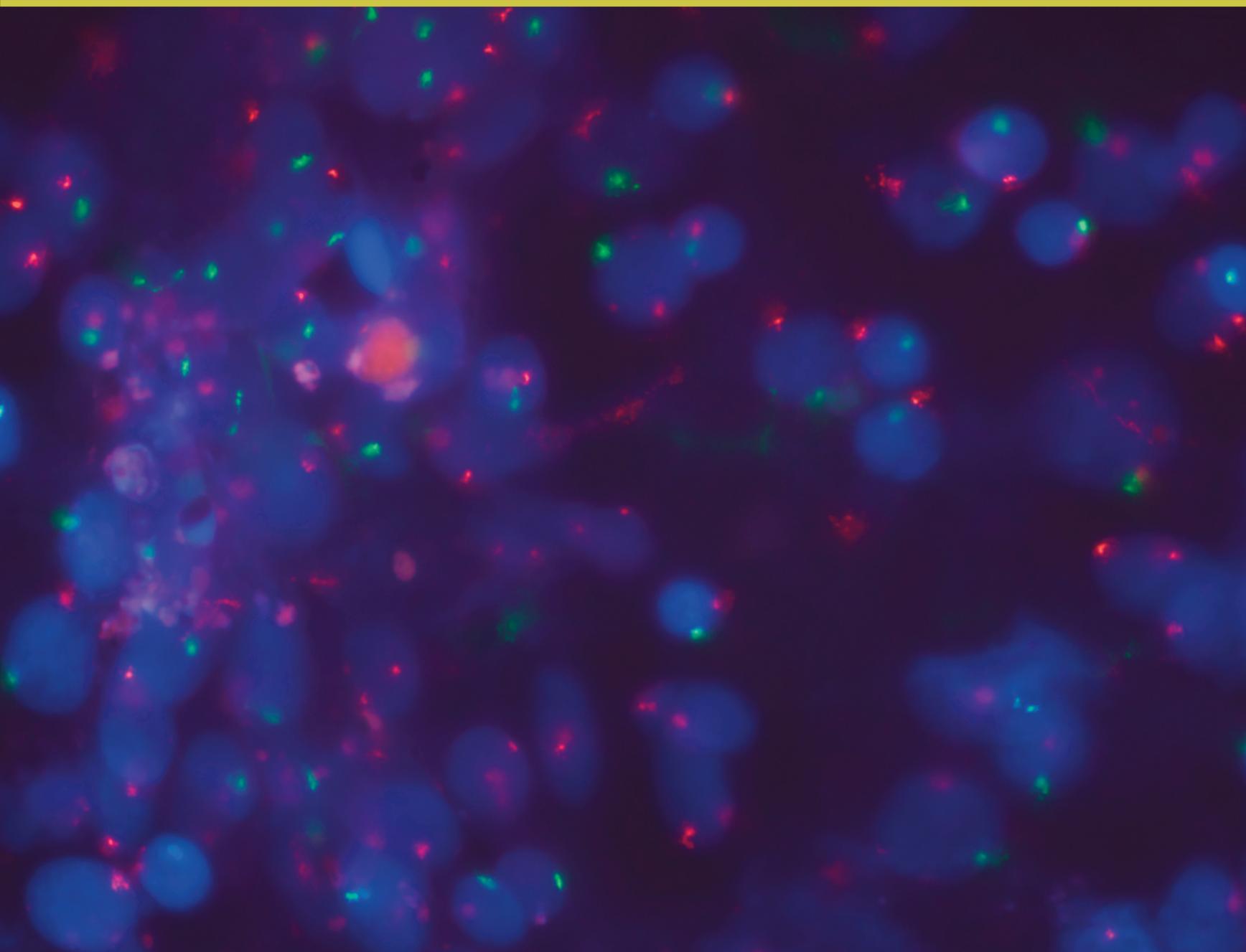
ISSN (Print) 0234-5730
ISSN (Online) 2411-3042

ФГБУ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ГЕМАТОЛОГИИ

ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

63.1. 2018

RUSSIAN JOURNAL
OF HEMATOLOGY AND
TRANSFUSIOLOGY



ОТКРОЙТЕ НОВОЕ ИЗМЕРЕНИЕ В ТЕРАПИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

20 месяцев

медiana OВ у тяжело
предлеченных пациентов²

ДАРЗАЛЕКС

НОВАЯ НАДЕЖДА ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

87%

пациентов в исследовании
рефрактерны к ИП и ИМД²

31%

частота общего ответа²

83%

пациентов, как минимум,
стабилизация заболевания²

0%

пациентов прекратили терапию
вследствие инфузионных реакций²

Краткая инструкция по медицинскому применению препарата ДАРЗАЛЕКС

Регистрационный номер ЛП-004367 от 07/07/2017

Торговое название препарата Дарзалекс

МНН дартумумаб

Лекарственная форма: концентрат для приготовления раствора для инфузий

Фармакотерапевтическая группа: моноклональные антитела

Показания к применению: Препарат Дарзалекс показан в качестве монотерапии у пациентов с рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломой, предшествующее лечение которых включало ингибиторы протеасом и иммуномодулирующие препараты

Противопоказания:

- гиперчувствительность к любому компоненту препарата
- средняя и тяжелая степень нарушения функции печени
- беременность и период грудного вскармливания
- детский возраст до 18 лет (в связи с отсутствием данных по эффективности и безопасности)

Примечания: при беременности и в период грудного вскармливания

Беременность:

Препарат Дарзалекс не следует применять во время беременности. Для предотвращения воздействия на плод, способные к деторождению женщины должны использовать эффективные методы контрацепции во время терапии препаратом Дарзалекс и до истечения 3 месяцев после ее отмены. В настоящее время отсутствуют данные из исследований у человека или у животных о присутствии препарата Дарзалекс в сперме. Риск, связанный с воздействием препарата Дарзалекс через сперму считается минимальным.

Период грудного вскармливания:

В настоящее время неизвестно, происходит ли экскреция препарата дартумумаб в грудное молоко человека или животных, и влияет ли данный препарат на секрецию молока. Риск препарата для младенцев, связанных с его продолжительным сроком действия, неизвестны, необходимо принять решение об отмене грудного вскармливания или отмене препарата.

Способ применения и дозы:

Препарат Дарзалекс вводится в виде внутривенной инфузии.

Дозы:

Рекомендуемая доза препарата Дарзалекс составляет 16 мг/кг массы тела в виде внутривенной инфузии по следующей схеме: недели 1-8 – ежедневно, недели 9-24 – каждые 2 недели, неделя 25 и далее до прогрессирования заболевания – каждые 4 недели.

Пролукс дозы:

В случае пропусков любой запланированной дозы препарата Дарзалекс необходимо как можно скорее ввести данную дозу и скорректировать надлежащим образом расписание терапии с целью сохранения интервала между инфузиями.

Препараты, применяемые до инфузии:

С целью снижения риска возникновения инфузионных реакций все пациенты должны получить комбинацию седативных препаратов примерно за 1 час до каждой инфузии препарата Дарзалекс: - кортикостероиды внутривенно (метипреднизолон 100 мг или эквивалентная доза другого кортикостероида со сравнимой или длительной продолжительностью действия) - пероральный жаропонижающий препарат (парацетамол в дозе 650 - 1000 мг) - пероральный или внутривенный антигистаминный препарат (дифенгидрамин в дозе 25 - 50 мг или эквивалентный препарат).

После каждой инфузии по усмотрению врача допускается снижение дозы кортикостероида (40 мг метипреднизолона внутривенно).

Препараты, применяемые после инфузии:

Для профилактики отсроченных инфузионных реакций всем пациентам следует принимать кортикостероиды перорально (0,2 мг метипреднизолона или эквивалентная доза другого кортикостероида) на третий и пятый день после каждой инфузии.

Кроме того, пациентам с обструктивными заболеваниями легких в анамнезе следует рассмотреть необходимость применения после каждой инфузии короткодействующих и длительнодействующих бронходилататоров, либо ингаляционных кортикостероидов. Если после первых четырех инфузий у

пациента не отмечается никаких значимых инфузионных реакций, то препараты, применяемые после инфузии, могут быть отменены по усмотрению врача.

Особые группы пациентов

Дети (7 лет и младше): Безопасность и эффективность препарата Дарзалекс у детей не подтверждена. Пожилые пациенты (65 лет и старше) между пожилыми и более молодыми пациентами не выявлено каких-либо различий в точки зрения безопасности и эффективности препарата. Коррекция дозы не требуется. Пациенты с нарушением функции почек: исследования дартумумаба у пациентов с нарушением функции почек не проводились. На основании популяционного анализа фармакокинетики установлено, что коррекция дозы у пациентов с нарушением функции почек не требуется.

Пациенты с нарушением функции печени:

Исследования дартумумаба у пациентов с нарушением функции печени не проводились. Изменения функции печени с высокой вероятностью не повлияют на элиминацию дартумумаба, поскольку молекулы IgG1, такие как дартумумаб, не метаболизируются в печени. На основании данных популяционного анализа фармакокинетики не требуется коррекция дозы у пациентов с нарушением функции печени легкой степени (концентрация общего билирубина составляет 1,5-5 верхних границ нормальных значений аспаратаминотрансферазы выше верхней границы нормы). Терапия дартумумабом не изучалась у пациентов с нарушением функции печени средней и тяжелой степени (концентрация общего билирубина более чем в 1,5 раза выше верхней границы нормы и любая активность аспаратаминотрансферазы).

Способ применения:

Препарат Дарзалекс вводится в виде внутривенной инфузии после разведения 0,9 % раствором натрия хлорида. После разведения препарата Дарзалекс необходимо немедленно выполнить инфузию с надлежащей первоначальной скоростью (см. табл.). Постепенное увеличение скорости инфузии следует рассматривать только в том случае, если хорошо переносится предшествующая инфузия дартумумаба (см. табл.).

Таблица. Скорость инфузии препарата Дарзалекс

	Объем разведения	Начальная скорость инфузии (первый час)	Увеличение скорости инфузии	Максимальная скорость инфузии
Первая инфузия	1000 мл	50 мл/час	50 мл/час каждый час	200 мл/час
Вторая инфузия*	500 мл	50 мл/час	50 мл/час каждый час	200 мл/час
Последующие инфузии ^б	500 мл	100 мл/час	50 мл/час каждый час	200 мл/час

* Изменение скорости инфузии допускается только в случае хорошей переносимости первой инфузии препарата Дарзалекс, что определяется как отсутствие инфузионных реакций степени >1 на протяжении первых трех часов.

^б Скорость инфузии следует менять только в случае хорошей переносимости первых двух инфузий препарата Дарзалекс, что определяется как отсутствие инфузионных реакций степени >1 при итоговой скорости инфузии 2100 мл/час.

Побочные действия:

Нежелательные реакции, зарегистрированные с частотой $\geq 10\%$: инфекции верхних дыхательных путей, диспепсия, пневмония** анагина, нейтропения, тромбоцитопения, лимфоцитоз, снижение аппетита, головная боль, повышение артериального давления, кашель, заложенность носа, одышка, тошнота, мигрень, запор, рвота, боль в спине, артралгия, боль в конечностях, скелетно-мышечная боль в грудной клетке, усталость, лихорадка, инфузионные реакции***.

Наиболее частые нежелательные реакции ($\geq 20\%$) включали инфузионные реакции, усталость, тошноту, боль в спине, ангина, нейтропения, тромбоцитопения. У 45 пациентов препарат Дарзалекс был отменен вследствие возникновения нежелательных реакций, ни одно из которых не было расценено как связанное с данным препаратом.

** Пневмония также включает такие термины как стрептококковая пневмония и долевая пневмония

*** Инфузионные реакции включают, в том числе (список не является исчерпывающим) следующие термины нежелательных реакций: заложенность носа, кашель, озноб, аллергический ринит, раздражение глотки, одышка, тошнота (все 25%), бронхоспазм (2,6%), гипертония (1,9%) и гипоксия (1,3%)

Переоказии:

Случаев переоказии в клинических исследованиях не зарегистрировано. В настоящее время отсутствует известный специфичный антител для препарата Дарзалекс. В случае возникновения переоказии за пациентом следует наблюдать с целью выявления любых жалоб или симптомов. В случае их выявления требуется немедленно начать соответствующую симптоматическую терапию.

Особые указания:

Инфузионные реакции:

Инфузионные реакции наблюдались примерно у половины пациентов, получавших препарат Дарзалекс. Для снижения риска инфузионных реакций перед применением препарата Дарзалекс следует провести премедикацию седативными препаратами, жаропонижающими средствами и кортикостероидами. В случае возникновения инфузионных реакций любой степени необходимо приостановить инфузию препарата Дарзалекс. Кроме того, пациентам с обструктивными заболеваниями легких в анамнезе для терапии легочных осложнений в случае их развития следует дополнительно решить вопрос о применении препаратов после инфузии (например, ингаляционных кортикостероидов, короткодействующих и длительнодействующих бронходилататоров).

Влияние на результаты серологических исследований: Дартумумаб связывается с белком CD38, который в небольшом количестве выявляется на эритроцитах, что может привести к регистрации положительного результата непрямои пробы Кумбса. Связанный с дартумумабом положительный результат непрямои пробы Кумбса может сохраниться на протяжении до 6 месяцев после завершения инфузии данного препарата. В случае запланированной гемотрансфузии следует сообщить в отделение переливания крови об этом влиянии на результаты серологических анализов.

Влияние на результаты определения ответа на терапию: Дартумумаб – это человеческое моноклональное антитело IgG₁, которое может быть определено методом электрофореза сывороточных белков или методом иммунофлюоресценции. Оба метода используются также и для определения эндогенного М-протеина. Данные взаимодействия могут влиять на результаты определения ответа на терапию и результаты определения прогрессии заболевания у пациентов с миеломой типа IgG₁.

Содержание натрия:

Каждый флакон с концентратом объемом 5 мл или 20 мл содержит 0,4 ммоль или 1,6 ммоль (9,3 мг или 37,3 мг) натрия соответственно. Данная информация должна учитываться пациентами, находящимися на диете с контролем содержания натрия.

Влияние на способность управлять транспортными средствами и механизмами: Препарат Дарзалекс не влияет на способность управлять транспортными средствами и механизмами, либо его эффект пренебрежимо мал.

Условия хранения:

При температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте. Не замораживать. Не встряхивать. После приготовления раствор можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте не более 24 ч.

Хранить в недоступном для детей месте.

Условия отпуска:

По рецепту

Контактная информация:

ООО «Джонсон & Джонсон, Россия, 121614, Москва, ул. Крылатская, 17/2

Контактные телефоны:

Тел.: (495) 755-83-57

Факс: (495) 755-83-58

Литература:

1. Инструкция по медицинскому применению препарата Дарзалекс (дартумумаб) в РФ, ЛП-004367 от 07.07.2017
2. Usmani S, et al. Clinical efficacy of daratumumab monotherapy in patients with heavily pretreated relapsed or refractory multiple myeloma. *Blood*, 2016, May 23. Epub ahead of print.
3. Usmani et al., Analysis of real-world data on overall survival in multiple myeloma patients With ≥3 prior lines of therapy including a proteasome inhibitor (PI) and an immunomodulatory drug (IMiD), or double refractory to a PI and an IMiD. *The Oncologist*, 2016, 21:1–7

На провах рекламы.
PHRU/DAR/0917/0004a

Janssen PHARMACEUTICAL COMPANIES
of Johnson & Johnson

ДАРЗАЛЕКС
дартумумаб
концентрат для приготовления раствора для инфузий

ООО «НТФФ «ПОЛИСАН» сегодня:



Экспортная упаковка



Экспортная упаковка



- Разработка оригинальных лекарственных препаратов
- Премии Правительства РФ в области науки и техники
- Современное высокотехнологичное производство в соответствии с международными стандартами GMP
- Собственное производство субстанций
- География применения препаратов: РФ, СНГ, страны Юго-Восточной Азии и Латинской Америки
- 25 лет на рынке



Октаплекс®

Концентрат Протромбинового Комплекса

Точная профилактика и быстрый контроль
угрожающих жизни кровотечений



- Сбалансированный состав факторов свертывания крови КПК¹
- Терапевтическая концентрация протеина С и протеина S¹
- Быстрая нормализация МНО в течение 10 минут²
- Низкая тромбогенная активность^{3,4}
- Небольшой объем и короткое время инфузии⁵

1. Josic D, et al. Manufacturing of a Prothrombin Complex Concentrate Aiming at Low Thrombogenicity. *Thromb Res* 2000; 100: 433-441
2. Lubetsky A et al. Efficacy and safety of a prothrombin complex concentrate (Octaplex®) for rapid reversal of oral anticoagulation. *Thromb Res* 2004; 113(6):371-378
3. Varga C et al. The effectiveness and safety of fixed low-dose prothrombin complex concentrates in patients requiring urgent reversal of warfarin. *Transfusion* 2013; 53:1451-1458
4. Desmestre T et al. Emergency reversal of anticoagulation: The real use of prothrombin complex concentrates - A prospective multicenter two year French study from 2006 to 2008. *Thromb Res* 2012; 130 (3): e178-e183
5. Sarode R. Four-factor prothrombin complex concentrate versus plasma for urgent vitamin K antagonist reversal: New evidence. *Clin Lab Med* 2014; 34 (3): 613-621
Номер РУ препарата Октаплекс® в РФ ЛП-004107

octapharma®

За безопасное и оптимальное применение белков человека

Представительство в России:
Представительство АО Октафарма Нордик АБ, Швеция
119002, Москва, Денежный пер., д. 11, стр. 1
Тел.: +7 (495) 785 45 55
Факс: +7 (495) 785 45 58

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

главный редактор журнала

д. м. н., профессор, академик РАН **Савченко В. Г.**

заместитель главного редактора

д. м. н. **Галстян Г. М.**

ответственный секретарь

к. м. н. **Троицкая В. В.**

ЧЛЕНЫ РЕДКОЛЛЕГИИ

Афанасьев Б. В.
Буланов А. Ю.
Гапонова Т. В.
Гудков А. В.
Звонков Е. Е.
Зозуля Н. И.
Клясова Г. А.
Ковригина А. М.
Крыжановский О. И.
Купряшов А. А.
Масчан А. А.
Менделеева Л. П.
Никитин Е. А.
Паровичникова Е. Н.
Семочкин С. В.
Судариков А. Б.
Трахтман П. Е.
Тумян Г. С.
Чернов В. М.

д. м. н., профессор. ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург
д. м. н. ГКБ №52, Москва
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. б. н. Институт рака Розалла Парка, Буффало, США
д. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н., профессор. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. Alta Bates Summit Medical Center, Сан-Франциско, США
д. м. н. ФГБУ НМИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева, Москва
д. м. н., профессор, чл-кор. РАН ФГБУ НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва
д. м. н., профессор. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н. ГКБ им. С. П. Боткина, Москва
д. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н. РНИМУ им. Н. И. Пирогова МЗ РФ
д. б. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н. ФГБУ НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва
д. м. н., профессор. ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина МЗ РФ, Москва
д. м. н., профессор. ФГБУ НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Алейникова О. В.
Аль-ради Л. С.
Байков В. В.
Бигильдеев А. В.
Бидерман Б. В.
Бондаренко С. Н.
Васильев С. А.
Гаврилина О. А.
Гармаева Т. Ц.
Головкина Л. Л.
Грицаев С. В.,
Дагбалян С. С.
Двирнык В. Н.
Джулакян У. Л.
Дроков М. Ю.
Дубинкин И. В.
Ефимов Г. А.
Исхаков Э. Д.
Кохно А. В.
Кузьмина Л. А.
Кулагин А. Д.
Куликов С. М.
Луговская С. А.
Лукина Е. А.
Магомедова А. У.
Маккарти Ф.
Масчан М. А.
Михайлова Е. А.
Моисеева Т. Н.
Нидервизер Д.
Обухова Т. Н.
Фоа Р.
Салимов Э. Л.
Сметанина Н. С.
Туполева Т. А.
Туркина А. Г.
Фидарова З. Т.
Хамаганова Е. Г.
Хельман Ф.
Хольцер Д.
Цаур Г. А.
Шипунова И. Н.

д. м. н., профессор, чл-кор. НАН Беларуси. РНПЦ онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н. ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург
к. б. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. б. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н. ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, Санкт-Петербург
д. м. н., профессор. Гематологический центр им. Р. О. Еоляна, Ереван, Армения
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. б. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. б. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. НИИ гематологии и переливания крови, Ташкент, Узбекистан
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н. ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург
к. ф.-м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н., профессор. РМАПО, Москва
д. м. н., профессор. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
профессор онкологии и внутренней медицины. Институт Рака Розвелл Парк Баффало, США
д. м. н., профессор. ФГБУ НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва
д. м. н., профессор. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
профессор. Университетский госпиталь, Лейпциг, Германия
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
Римский университет «La Sapienza», Рим, Италия
д. м. н. Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва
д. м. н., профессор. ФГБУ НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. м. н., профессор. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
к. м. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
д. б. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва
преподаватель клинической медицины. Больница Лоренс Мемориал, Нью-Йорк, США
профессор медицины и гематологии. Франкфуртский университет, Франкфурт-на-Майне, Германия
д. м. н. Областная клиническая больница №1, Екатеринбург
к. б. н. ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

125167, Москва,
Новый Зыковский проезд, д. 4
ФГБУ НМИЦ гематологии МЗ РФ
Телефон: +7(495) 921-22-04
E-mail: ht@htjournal.ru

Редактор Первухова Н. В.
Выпускающий редактор Ананич С. В.
Корректор Алексеев В. А.
Верстка Косовская Ю. Г.

Дизайн Чулкова И. Г.

Формат 230x297мм
Тираж 1500 экз.

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

Отпечатано в ОАО «Можайский
полиграфический комбинат»
143200, г. Можайск, ул. Мира, 93
Объединенный каталог
«Пресса России»:
Индекс 41284

Подписка через интернет:
www.pressa-rr.ru

Подписка на электронную
версию журнала: elibrary.ru
ISSN 0234-5730 (Print)
ISSN 2411-3042 (Online)

Гематология и трансфузиология
Russian Journal of Hematology
and Transfusiology
2018. Т. 63. № 1, 00-96.

© ФГБУ НМИЦ гематологии
МЗ РФ, Москва

Перепечатка материалов и
использование их в любой форме,
в том числе в электронных СМИ,
возможны только с письменного
разрешения редакции

EDITORIAL BOARD

EDITOR-IN-CHIEF

Doctor of Medical Sciences, professor, academician **Savchenko V. G.**

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Doctor of Medical Sciences, **Galstyan G. M.**

EXECUTIVE SECRETARY

Candidate of Medical Sciences **Troitskaya V. V.**

EDITORIAL BOARD

Afanasyev B. V. Dr. Sci. (Med.), professor. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg
Bulanov A. Yu. Dr. Sci. (Med.) City municipal hospital 52, Moscow
Gaponova T. V. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Gudkov A. V. Cand. Sci. (Biol.) Roswell Park Cancer Institute, Buffalo, USA
Zvonkov E. E. Dr. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Zozulya N. I. Dr. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Klyasova G. A. Dr. Sci. (Med.), professor. National Research Center for Hematology, Moscow
Kovrigina A. M. Dr. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Krizhanovsky O. I. Cand. Sci. (Med.) Alta Bates Summit Medical Center, San Francisco, USA
Kupryashov A. A. Dr. Sci. (Med.) A. N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery, Moscow
Maschan A. A. Dr. Sci. (Med.), professor, corresponding member of the Russian Academy of Sciences. Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow
Mendeleeva L. P. Dr. Sci. (Med.), professor. National Research Center for Hematology, Moscow
Nikitin E. A. Dr. Sci. (Med.) S. P. Botkin City Hospital, Moscow
Parovichnikova E. N. Dr. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Semochkin S. V. Dr. Sci. (Med.) Pirogov Russian National Research Medical University
Sudarikov A. B. Dr. Sci. (Biol.) National Research Center for Hematology, Moscow
Trachtman P. E. Dr. Sci. (Med.) Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow
Tumyan G. S. Dr. Sci. (Med.), professor. N. N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Moscow
Chernov V. M. Dr. Sci. (Med.), professor. Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

EDITORIAL COUNCIL

Aleinikova O. V. Dr. Sci. (Med.), professor, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus Belarussian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology. Republic of Belarus
Al-Radi L. S. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Baykov V. V. Dr. Sci. (Med.) Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of St Petersburg, Saint Petersburg
Bigildeev A. V. Cand. Sci. (Biol.) National Research Center for Hematology, Moscow
Biderman B. V. Cand. Sci. (Biol.) National Research Center for Hematology, Moscow
Bondarenko S. N. Cand. Sci. (Med.) Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg
Vasilyev S. A. Dr. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Gavrilina O. A. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Garmaeva T. Ts. Dr. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Golovkina L. L. Dr. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Gritsaev S. V. Dr. Sci. (Med.) Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of St Petersburg, Saint Petersburg
Dagbashyan S. S. Dr. Sci. (Med.), professor Hematology Center after R.H. Yolyan, Yerevan, Armenia
Dvirnyk V. N. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Julhakyana H. L. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Drokov M. Yu. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Dubinkin I. V. Cand. Sci. (Biol.) National Research Center for Hematology, Moscow
Efimov G. A. Dr. Sci. (Biol.) National Research Center for Hematology, Moscow
Iskhakov E. D. Cand. Sci. (Med.) Research institute of Hematology and Blood transfusion, Tashkent, Republic of Uzbekistan
Kokhno A. V. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Kuzmina L. A. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Kulagin A. D. Dr. Sci. (Med.) Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg
Kulikov S. M. Cand. Sci. (Phys.-Math) National Research Center for Hematology, Moscow
Lugovskaya S. A. Dr. Sci. (Med.), professor Russian Medical Academy of Postgraduate Education
Lukina E. A. Dr. Sci. (Med.), professor National Research Center for Hematology, Moscow
Magomedova A. U. Dr. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
McCarthy Ph. Professor of Oncology and Internal Medicine. Roswell Park Comprehensive Cancer Center
Maschan M. A. Dr. Sci. (Med.), professor Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow
Mikhaylova E. A. Dr. Sci. (Med.), professor. National Research Center for Hematology, Moscow
Moiseeva T. N. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Niederwieser D. Professor of Medicine. University Hospital, Leipzig, Germany
Obuchova T. N. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Foa R. Professor of Hematology. "Sapienza" University of Rome, Italy
Salimov E. L. Dr. Sci. (Med.) I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow
Smetanina N. S. Dr. Sci. (Med.), professor. Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow
Tupoleva T. A. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Turkina A. G. Dr. Sci. (Med.), professor. National Research Center for Hematology, Moscow
Fidarova Z. T. Cand. Sci. (Med.) National Research Center for Hematology, Moscow
Khamaganova E. G. Dr. Sci. (Biol.) National Research Center for Hematology, Moscow
Hellman R. MD, Ass. Prof. Lawrence and Memorial Hospital, New London, USA
Hoelzer D. Professor of Medicine and Hematology, MD, PhD University of Frankfurt, Frankfurt, Germany
Tsaur G. Dr. Sci. (Med.) Regional Children's Hospital 1, Yekaterinburg
Shipunova I. N. Cand. Sci. (Biol.) National Research Center for Hematology, Moscow

ADDRESS OF EDITORIAL

125167, Moscow,
Novyy Zykovskiy proezd, 4
National Research Center
for Hematology, Moscow
Phone: +7(495) 921-22-04
E-mail: hf@htjournal.ru

Editor Pervuhova N. V.
Production editor Ananich S. V.
Corrector Alexeev V. A.
Layout of Kosovskaya U. G.

Design by Chulkova I. G.

Format 230x297mm
Printed copies 1500

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

Printed in JSC
«Mozhaisk printing plant»
143200, Mozhaisk, ul. Mira, 93
United Catalog «Press of Russia»:
Index 41284

Subscription via the Internet:
www.pressa-rf.ru
Subscription to the electronic
version of the journal: elibrary.ru
ISSN 0234-5730 (Print)
ISSN 2411-3042 (Online)
Russian Journal of Hematology
and Transfusiology
2018. Vol. 63. No. 1, 00-96.

© National Research Center
for Hematology, Moscow

Reprinting of materials and
their use in any form, including
electronic media, is possible only
with the written permission from
the publisher

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

- 8-15 Быкова А. В., Туркина А. Г., Гусарова Г. А., Абдуллаев А. О., Челышева Е. Ю., Треглазова С. А., Судариков А. Б.
Взаимосвязь полиморфизма гена *UGT1A1* с частотой возникновения гипербилирубинемии у больных хроническим миелолейкозом, получающих терапию nilotinibом
- 16-30 Басхаева Г. А., Паровичникова Е. Н., Бидерман Б. В., Гаврилина О. А., Давыдова Ю. О., Дроков М. Ю., Зарубина К. И., Лукьянова И. А., Троицкая В. В., Соколов А. Н., Пискунова И. С., Степанова Е. А., Смирнова С. Ю., Судариков А. Б., Гальцева И. В., Обухова Т. Н., Савченко В. Г.
Роль мутаций гена *IKZF1* при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе у взрослых больных, получающих лечение по протоколам российского многоцентрового исследования
- 31-43 Нгуен Ха Тхань, Нгуен Ань Чи, Нгуен Тхи Тхао, Ле Суан Хай, Ву Тхи Бить Хуонг, Дуонг Куок Тинь, Бать Куок Кхань
Результаты терапии иматинибом у больных хроническим миелолейкозом в Национальном институте гематологии и трансфузиологии Вьетнама
- 44-54 Головкина Л. Л., Минеева Н. В., Менделеева Л. П., Бессмелцев С. С., Стремouxова А. Г., Грибанова Е. О., Соловьев М. В.
Модификация преаналитического этапа непрямого пробы Кумбса у больных множественной миеломой при лечении даратумумабом
- 55-64 Будник И. А., Морозова О. Л., Цымбал А. А., Шенкман Б., Эйнав Ю.
Анализ влияния транексамовой кислоты, фактора XIII и концентрата фибриногена на формирование и лизис кровяного сгустка при избыточном фибринолизе, индуцированном тканевым и урокиназным активатором плазминогена
- 65-70 Ольховский И. А., Филина Н. Г., Горбенко А. С., Столяр М. А., Колотвина Т. Б., Субботина Т. Н.
Частота обнаружения мутации гена *JAK2* среди доноров крови
- 71-77 Нерсисян М. В., Лубнин А. Ю., Сазыкина С. Ю., Капитанов Д. Н., Мошкин А. В., Александрова И. А.
Проблема бактериальной контаминации реинфузата при удалении юношеских ангиофибром основания черепа
- Обзор литературы*
- 78-91 Галстян Г. М.
Применение концентратов протромбинового комплекса по утвержденным и неутвержденным показаниям: новые перспективы старых препаратов
- Клиническое наблюдение*
- 92-96 Гительзон Д. Г., Файбушевич А. Г., Васильев А. Э., Гительзон Е. А., Спириин М. В., Полеводова О. А., Мишин Г. В., Карпов Е. Е., Галстян Г. М.
Эндоваскулярная эмболизация псевдоопухолей у больных гемофилией

CONTENTS

Original articles

- Bykova A. V., Turkina A. G., Gusarova G. A., Abdullaev A. O., Chelysheva E. Yu., Treglazova S.A., Sudarikov A. B.
***UGT1A1* gene polymorphism and frequency of hyperbilirubinemia in chronic myeloid leukemia patients treated by nilotinib**
- Baskhaeva G. A., Parovichnikova E. N., Biderman B. V., Gavrilina O. A., Davidova Yu. O., Drokov M. Yu., Zarubina K. I., Lukyanova I. A., Troitskaya V. V., Sokolov A. N., Piskunova I. S., Stepanova E.A., Smirnova S. A., Sudarikov A. B., Galtseva I. V., Obukhova T. N., Savchenko V. G.
The role of *IKZF1* deletions in adult Ph-negative and Ph-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia patients treated in Russian Acute Lymphoblastic Leukemia study
- Nguyen Ha Thanh, Nguyen Anh Tri, Nguyen Thi Thao, Le Xuan Hai, Vu Thi Bich Huong, Duong Quoc Chinh, Bach Quoc Khanh
Result of the treatment of chronic myeloid leukemia with imatinib from the Vietnam National Institute of Hematology and Blood Transfusion
- Golovkina L. L., Mineeva N. V., Mendeleeva L. P., Bessmelzev S. S., Stremoukhova A. G., Gribanova E. O., Solovyev M.V.
A modification of the pre-analytical phase of the indirect Coombs test for multiple myeloma patients treated with daratumumab
- Budnik I. A., Morozova O. L., Tsymbal A. A., Shenkman B., Einav Yu.
Effects of tranexamic acid, factor XIII, and fibrinogen on clot formation and lysis in the model of hyperfibrinolysis induced by tissue- vs urokinase-type plasminogen activator
- Olkhovskiy I. A., Filina N. G., Gorbenko A. S., Stolyar M. A., Kolotvina T. B., Subbotina T. N.
Prevalence of mutations in *JAK2* among blood donors
- Nersesyan M. V., Lubnin A. Yu., Sazykina S.Yu., Kapitanov D. N., Moshkin A. V., Aleksandrova I. A.
The problem of bacterial contamination of reinfused blood spilled during surgery for juvenile nasal angiofibroma
- Review article*
- Galstyan G. M.
Label and off-label applications of prothrombin complex concentrates. New perspectives of old drugs
- Case reports*
- Gitelson D. G., Faibushevich A. G., Vasiliev A. E., Gitelson E. A., Spirin M. V., Polevodova O. A., Mishin G. V., Karpov E. E., Galstyan G. M.
Endovascular embolization of pseudotumors in hemophilia patients



Дорогие читатели,

первый научный медицинский журнал «Le journal des Sçavans» появился во Франции в 1665 г, а первое медицинское периодическое издание «Nouvelles decouvertes sur toutes les parties de la médecine» выпущено в 1679 г. парижским хирургом Н. Бленьи. Россия отстала от Европы на целое столетие, и первое медицинское периодическое издание – «Санкт-Петербургские врачебные ведомости» стало выходить с 2 ноября 1792 г., журнал имел 173 подписчика. Одним из первых специализированных журналов, освещающих вопросы гематологии и трансфузиологии в России, стал журнал «Проблемы гематологии и переливания крови», который появился на свет в 1956 г., в 1982 г. он был переименован в журнал «Гематология и трансфузиология», т. е. на сегодняшний день журналу уже более 60 лет. На протяжении десятилетий в нем сотрудничали ведущие гематологи и трансфузиологи страны, имена которых стали легендой отечественной медицины (И. А. Кассирский, Ю. И. Лорие, А. И. Воробьев, Л. И. Идельсон, З. С. Баркаган и др.).

В то же время на сегодняшний день сложилась парадоксальная ситуация, когда число подписчиков журнала стало даже меньше, чем в первом российском журнале. И это при том, что на IV Конгрессе гематологов, который проходил в Москве в этом году, приняло участие более 2 000 человек. А сколько еще не приехало! Более того, гематология и трансфузиология объединяет не только врачей, занимающихся лечением пациентов с заболеваниями системы крови и переливанием компонентов крови, но и специалистов самых разных специальностей, в том числе биологов, хирургов, кардиологов, неврологов, специалистов лабораторного дела и т. д. Как кровь связывает между собой различные органы, так и наша специальность объединяет врачей самых различных специальностей: изменения ростков гемопоэза, потребление компонентов крови, нарушения гемостаза, применение препаратов, влияющих на гемостаз, – нет ни одной специальности медицины, которую бы не затрагивали эти проблемы, и все эти темы находят отражение на страницах нашего журнала.

Перед вами очередной номер журнала «Гематология и трансфузиология». Очередной, но не тот же. Журнал, как вы можете заметить, претерпел значительные изменения. Вы видите, что сменилась не только обложка, сменились учредители, издательство, состав редколлегии, изменения коснулись и содержания журнала. Мы постараемся сделать его более интересным, открытым и доступным для читателя. Журнал будет иметь электронную версию, все статьи проходят «слепое» рецензирование ведущими российскими и зарубежными специалистами. В нем будут публиковаться не только оригинальные статьи, обзоры, клинические наблюдения, сообщения с конгрессов и съездов, но и последние методические рекомендации, протоколы. Это журнал не Центра гематологии, это журнал – гематологов страны. Наша цель сделать его не настольной книгой, книга — это слишком долго, на ее издание требуется время, а наша специальность развивается значительно быстрее, поэтому наша цель – сделать его настольным журналом не только гематологов, трансфузиологов, но и врачей самых разных специальностей, которым небезразличны проблемы гематологии и трансфузиологии.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР ЖУРНАЛА «ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ»,

директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» МЗ РФ, академик РАН, профессор, доктор медицинских наук

В. Г. Савченко

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *UGT1A1* С ЧАСТОТОЙ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ГИПЕРБИЛИРУБИНЕМИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ, ПОЛУЧАЮЩИХ ТЕРАПИЮ НИЛОТИНИБОМ

UGT1A1 gene polymorphism and frequency of hyperbilirubinemia in chronic myeloid leukemia patients treated by nilotinib

Быкова А. В., Туркина А. Г., Гусарова Г. А.,
Абдуллаев А. О., Челышева Е. Ю., Треглазова С. А.,
Судариков А. Б.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России, Москва, Россия

Bykova A. V., Turkina A. G., Gusarova G. A., Abdullaev A. O.,
Chelysheva E. Yu., Treglazova S. A., Sudarikov A. B.

National Medical Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

Введение. Изолированная гипербилирубинемия за счет непрямой фракции может встречаться у пациентов с полиморфизмом гена *UGT1A1* (главным образом при гомозиготном генотипе $(TA)_7/(TA)_7$), кодирующего фермент уридиндифосфат-глюкуронилтрансферазу-1 в гепатоцитах. Гипербилирубинемия также является наиболее часто встречающимся отклонением лабораторных показателей у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ), получающих терапию nilotinibом.

Цель. Оценить взаимосвязь между наличием полиморфизма гена *UGT1A1* и частотой возникновения гипербилирубинемии у больных ХМЛ, получающих терапию nilotinibом.

Материалы и методы. Мы оценили биохимические параметры в группе из 100 больных, получавших терапию nilotinibом: уровни билирубина, печеночных ферментов — аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), а также сроки возникновения гипербилирубинемии и сроки нормализации биохимических показателей. Для исследования промоторной области гена *UGT1A1* выполнена аллельспецифичная полимеразная цепная реакция (АС-ПЦР).

Результаты. Повышение уровня билирубина, преимущественно за счет непрямой фракции, отмечалось у 84 (84%) из 100 больных, из них гипербилирубинемия 1-й степени наблюдалась у 41 (49%), 2-й степени — у 33

Background. Polymorphisms in the *UGT1A1* gene (especially the homozygous $(TA)_7/(TA)_7$ genotype), which encodes the uridine diphosphate glucuronyltransferase 1 (UDP-GT) enzyme in hepatocytes, may manifest with isolated indirect hyperbilirubinemia. Hyperbilirubinemia is also most common laboratory abnormality in chronic myeloid leukemia (CML) patients treated by nilotinib.

Aim. To estimate the correlation between of *UGT1A1* gene polymorphism and frequency of hyperbilirubinemia in CML patients treated by nilotinib.

Materials and methods. Our study included 100 CML patients treated by nilotinib. We analyzed their blood biochemistry, namely the level of bilirubin, the activity of liver enzymes (AST and ALT), the time to development of hyperbilirubinemia, and the time until normalization of blood biochemistry. We also studied the promoter region of the *UGT1A1* gene in these patients with allele-specific polymerase chain reaction (AS-PCR).

Results. Indirect hyperbilirubinemia was observed in 84 (84%) of 100 patients. Of those, 41 (49%) had grade 1 hyperbilirubinemia, 33 (39%) had grade 2 hyperbilirubinemia, and 10 (12%) had grade 3 hyperbilirubinemia. Normal genotype $(TA)_6/(TA)_6$ was found in 71 (71%) patients, 19 (19%) patients had a heterozygous $(TA)_6/(TA)_7$ genotype, and 10 (10%) patients had a homozygous $(TA)_7/(TA)_7$ genotype. Eight of the 84 CML patients with

(39%), 3-й степени — у 10 (12%) больных. Нормальный генотип (TA)₆/(TA)₆ выявлен у 71 (71%) больного, гетерозиготный генотип (TA)₆/(TA)₇ — у 19 (19%), гомозиготный генотип (TA)₇/(TA)₇ — у 10 (10%) больных. У 8 (9,5%) из 84 больных с повышенным уровнем билирубина отмечалось также повышение уровней АЛТ и АСТ: 1-й степени — у 1 больного, 2-й степени — у 5 больных, 3–4-й степени — у 2 больных, однако только в начале терапии. В дальнейшем отмечалась лишь изолированная гипербилирубинемия.

Заключение. Одной из причин гипербилирубинемии 3-й степени в результате терапии нилотинибом у больных ХМЛ может быть наличие гомозиготного генотипа (TA)₇/(TA)₇ в промоторном районе гена *UGT1A1*. У больных с нормальным генотипом или гетерозиготной формой отмечен более низкий уровень билирубинемии. Связи полиморфизма гена *UGT1A1* с повышением уровня печеночных ферментов не выявлено.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз; нилотиниб; гипербилирубинемия; аспартатаминотрансфераза; аланинаминотрансфераза; полиморфизм гена *UGT1A1*

Для цитирования: Быкова А. В., Туркина А. Г., Гусарова Г. А., Абдуллаев А. О., Челышева Е. Ю., Треглазова С. А., Судариков А. Б.

Взаимосвязь полиморфизма гена *UGT1A1* с частотой возникновения гипербилирубинемии у больных хроническим миелолейкозом, получающих терапию нилотинибом. Гематология и трансфузиология 2018; 63(1):8–15

doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.19..1..001>

Для корреспонденции: Быкова Анастасия Витальевна, врач-гематолог научно-консультативного отделения химиотерапии миелолипролиферативных заболеваний, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России, 125167, г. Москва, Россия

Электронная почта: ivlutaya@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 21.12.17

Принята к печати 16.05.18

hyperbilirubinemia (9,5%) had a transient elevation of ALT and AST: grade 1 in 1 case, grade 2 in 5 cases, and grade 3–4 in 2 cases.

Conclusion. In CML patients treated with nilotinib, grade 3 hyperbilirubinemia may be a sign of (TA)₇/(TA)₇ polymorphism in promoter region of the *UGT1A1* gene. Low-grade hyperbilirubinemia occurs both in patients with normal *UGT1A1* genotype and in patients heterozygous for the (TA)₇ polymorphism. No connection between *UGT1A1* polymorphisms and elevated liver enzymes (ALT, AST) was established.

Keywords: chronic myeloid leukemia; nilotinib; hyperbilirubinemia; AST; ALT; *UGT1A1* gene polymorphism

For citation: Bykova A. V., Turkina A. G., Gusarova G. A., Abdullaev A. O., Chelysheva E. Yu., Treglazova S. A., Sudarikov A. B. ***UGT1A1* gene polymorphism and frequency of hyperbilirubinemia in chronic myeloid leukemia patients treated by nilotinib.** Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfusiologiya*) 2018; 63(1):8–15 (in Russian)

doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.19..1..001>

For correspondence: Bykova Anastasia V., MD, hematologist of National Medical Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation

E-mail: ivlutaya@mail.ru

Information about authors:

Bykova A. V., <http://orcid.org/0000-0002-3123-8316>;

Turkina A. G., <http://orcid.org/0000-0001-9947-2371>;

Gusarova G. A., SPIN-код: 8020-0548, AuthorID: 579717;

Abdullaev A. O., <http://orcid.org/0000-0003-2530-808X>;

Chelysheva E. Yu., <http://orcid.org/0000-0001-6423-1789>;

Treglazova S. A., SPIN-код: 9225-1022, AuthorID: 802850;

Sudarikov A. B., <http://orcid.org/0000-0001-9463-9187>.

Financial disclosure. The study had no sponsorship.

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

Received 21 Dec 2017

Accepted 16 May 2018

Введение

Гипербилирубинемия — наиболее часто встречающееся отклонение лабораторных показателей у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ), получающих терапию нилотинибом. Подведение итогов многоцентрового исследования III фазы ENACT по оценке эффективности и безопасности нилотиниба у больных ХМЛ в хронической фазе (ХФ) и фазе акселерации (ФА) с непереносимостью или резистентностью к иматинибу (ИМ) показало, что препарат име-

ет особый профиль токсичности. С высокой частотой встречались различные отклонения лабораторных показателей, среди которых наиболее высока доля повышения концентрации непрямого билирубина — 72% больных, причем у 7% отмечена гипербилирубинемия 3–4-й степени [1]. В ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» в данное исследование были включены 37 больных. Частота повышения непрямого билирубина всех сте-

пений у них составила 86,5%, 3-й степени — 16% (4-я степень не наблюдалась) [2]. В исследовании ENESTnd (применение нилотиниба в качестве 1-й линии терапии) гипербилирубинемия отмечалась у 62% испытуемых, из них у 8% наблюдалась 3–4-я степень при дозе нилотиниба 800 мг/сут [3]. После завершения исследовательского протокола ENACT мы продолжили наблюдение за больными, продолжающими принимать нилотиниб. Как показали многочисленные биохимические анализы, у части больных сохранялась билирубинемия 1–2-й степени, а у 5 больных наблюдалась 3-я степень гепатотоксичности, которая имела постоянный или персистирующий характер [4, 5].

Билирубин образуется из гемоглобина, затем путем активного транспорта попадает в гепатоциты, где под воздействием фермента уридиндифосфат-глюкуронозилтрансферазы (УДФ-ГТ) нерастворимая форма билирубина (непрямая, несвязанная) путем присоединения молекулы глюкуроновой кислоты превращается в растворимую (прямую, связанную), входящую впоследствии в состав желчи. УДФ-ГТ кодируется геном *UGT1A1*.

Изолированная гипербилирубинемия за счет не прямой фракции статистически значимо чаще встречается при полиморфизме гена *UGT1A1*, при котором в его промоторной области в одном или двух аллелях происходит вставка вместо 6 повторов тимидин-адениновых оснований 7 повторов и более — генотип $A(TA)_7TAA/A(TA)_7TAA$; $A(TA)_7TAA/A(TA)_6TAA$, что приводит к снижению активности фермента УДФ-ГТ. В основном это касается гомозиготной формы, генотип $(TA)_7/(TA)_7$, при которой активность фермента УДФ-ГТ может снижаться до 30% от нормы. Эта генетическая поломка является причиной клинических проявлений синдрома Жильбера — аутосомно-рецессивного заболевания, открытого более 100 лет назад [6–8]. Распространенность гомозиготной формы полиморфизма гена *UGT1A1* в разных популяциях в мире составляет от 0,5 до 10%, гетерозиготная форма встречается чаще — у 40–45% населения. В частности, у европейцев и азиатов данный полиморфизм встречается с частотой 1–15%, а наиболее распространен у африканского населения (36–42%, по разным источникам) [9–11].

Проявляется синдром Жильбера чаще всего после 20 лет при наличии провоцирующих факторов, таких как голодание, чрезмерные физические нагрузки, прием препаратов, снижающих активность фермента УДФ-ГТ (например, рифампицина, левомицетина, стрептомицина, ампициллина, парацетамола, циметидина, анаболиков, глюкокортикоидов, андрогенов, эстрадиола, кофеина, салицилатов и др.) [4, 12, 13].

Что касается применения ингибиторов тирозинкиназы (ИТК), в частности нилотиниба, Singer

et al. [14] на основании исследования полиморфизма генов у 132 пациентов из 11 стран показали, что наличие полиморфизма гена *UGT1A1* повышает риск нилотиниб-индуцированной гипербилирубинемии. Относительный риск билирубинемии у больных, получающих лечение препаратом нилотиниб, с гомозиготным генотипом $(TA)_7/(TA)_7$ по сравнению с генотипами $(TA)_6/(TA)_6$ и $(TA)_6/(TA)_7$ равнялся 18 с 95%-ным доверительным интервалом (ДИ) 4,1–78,5, т. е. вероятность возникновения билирубинемии повышалась в 18 раз по сравнению с гетерозиготным или нормальным генотипами. Таким образом, можно предположить, что нилотиниб способен снижать активность фермента УДФ-ГТ. К чему приведет длительное персистирование гипербилирубинемии при постоянном лечении нилотинибом, неясно. Долгое время среди исследователей и клиницистов не было единого мнения, является ли гипербилирубинемия при лечении нилотинибом истинной гепатотоксичностью препарата. Это требовало бы отмены, снижения дозы нилотиниба или сопутствующей терапии гепатопротекторами/холеретиками.

Цель работы — оценить взаимосвязь между наличием полиморфизма промоторной области гена *UGT1A1* и частотой возникновения гипербилирубинемии у больных ХМЛ, получающих терапию нилотинибом.

Материалы и методы

В основную группу включили 100 больных ХМЛ в ХФ (45 мужчин и 55 женщин), получавших терапию нилотинибом в дозе 800 мг/сут. Медиана возраста к началу терапии нилотинибом составила 49 (23–71) лет. В исследовании ENACT участвовали 33 из 100 больных. Медиана наблюдения за данными больными на фоне терапии нилотинибом составила 36,7 (1,0–94,5) мес.

Оценивали отклонения биохимических показателей на фоне терапии нилотинибом: повышение концентрации билирубина, уровня печеночных ферментов — аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), сроки возникновения билирубинемии, сроки нормализации этих биохимических показателей, наличие в анамнезе гепатитов, а также повышение концентрации билирубина на фоне предшествующей терапии иматинибом (98 из 100 больных). Характеристика билирубинемии также представлена на примере 20 больных, последовательно получавших три ИТК (иматиниб, нилотиниб, дазатиниб). Оценку степеней токсичности проводили по критериям NCI CTC AE, версия 3 [15].

Молекулярный анализ промоторной области гена *UGT1A1* осуществляли методом аллельспецифичной полимеразной цепной реакции (АС-ПЦР) и последующей детекции путем электрофореза с применением набора реагентов SNP-экспресс (НПФ «Литех», Россия) согласно инструкциям производителей.

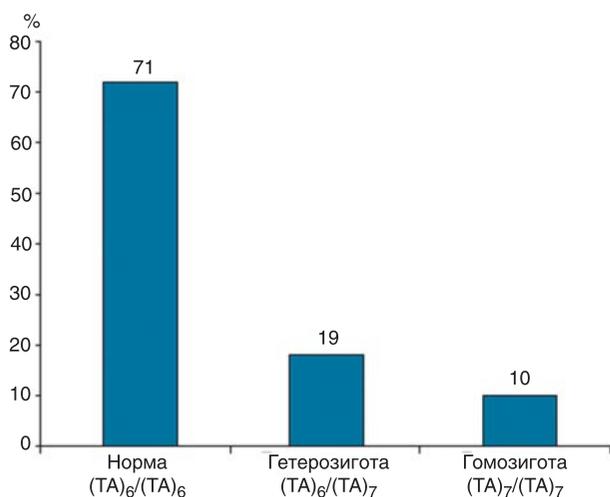


Рисунок 4. Частота встречаемости нормального, гетерозиготного и гомозиготного генотипа в анализируемой группе больных.

(63%) больных, у 2 (11%) больных отмечалась 3-я степень гипербилирубинемии. У всех 10 (100%) больных с гомозиготным носительством 7 динуклеотидных вставок ТА отмечалась гипербилирубинемия, причем преимущественно 3-й степени — у 7 (70%) больных в сравнении с 3 (30%) с 2-й степенью. У 1 больной с 3-й степенью гипербилирубинемии выявлен нормальный генотип (ТА₆/ТА₆), однако в этом случае уровень билирубина повышался за счет постоянного внутриклеточного гемолиза в увеличенной селезенке (с ретикулоцитозом до 67%, раздражением красного ростка в миелограмме, повреждением эритроцитов со слабо деформируемой оболочкой). Еще у одного из больных выявлена гетерозиготная форма (ТА₆/ТА₇) при нормальной концентрации билирубина.

Обращало на себя внимание повышение концентрации билирубина именно с началом лечения ИТК, в то время как до начала терапии концентрация билирубина была в норме или гипербилирубинемия не превышала 1-й степени.

Характеристика длительности гипербилирубинемии на фоне терапии нилотинибом

Повышение уровня билирубина наблюдалось, как правило, в первые 3 недели терапии нилотинибом. У 48

(57,2%) из 84 больных с билирубинемией концентрация билирубина нормализовалась в течение 1–3 мес, у 36 (42,8%) уровень билирубина оставался повышенным в течение года последующего наблюдения, из них постоянная гипербилирубинемия наблюдалась у 23 (27%), персистирующая — у 13 (15%) больных. Из 36 больных с постоянным или периодическим повышением концентрации билирубина только у 2 (5%) больных с генотипом ТА₇/ТА₇ сохраняется 3-я степень гипербилирубинемии, 2-я степень — у 15 (42%), из которых у 8 (53%) также выявлен генотип ТА₇/ТА₇, 1-я степень — у 19 (53%) больных.

Полиморфизм гена UGT1A1 и корреляция с концентрацией билирубина при лечении иматинибом. Перекрестная токсичность с иматинибом

В качестве 2-й линии терапии после иматиниба 82 больных с гипербилирубинемией получали нилотиниб, из них гипербилирубинемия на фоне терапии иматинибом отмечалась у 29 (35,4%) больных: 1-я степень — у 25 (30,5%), 2-я степень — у 4 (4,8%), 3-я степень не наблюдалась. Генотип ТА₇/ТА₇ выявлен у всех 4 больных с 2-й степенью билирубинемии и у 5 больных с 1-й степенью гипербилирубинемии при лечении иматинибом.

У 9 из 10 больных с генотипом ТА₇/ТА₇ отмечалась гипербилирубинемия на фоне терапии иматинибом, при этом она не превышала 1–2-й степени, тогда как на терапии нилотинибом гипербилирубинемия отмечалась у всех 10 больных, из них у 7 (70%) — 3-й степени.

Характеристика гипербилирубинемии при лечении тремя различными ИТК

Мы также проанализировали концентрацию билирубина у 20 больных, последовательно получавших три ИТК. Все они получали иматиниб в качестве 1-й линии терапии, затем ИТК 2-го поколения: нилотиниб во 2-й линии терапии и дазатиниб в 3-й линии терапии (табл. 2).

В этой группе повышение концентрации билирубина на фоне терапии иматинибом было отмечено у 9 (45%) больных: 1-я степень — у 8 (89%), 2-я степень — у 1 (11%), 3-я степень не наблюдалась. При лечении

Таблица 1. Частота гипербилирубинемии 1–3-й степени у больных хроническим миелолейкозом, получающих терапию нилотинибом, в зависимости от генотипа

UGT1A1-генотип	Число больных	Нормальный уровень билирубина	Гипербилирубинемия			
			Всего	1-й степени	2-й степени	3-й степени
ТА ₆ /ТА ₆ (норма)	71	15 (21%)	56 (79%)	37 (52%)	18 (25%)	1 (2%)
ТА ₆ /ТА ₇ гетерозигота	19	1 (5%)	18 (95%)	4 (21%)	12 (63%)	2 (11%)
ТА ₇ /ТА ₇ гомозигота	10	0	10 (100%)	0	3 (30%)	7 (70%)
Всего	100	16	84	41	33	10

Таблица 2. Корреляция гипербилирубинемии и полиморфизма гена *UGT1A1* на фоне терапии

Больные	Степень гипербилирубинемии			UGT1A1-генотип		
	Иматиниб	Нилотиниб	Дазатиниб	TA ₆ /TA ₆	TA ₆ /TA ₇	TA ₇ /TA ₇
Ш.Е.Н.	0	1	1	+		
Л.В.Н.	0	2	1		+	
С.Т.Г.	1	3	1			+
А.С.А.	0	1	0	+		
П.Н.В.	1	2	0	+		
Н.И.Р.	0	0	0	+		
О.И.Ю.	1	2	0	+		
М.Н.М.	0	2	0		+	
М.Ю.Г.	0	1	0		+	
В.А.В.	0	1	0	+		
Р.М.А.	1	2	0			
Г.Г.А.	0	2	0			
М.Т.А.	0	1	0	+		
К.О.В.	2	3	2			+
Д.М.Н.	1	2	0	+		
Д.Л.Н.	0	2	0		+	
М.В.Е.	1	2	0		+	
Н.И.Б.	0	0	0	+		
К.А.П.	1	2	0	+		
Г.А.Б.	1	2	1	+		
Всего	9 (45%)	18 (90%)	5 (25%)	11 (55%)	7 (35%)	2 (10%)

нилотинибом повышение концентрации билирубина зафиксировано у 18 (90%) больных: 1-я степень — у 5 (28%), 2-я степень — у 11 (61%), 3-я степень — у 2 (11%) больных.

На фоне лечения дазатинибом повышение концентрации билирубина наблюдалось у 5 (25%) больных, из них гипербилирубинемия 1-й степени — у 4 (80%), 2-й степени — у 1 (20%), 3-я степень не отмечена. Повышение концентрации билирубина при нормальном генотипе в результате терапии другими ИТК, помимо nilotiniba, зарегистрировано у 6 больных, из них у 4 при лечении иматинибом, у 2 — при лечении дазатинибом (1-й степени); при терапии двумя ИТК (нилотиниб плюс иматиниб или дазатиниб) — у 5 больных, из них у 4 при лечении иматинибом, у 1 — дазатинибом), при этом гипербилирубинемия также отмечалась только 1-й степени. У 5 больных с гетерозиготным генотипом наблюдалось изолированное повышение концентрации билирубина при лечении nilotinибом, кроме 1 больного (1-я степень при терапии дазатинибом и nilotinибом). Можно предположить, что иматиниб и, в меньшей степени, дазатиниб могут также угнетать активность фермента УДФ-ГТ. Такие данные у других исследователей не представ-

лены. У 2 больных с гомозиготным генотипом (TA₇/TA₇) билирубинемия наблюдалась при лечении всеми тремя ИТК.

Сочетание билирубинемии с повышением активности печеночных ферментов (АЛТ, АСТ). Коррекция дозы nilotiniba

При лечении nilotinибом повышение уровня АСТ/АЛТ наблюдалось у 37 (37%) из 100 больных, из них 1-й степени — у 19, 2-й степени — у 16, 3–4-й степени — у 2. У 2 больных из основной группы был диагностирован вирусный гепатит С.

У 8 больных с гомозиготным генотипом TA₇/TA₇ наряду с повышением уровня билирубина отмечалось повышение уровня печеночных ферментов (АЛТ и АСТ): 1-й степени — у 1 больного, 2-й степени — у 5, 3–4-й степени — у 2 больных, однако только в начале терапии. В дальнейшем отмечалась лишь изолированная гипербилирубинемия.

Дозу nilotiniba снижали до 400 мг/сут у 6 из 100 больных, и только у 1 больного лечение пришлось прекратить из-за сочетания гипербилирубинемии 3-й степени с 4-й степенью повышения уровня печеночных ферментов.

Обсуждение

Полученные результаты подтверждают данные международных исследований [1, 2] о высокой частоте гипербилирубинемии при лечении нилотинибом больных ХМЛ в ХФ как в 1-й, так и во 2-й линии терапии, особенно в начале лечения.

Повышение концентрации непрямого билирубина в результате лечения нилотинибом у большого числа больных (79%) с нормальным генотипом свидетельствует о непосредственном ингибирующем действии препарата на активность УДФ-ГТ. Характерно, что при этом наблюдалась преимущественно билирубинемия низкой степени. Анализ случаев гетерозиготного (один аллель с 7 динуклеотидными вставками ТА) и в особенности гомозиготного носительства полиморфизма гена *UGT1A1* (оба аллеля с 7 динуклеотидными вставками ТА) позволяет предположить, что появление дополнительного фактора, снижающего активность фермента УДФ-ГТ, такого как прием препарата с ингибирующим действием, приводит как к увеличению частоты, так и к повышению степени гипербилирубинемии.

Полученные нами данные: нормальный генотип (ТА)₆/(ТА)₆ — 71% случаев, гетерозигота (ТА)₆/(ТА)₇ — 19%, гомозигота (ТА)₇/(ТА)₇ — 10% — несколько отличаются от результатов зарубежных исследований (41,8, 45,5 и 12,7% соответственно). Число гетерозигот в нашем исследовании было меньше, чем в работах зарубежных исследователей [14]. Возможно, это связано с разнородностью сравниваемых групп, в том числе этнической и расовой, а также с тем, что в нашем исследовании было больше больных с 1-й степенью билирубинемии и без нее — 41 (41%) и 16 (16%) соответственно.

При повышении концентрации непрямого билирубина при отсутствии иных причин (гемолиз, сепсис, патология желчного пузыря и др.) во избежание необоснованных перерывов, снижения дозы или отмены препарата с заведомой эффективностью следует исключать наличие полиморфизма гена, кодирующего фермент УДФ-ГТ1, методом АС-ПЦР.

В настоящее время большинством клиницистов признается, что при терапии нилотинибом изолированное повышение показателей билирубина 1–3-й степени не требует отмены или снижения дозы препарата, так как оно не является проявлением истинной гепатотоксичности [4, 17] и в большинстве случаев не оказывает влияние на общее самочувствие больных даже при длительном наблюдении.

Заключение

У больных ХМЛ гипербилирубинемия 2–3-й степени на фоне терапии нилотинибом, а также гипербилирубинемия любой степени в результате терапии иматинибом могут быть признаком гомозиготного носительства динуклеотидной инсерции в области ТА-

повтора в промоторном районе гена *UGT1A1*. Более низкий уровень билирубинемии отмечен у больных с нормальным генотипом или гетерозиготной формой синдрома Жильбера.

В нашем исследовании частота истинного синдрома Жильбера (гомозигота по *UGT1A1*) не отличалась от частоты в общей популяции, составив 10%. Также следует отметить, что частота гипербилирубинемии 3-й степени была статистически значимо выше у больных с генотипом ТА₇/ТА₇, чем при генотипах ТА₆/ТА₇ и ТА₆/ТА₆ ($p < 0,05$).

Таким образом, изолированная гипербилирубинемия у больных после исключения других причин, в частности гемолиза, в большинстве случаев обратима и не требует отмены нилотиниба. При выявлении у больного генотипа (ТА)₇/(ТА)₇ (гомозиготная форма) следует избегать состояний и препаратов, снижающих активность УДФ-ГТ.

Связи полиморфизма гена *UGT1A1* с повышением печеночных ферментов не выявлено.

В ряде случаев при длительном повышении концентрации билирубина 2–3-й степени проведение молекулярной диагностики может быть очень важно для больных, поскольку диагноз ХМЛ подразумевает длительное наблюдение и лечение.

Литература

- Kantarjian HM, Giles F, Gattermann N et al. Nilotinib (formerly AMN 107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is effective in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in chronic phase following imatinib resistance and intolerance. *Blood* 2007; 110:3540–3546.
- Гусарова Г. А., Туркина А. Г., Домрачева Е. В. и др. Опыт ГНЦ РАМН по применению нилотиниба (Тасигна) у больных в хронической фазе хронического миелолейкоза при неудаче терапии иматинибом. *Современная онкология* 2010; 1:38–42.
- Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S et al. Nilotinib versus Imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010; 362:2251–2259.
- Гусарова Г. А., Туркина А. Г., Колошейнова Т. И. и др. Клинические аспекты применения нилотиниба при лечении больных с хроническим миелолейкозом в хронической фазе. *Гематология и трансфузиология* 2013; 57:3–11.
- Bykova AV, Gusarova GA, Chelysheva EYu, Turkina AG. Long-term results and adverse events of second line Nilotinib therapy after Imatinib failure in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase in clinical practice. *Blood* 2013; 122:5181.
- Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med* 1995; 333:11715.
- Monaghan G, Ryan M, Seddon R et al. Genetic variation in bilirubin UDP-glucuronosyltransferase gene promoter and Gilbert's syndrome. *Lancet* 1996; 347:578–581.
- Sugatani J, Yamakawa K, Yoshinari K et al. Identification of a defect in the UGT1A1 gene promoter and its association with hyperbilirubinemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 292:492–497.

9. Рамазанов В. О., Габитова Д. М. Синдром Жильбера. Успехи современного естествознания 2011; 11:99.
10. Beutler E, Gelbart T, Demina A. Racial variability in the UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? PNAS 1998; 95:8170–8174.
11. Premawardhena A, Fisher CA, Liu YT et al. The global distribution of length polymorphisms of the promoters of the glucuronosyltransferase 1 gene (UGT1A1): hematologic and evolutionary implications. Blood Cells Mol Dis 2003; 31:98–101.
12. Куропаткина Ю. В., Карабанов А. В., Шулятьев И. С. и др. Инсерция в промоторной области гена UGT1 и непереносимость лекарственных препаратов. Медицинская генетика 2005; 4:216а–216.
13. Polyakov A, Kurapatkina J, Karabanov A et al. The correlation between insertion in the promoter region of the UGT1 gene and the tolerance of some xenobiotics. Eur J Hum Genet 2005; 13:273.
14. Singer JB, Shou Y, Giles F et al. UGT1A1 promoter polymorphism increases risk of nilotinib-induced hyperbilirubinemia. Leukemia 2007; 21:2311–2315.
15. Cancer therapy evaluation program, common terminology criteria for adverse events, version 3.0, DCTD, NCI, NIH, DHHS March 31, 2003. Доступно в интернете по адресу: https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/ctcae3.pdf (по состоянию на 4 апреля 2017 г.).
16. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. PNAS 1977; 74:5463–5467.
17. Steegmann JL, Cervantes F, le Coutre P et al. Off-target effects of BCR-ABL1 inhibitors and their potential long-term implications in patients with chronic myeloid leukemia. Leuk Lymphoma 2012; 53:2351–2361.

РОЛЬ МУТАЦИЙ ГЕНА *IKZF1* ПРИ В-КЛЕТОЧНОМ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ, ПОЛУЧАЮЩИХ ЛЕЧЕНИЕ ПО ПРОТОКОЛАМ РОССИЙСКОГО МНОГОЦЕНТРОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

The role of *IKZF1* deletions in adult Ph-negative and Ph-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia patients treated in Russian Acute Lymphoblastic Leukemia study

Басхаева Г. А., Паровичникова Е. Н., Бидерман Б. В., Гаврилина О. А., Давыдова Ю. О., Дроков М. Ю., Зарубина К. И., Лукьянова И. А., Троицкая В. В., Соколов А. Н., Пискунова И. С., Степанова Е. А., Смирнова С. Ю., Судариков А. Б., Гальцева И. В., Обухова Т. Н., Савченко В. Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России, Москва, Российская Федерация

Baskhaeva G. A., Parovichnikova E. N., Biderman B. V., Gavrilina O. A., Davidova Yu. O., Drovkov M. Yu., Zarubina K. I., Lukyanova I. A., Troitskaya V. V., Sokolov A. N., Piskunova I. S., Stepanova E. A., Smirnova S. A., Sudarikov A. B., Galtseva I. V., Obukhova T. N., Savchenko V. G.

National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

Цель исследования — изучить роль мутаций гена *IKZF1* при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе (В-ОЛЛ) у взрослых больных, получающих лечение по протоколам российского многоцентрового исследования. В исследование были включены 67 взрослых больных, из них 49 больных Ph-негативным и 18 — Ph-позитивным В-ОЛЛ. В первой группе лечение проводили по протоколам ОЛЛ-2009, ОЛЛ-2016, во второй — по протоколам ОЛЛ-2009 и ОЛЛ-2012 в сочетании с ингибиторами тирозинкиназ (ИТК). Молекулярный анализ внутригенных делеций гена *IKZF1* проводили методом мультиплексной флуоресцентной полимеразной цепной реакции. Внутригенные делеции *IKZF1* были обнаружены у 10 (56%) больных Ph-позитивным В-ОЛЛ, что было статистически значимо чаще, чем при Ph-негативном В-ОЛЛ, где мутации этого гена были диагностированы у 9 (18%) больных ($p = 0,0074$). При анализе демографических и клинико-лабораторных показателей (возраст, пол, начальный лейкоцитоз более $30 \times 10^9/\text{л}$, уровень ЛДГ более 750 ед/л, спленомегалия, нейролейкемия) в представленных группах корреляции с наличием делеции гена *IKZF1* не выявлено. У 44% больных Ph-негативным В-ОЛЛ с делецией *IKZF1*

The aim of the study was to investigate the role of *IKZF1* deletions in adult patients with Ph-negative (Ph-) and Ph-positive (Ph+) B-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL) who participated in the Russian Acute Lymphoblastic Leukemia (RALL) multicenter study. Our study included 67 patients with newly diagnosed B-cell ALL (49 Ph- and 18 Ph+ cases). Patients with Ph- B-cell ALL were treated according to RALL-2009 and RALL-2016 protocols and were followed up for a median of 18.1 months (range 1.5–93.4 months). Patients with Ph+ B-cell ALL were treated according to RALL-2009 and RALL-2012 protocols with addition of tyrosine kinase inhibitors and were followed up for a median of 21.2 months (range 3.53–91.77 months). Intragenic deletions of *IKZF1* were detected using breakpoint-specific fluorescent multiplex polymerase chain reaction. They were more frequently found in patients with Ph+ ALL ($n = 10, 56\%$) than in patients with Ph- ALL ($n = 9, 18\%$; $p = 0.0074$). No statistically significant association between *IKZF1* deletions and age, sex, initial WCC of over $30 \times 10^9/\text{L}$, LDH above 750 U/mL, splenomegaly or neuroleukemia was observed. Notably, an expression of both myeloid antigens (MyAg) CD13 and CD33 was detected in almost half ($n = 4, 44\%$) of the Ph- ALL patients with *IKZF1* deletions

в дебюте заболевания наблюдалась коэкспрессия двух миелоидных антигенов: CD13 и CD33 на бластных клетках, в то время как у больных без делеции оба маркера одновременно были выявлены только у 2,5% больных ($p = 0,0027$). В анализируемых группах больных различий в долгосрочных результатах терапии в зависимости от наличия мутаций *IKZF1* не обнаружено. Однако у больных Ph-негативным В-ОЛЛ с мутациями гена *IKZF1* наблюдалась персистенция минимальной остаточной болезни (МОБ) на 2-й и 4-й месяц лечения, а также ее более высокие значения, чем у больных без мутаций. Таким образом, внутригенные делеции *IKZF1* не влияют на долгосрочные результаты терапии у больных Ph-негативным и Ph-позитивным В-ОЛЛ при применении протоколов российского многоцентрового исследования. Показано, что при наличии мутаций у больных Ph-негативным В-ОЛЛ наблюдается замедленный клиренс опухоли.

Ключевые слова: В-клеточный острый лимфобластный лейкоз; Ph-позитивный В-ОЛЛ; Ph-негативный В-ОЛЛ; взрослые; делеции гена *IKZF1*

Для цитирования: Басхаева Г. А., Паровичникова Е. Н., Бидерман Б. В., Гаврилина О. А., Давыдова Ю. О., Дроков М. Ю., Зарубина К. И., Лукьянова И. А., Троицкая В. В., Соколов В. Н., Пискунова И. С., Степанова Е. А., Смирнова С. Ю., Судариков А. Б., Гальцева И. В., Обухова Т. Н., Савченко В. Г. *Роль мутаций гена IKZF1 при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе у взрослых больных, получающих лечение по протоколам российского многоцентрового исследования.* Гематология и трансфузиология 2018; 63(1):16–30
doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.80..1..002>

Для корреспонденции: Басхаева Галина Александровна, врач-гематолог, аспирант отделения интенсивной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения со стационаром дневного пребывания ФГБУ «НМИЦ гематологии» Министерства здравоохранения России
Электронная почта: rara4v1s@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.02.18

Принята в печать 16.05.18

compared to only 1 patient (2.5%) without *IKZF1* deletions ($p = 0.0027$). The presence of *IKZF1* mutations was associated with persistence of minimal residual disease at 2 and 4 months of treatment, with higher leukemic cell counts; however, there seemed to be no observable differences in the long-term results of therapy regardless of whether or not *IKZF1* mutations were present. Thus *IKZF1* mutations in our study did not seem to be prognostically valuable for either Ph+ B-cell ALL or Ph– B-cell ALL, although they were shown to be associated with a delayed tumor clearance in patients with Ph– B-cell ALL.

Keywords: B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia; Ph-positive B-ALL; Ph-negative B-ALL; adults; *IKZF1* gene deletion

For citation: Baskhaeva G. A., Parovichnikova E. N., Biderman B. V., Gavrilina O. A., Davidova Yu. O., Drovkov M. Yu., Zarubina K. I., Lukyanova I. A., Troitskaya V. V., Sokolov A. N., Piskunova I. S., Stepanova E. A., Smirnova S. A., Sudarikov A. B., Galtseva I. V., Obukhova T. N., Savchenko V. G. *The role of IKZF1 deletions in adult Ph-negative and Ph-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia patients treated in Russian Acute Lymphoblastic Leukemia study.* Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya) 2018; 63(1):16–30 (in Russian)
doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.80..1..002>

For correspondence: Baskhaeva Galina A., hematologist, National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation
E-mail: rara4v1s@gmail.com

Information about authors:

Baskhaeva G. A., <https://orcid.org/0000-0003-2763-5391>;
Parovichnikova E. N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>;
Biderman B. V., <http://orcid.org/0000-0002-6253-3334>;
Gavrilina O. A., <http://orcid.org/0000-0002-9969-8482>;
Davidova Yu. O., <http://orcid.org/0000-0001-5932-0285>;
Drovkov M. Yu., <http://orcid.org/0000-0001-9431-8316>;
Zarubina K. I., <http://orcid.org/0000-0003-2947-6398>;
Lukyanova I. A., <http://orcid.org/0000-0002-8337-2242>;
Troitskaya V. V., <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>;
Sokolov A. N., <http://orcid.org/0000-0003-1494-7978>;
Piskunova I. S., <http://orcid.org/0000-0003-1571-3161>;
Stepanova E. A., <http://orcid.org/0000-0002-8187-5639>;
Smirnova S. A., <http://orcid.org/0000-0001-6220-8868>;
Sudarikov A. B., <http://orcid.org/0000-0001-9463-9187>;
Galtseva I. V., <http://orcid.org/0000-0002-8490-6061>;
Obukhova T. N., <http://orcid.org/0000-0002-3273-6640>;
Savchenko V. G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>.

Financial disclosure. The study had no sponsorship.

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

Received 28 Feb 2018

Accepted 16 May 2018

Введение

В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ОЛЛ) представляет собой злокачественное заболевание системы кроветворения, характеризующееся пролиферацией незрелых лимфоидных клеток в костном мозге, периферической крови и других органах [1]. Использование современных программ полихимиотерапии значительно улучшило результаты лечения ОЛЛ у взрослых: ремиссии становится возможным достичь у 85–90% больных. Несмотря на это 5-летняя общая выживаемость (ОВ) не превышает 40–50% [2–5], а риск развития рецидива достигает 40–50%, в том числе у больных из группы стандартного риска с нормальным кариотипом [5, 6]. В российском многоцентровом исследовании ОЛЛ-2009, главным принципом которого является неинтенсивное, но постоянное химиотерапевтическое воздействие с малым числом трансплантаций аллогенного костного мозга (алло-ТКМ), у большинства больных Ph-негативным В-ОЛЛ была достигнута морфологическая ремиссия. Однако при анализе долгосрочных результатов 5-летняя ОВ больных составила 53,3%, безрецидивная выживаемость (БРВ) — 56%. При мультивариантном анализе были выделены следующие факторы риска: возраст старше 30 лет, лейкоцитоз $30 \times 10^9/\text{л}$ и более, уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) более 750 ед/л, обнаружение транслокации $t(4;11)$. Наблюдаемые с высокой частотой рецидивы свидетельствуют о том, что выделенных факторов риска недостаточно для адекватного прогнозирования течения заболевания. Необходим поиск дополнительных маркеров онкогенных механизмов, которые приводят к селекции опухолевого клона, резистентного к применяемой терапии.

Современные достижения в области молекулярной генетики открывают новые возможности диагностики, прогнозирования и лечения В-ОЛЛ. Методом детекции однонуклеотидных полиморфизмов было выявлено более 50 мутаций генов, играющих роль в лейкемогенезе, среди них опухолевые супрессоры и гены регуляции клеточного цикла (*CDKN2A/B*, *P TEN*, *RBI*), транскрипционные факторы и гены регуляции транскрипции (*ETV6*, *ERG*, *TBL1XR1*), гены, регулирующие лимфоидную дифференцировку и сигнальные пути (*BTLA/CD200*, *TOX*), а также гены, ответственные за развитие химиорезистентности (например, ген глюкокортикоидного рецептора *NR3C1*). Самыми частыми при В-ОЛЛ были мутации генов транскрипционных факторов *PAX5*, *IKZF1* (*IKAROS*), *EBF1*, принимающих участие в лимфоидной дифференцировке клеток [7]. Наибольший интерес представляют мутации гена *IKZF1* (Ikaros Family Zinc Finger 1), они встречаются в 75% случаев BCR-ABL1-позитивных В-ОЛЛ [8, 9], более чем в 60% случаев бластного криза хронического миелолейкоза (ХМЛ) [10], в 35% случаев В-ОЛЛ, ассоциированного с синдромом Дауна [11], в 15% случа-

ев детских и 30–50% случаев взрослых Ph-негативных В-ОЛЛ [12–17].

Ген *IKZF1* расположен на 7-й хромосоме в области 7p12.2, состоит из 8 экзонов и образует белковый продукт из 519 аминокислот — транскрипционный фактор Ikaros [18]. В нормальных условиях Ikaros является ключевым регулятором лимфоидных клеток на самых ранних этапах лимфопоэза, способствует их дифференцировке и созреванию, участвует в организации структуры хроматина [19, 20]. Функция белка Ikaros реализуется благодаря его способности связываться с регуляторными областями ДНК генов-мишеней с помощью доменов, называемых «цинковыми пальцами». Экзоны 4–6 кодируют четыре «цинковых пальца» на N-конце белковой молекулы, они осуществляют функцию связывания ДНК; экзон 8 кодирует два C-терминальных «цинковых пальца», необходимых для димеризации различных изоформ Ikaros и белок-белковых взаимодействий. В ходе экспрессии гена посредством альтернативного сплайсинга, а также в результате внутригенных и хромосомных делеций образуется по меньшей мере 9 различных по длине и функциональности транскриптов (IK1–IK9). Для нормального функционирования белка необходимо наличие 3 и более «цинковых пальцев» на N-конце молекулы. Длинные изоформы (Ikaros 1–4) обладают высокой аффинностью к ДНК, короткие изоформы (Ikaros 5–9) приводят к потере функции белка и оказывают доминантно-негативный эффект, подавляя активность длинных изоформ и других белков при димеризации. Утрата C-терминальных «цинковых пальцев» Ikaros приводит к неспособности гена к димеризации, и, соответственно, к невозможности взаимодействия с другими изоформами и белками. Различные изоформы Ikaros, образуемые в результате альтернативного сплайсинга, формируют димеры и мультимеры, регулирующие в свою очередь экспрессию генов-мишеней и ремоделирование хроматина. Каждая изоформа обладает уникальными функциями [21, 22]. Нарушение функции Ikaros, возникающее в результате внутригенных делеций и точечных мутаций, приводит к блоку дифференцировки лимфоидных клеток, лежащему в основе патогенеза ОЛЛ [18]. Предполагается, что причина развития внутригенных делеций заключается в aberrантной экспрессии генов *RAG*. Точки разрывов, расположенные в интронах 2, 4, 7 гена *IKZF1*, фланкированы RSS-подобными последовательностями (рекомбинационные сигнальные последовательности), с которыми связываются aberrантные *RAG*-белки, запуская ошибочную RSS-рекомбинацию во время перестройки тяжелых цепей иммуноглобулинов про-В-клеток [23].

В первых работах по изучению экспрессии различных изоформ белка Ikaros при гематологических заболеваниях было обнаружено повышение экспрессии доминантно-негативной изоформы Ik6 при бластном

кризе ХМЛ, Т-ОЛЛ и В-ОЛЛ [18]. В 2007 г. Kuiper [12] и Mullighan [23] показали, что именно внутригенные делеции приводят к увеличению экспрессии доминантно-негативных изоформ *Ikaros* и это играет ключевую роль в лейкогенезе. В 2009 г. на группе детей с В-ОЛЛ было показано, что обнаружение мутаций гена *IKZF1* у больных В-ОЛЛ в мультивариантном анализе является независимым фактором риска, ассоциированным с высокой частотой развития рецидивов [23]. Тогда же при исследовании профиля генной экспрессии с помощью технологии микрочипов у больных Ph-негативным В-ОЛЛ с мутациями *IKZF1* была выявлена специфическая генная экспрессия, сходная с характеристиками молекулярного профиля экспрессии у больных Ph-позитивным В-ОЛЛ [23]. Так был открыт новый подтип ОЛЛ — Ph-подобный ОЛЛ [23], при котором отсутствует t(9;22), но выявляются аберрантные гены, кодирующие тирозинкиназы и рецепторы цитокинов, что ведет к активации киназных путей. К ним относятся реаранжировки гена *CRLF2* (51% случаев), химерные гены ABL класса (9,8%), *JAK2* и *EPOR* (12,4%), другие мутации *JAK-STAT* пути (7,2%), а также мутации *RAS*-пути (3,6%) [24, 25].

Эти открытия демонстрируют значительную гетерогенность ОЛЛ на молекулярном уровне, объясняют различную чувствительность опухоли к применяемой терапии и создают целый спектр мишеней для таргетной терапии [24]. Мутации в гене *IKZF1* при Ph-подобном ОЛЛ встречались чаще других — в 68% случаев, а бессобытийная выживаемость больных этой группы приближалась всего лишь к 18,5% [25]. Многочисленные исследования подтверждают связь делеций *IKZF1* с увеличением риска рецидива и неблагоприятным исходом как среди детей [26–31], так и среди взрослых, больных Ph-негативным В-ОЛЛ [32–35].

Наряду с этим есть данные о том, что не все мутации *IKZF1* имеют клиническую значимость. В одном из исследований Kobitzsch et al. [36] провели сравнение результатов терапии больных с доминантно-негативными изоформами ($\Delta 4-7$, $\Delta 5-7$) и с изоформами, ведущими к утрате функции гена ($\Delta 2$, $\Delta 2-3$, $\Delta 2-7$, $\Delta 2-8$, $\Delta 4-8$). Для обоих вариантов была определена мутационная нагрузка по количеству опухолевых клеток, несущих делецию *IKZF1*. Оказалось, что достоверно низкие показатели выживаемости наблюдались только для больных с высокой мутационной нагрузкой по изоформам, ведущим к утрате функции гена ($0,28 \pm 0,06$; $p = 0,0002$). При этом доминантно-негативные изоформы независимо от уровня мутационной нагрузки значения не имели ($0,54 \pm 0,06$; $p = 0,95$) [36]. Похожие данные были получены у Moogman et al. [17] и у Beldjord et al. [37]. Все это свидетельствует о неоднозначности представлений о прогностическом значении мутаций *IKZF1* у взрослых больных. Изучение биологической и клинической роли мута-

ций *IKZF1* при В-ОЛЛ при проведении различных программ терапии является актуальной проблемой.

Целью нашего исследования стало изучение роли мутаций гена *IKZF1* у взрослых больных В-клеточными ОЛЛ на протоколах российского многоцентрового исследования.

Материалы и методы

В исследование были включены 67 взрослых больных с впервые установленным диагнозом В-клеточного ОЛЛ. У 49 из 67 больных был Ph-негативный В-ОЛЛ (30 женщин и 19 мужчин); возраст больных составлял от 17 до 56 лет (медиана 29 лет); 33 больных получали лечение по протоколу ОЛЛ-2009 с августа 2009 г. по август 2016 г., и 16 больных, включенных в исследование с ноября 2016 г. по август 2017 г., получали лечение по протоколу ОЛЛ-2016. Медиана наблюдения составила 18,1 мес (1,5–93,4 мес). Во вторую группу были включены 18 больных Ph-позитивным В-ОЛЛ (9 женщин и 9 мужчин) в возрасте от 17 до 68 лет (медиана 31,5 года), которым проводили лечение по протоколам ОЛЛ-2009 (5 больных) и ОЛЛ-2012 (13 больных) в сочетании с ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) с февраля 2010 г. по август 2017 г. Медиана наблюдения составила 21,2 мес (3,53–91,77 мес).

Исследование ОЛЛ-2009 зарегистрировано на сайте ClinicalTrials.gov под номером NCT01193933, дизайн его был представлен ранее [38, 39]. Новый исследовательский протокол ОЛЛ-2016 стартовал с ноября 2016 г., в нем были сохранены основные принципы протокола ОЛЛ-2009. Схема протокола ОЛЛ-2016 представлена в приложении 1. Отличия от прежней программы включают:

- уменьшение суммарной дозы L-аспарагиназы за счет укорочения длительности ее применения до 1 года;
- отказ от высокодозной консолидации с метотрексатом и цитарабином;
- увеличение числа люмбальных пункций с 16 до 21;
- централизованный мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) на 70, 133, 190-й дни и перед трансплантацией аллогенного костного мозга (алло-ТКМ) методом многоцветной проточной цитометрии.

Протокол ОЛЛ-2012 основан на протоколе ОЛЛ-2009, отличие его заключается в деэскалации химиотерапии и включении в программу ИТК. Схема протокола ОЛЛ-2012 представлена в приложении 2.

Центры, в которых больным проводили лечение, представлены в приложении 3.

Диагноз В-ОЛЛ был подтвержден на основании клинических и лабораторных исследований: общего анализа крови, цитологического, цитохимического исследований костного мозга и данных иммунофенотипирования согласно критериям классификации Европейской группы по иммунологической характеристике лейкозов (European Group for the Immunological Characterization of Leukemias, EGIL) [40, 41].

Всем больным выполнялось стандартное цитогенетическое исследование. Клетки костного мозга культивировали в течение 24 ч. G-дифференциальное окрашивание хромосом проводили с использованием красителя Wright («Merck», Германия). По возможности анализировали 20 метафаз. Флюоресцентную гибридизацию *in situ* на интерфазных ядрах (FISH) с локус-специфичными ДНК-зондами выполняли согласно протоколам фирм-производителей: LSI MLL DC BA Rearrangement Probe («Abbott Laboratories», США), BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion («Cytocell», Великобритания), LSI CDKN2A/CEP 9 («Abbott Molecular», США). Анализ проводили под

флюоресцентным микроскопом Axio Imager A2 («Carl Zeiss», Германия). В каждом случае анализировали 200 интерфазных ядер с четкими сигналами. Кариотип и результаты FISH описывали в соответствии с Международной системой номенклатуры хромосом человека (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature — ISCN 2013).

Клинико-лабораторная характеристика больных представлена в табл. 1.

Иммунофенотип бластных клеток был определен у всех больных Ph-положительным В-ОЛЛ — ранний пре-В вариант (BI) был установлен у 2 (11%) больных, общий В (BII) — у 13 (72%), пре-В (BIII) — у 2 (11%), бифе-

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика 67 больных, включенных в исследование

Показатель	В-ОЛЛ			
	BCR-ABL- (n = 49)		BCR-ABL+ (n = 18)	
	n	%	n	%
ИФТ-вариант острого лейкоза:				
Ранний пре-В (BI)	11	22	2	11
Общий В (BII)	29	59	13	72
Пре-В (BIII)	8	16	2	11
В/миело	0	0	1	5,5
Кариотип:				
Нормальный	17	35	–	–
Цитогенетические aberrации				
Структурные				
Транслокация с вовлечением региона 11q23	7	14	–	–
t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1	2	4	–	–
Делеция CDKN2A/9p21	5	10	–	–
iAMP21	1	2	–	–
Численные				
Гиперплоидия более 46 хромосом	10	20	2	11
Гипоплоидия менее 46 хромосом	0	0	1	5,5
Псевдодиплоидный кариотип	3	6	1	5,5
Моносомия 7	0	0	1	5,5
Комплексные нарушения кариотипа	3	6	0	0
Другие	3	6	0	0
Возраст, лет (медиана (диапазон))	29 (17–56)		31,5 (17–68)	
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л (медиана (диапазон))	7,8 (0,4–556)		43,1 (2,8–261)	
Уровень ЛДГ, ед/л (медиана (диапазон))	850,5 (266–20062)		1279,5(415–5451)	
Бластные клетки, % (медиана (диапазон)):				
в костном мозге	80,4 (21–100)		88 (42–96)	
в периферической крови	34 (0–95)		69 (0–90)	
Спленомегалия	42	85	11	61
Гепатомегалия	34	69	11	61
Нейролейкемия	3	6	1	5,5

нотипический вариант (В/миело) — у 1 (5,5%) больного. Из цитогенетических aberrаций у 1 (5,5%) больного была обнаружена транслокация с вовлечением региона 11q23 в сочетании с гипоплоидией, гиперплоидия — у 2 (11%) больных, комплексные нарушения кариотипа — у 2 (11%) больных, у 1 (5,5%) больного выявлена моносомия 7. Медиана количества лейкоцитов составила 43,1 (диапазон 2,8—261) $\times 10^9/\text{л}$, медиана уровня ЛДГ — 1279,5 (диапазон 415—5451) ед/л, медиана количества бластных клеток в костном мозге и периферической крови 88% (диапазон 42—96%) и 69% (диапазон 0—90%) соответственно. У 11 (61%) больных диагностирована спленомегалия, у 11 (61%) — гепатомегалия. Нейролейкоз выявлен у 1 (5,5%) больного.

В группе Rh-негативного В-ОЛЛ иммунофенотипический вариант бластных клеток установлен у 48 (98%) больных, у 1 больного фенотип неизвестен. У 11 (22%) больных диагностирован ранний пре-В вариант (В1), общий В (ВII) — у 29 (59%), пре-В (ВIII) — у 8 (16%) больных. При цитогенетическом исследовании у 18 (37%) больных был определен нормальный кариотип. Среди структурных перестроек кариотипа у 7 (14%) больных обнаружена транслокация с вовлечением региона 11q23, t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1 — у 2 (4%), делеция CDKN2A/9p21 — у 5 (10%), iAMP21 — у 1 (2%) больного; среди численных перестроек у 10 (20%) больных была диагностирована гиперплоидия, у 3 (6%) — псевдодиплоидный кариотип, у 3 — комплексные нарушения кариотипа, у 3 диагностированы другие аномалии кариотипа. Медиана количества лейкоцитов составила 7,8 (диапазон 0,4—556) $\times 10^9/\text{л}$, медиана уровня ЛДГ 850,5 (диапазон 266—20 062) ед/л, медиана количества бластных клеток в костном мозге — 80,4% (диапазон 21—100%), в периферической крови — 34% (диапазон 0—95%). Спленомегалия диагностирована у 42 (86%) больных, гепатомегалия — у 34 (69%), нейролейкоз выявлен у 3 (6%) пациентов.

Исследование клиренса МОБ методом многоцветной проточной цитометрии было выполнено 21 больному Rh-негативным В-ОЛЛ. Проводили окрашивание материала моноклональными антителами к CD19, CD10, CD34, CD38, CD45, CD20 («BD Biosciences») и CD58 («Beckman Coulter»). Анализ данных проводили на 6-цветном проточном цитометре BD FACS Canto II («BD Biosciences», США). Поиск МОБ осуществляли согласно стратегии «метода пустых мест» [42, 43]. Минимальной популяцией считали популяцию, состоящую из 20 клеток. Минимальная чувствительность составляла 0,01% [42—44]. В протоколах ОЛЛ-2009 и ОЛЛ-2016 терапия до 190-го дня не различалась, а значит, клиренс МОБ на 70-й и 133-й дни не зависел от применяемого протокола.

Исследование МОБ химерного транскрипта *BCL2-ABL1* у больных Rh-позитивным В-ОЛЛ проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с чувствительностью 10^{-4} на

70-й день терапии (окончание индукционной фазы лечения). МОБ-негативный статус устанавливали при количестве химерного транскрипта менее 0,01%. В качестве материала для исследования МОБ описанными методами использовали пунктат костного мозга объемом 0,5—1 мл с антикоагулянтом ЭДТА.

Молекулярное исследование мутаций *IKZF1* выполняли в научно-клинической лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии». Анализ проводили согласно методике мультиплексной флуоресцентной ПЦР, специфичной к горячим точкам внутригенных делеций — $\Delta 2a-7$, $\Delta 2a-8$, $\Delta 2b-7$, $\Delta 2b-8$, $\Delta 4-7$, $\Delta 4-G1$ [14]. ДНК была выделена из лейкоцитарных клеток замороженных образцов костного мозга согласно ранее описанной методике [45]. ПЦР проводили на автоматическом термоциклере C1000 Thermal Cycler («BioRad», США). Реакционная смесь в конечном объеме 25 мкл содержала 50—200 нг ДНК, по 5 пмоль каждого праймера («Синтол», Россия). Программа амплификации включала предварительную денатурацию при температуре 95 °С (4 мин), 30 циклов ПЦР: 95 °С (30 с), 60 °С (30 с), 72 °С (1 мин) и окончательную элонгацию — 72 °С (4 мин). Для фрагментного анализа полученных ПЦР-продуктов использовали автоматический анализатор нуклеиновых кислот Нанофор-05 (ФГБУН ИАП РАН, Россия) и программное обеспечение ДНК ФА v. 5.0.0.73 (ФГБУН ИАП РАН, Россия). Определение первичной нуклеотидной последовательности осуществляли прямым секвенированием по методу Сэнгера с помощью набора Big Dye X-terminator v. 1.1 («ThermoFisher Scientific», США) согласно инструкции производителя. Полученные данные были сопоставлены с референсной последовательностью гена *IKZF1* (*NG_034231.1*). Молекулярные исследования проводили вслепую относительно клинических данных.

На основании стратификации больных по группам риска для протокола ОЛЛ-2009 к группе стандартного риска были отнесены 18 (37%) больных, к группе высокого риска — 31 (63%) больной при наличии одного и более из перечисленных критериев: возраст старше 30 лет, лейкоцитоз $30 \times 10^9/\text{л}$ и более, обнаружение транслокации t(4;11) [46].

Статистический анализ проводили с помощью программного пакета GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc). Количественные данные приведены в виде среднего \pm стандартной ошибки среднего. Перед проверкой различий средних значений выборок проводили тест Шапиро—Уилка на нормальность распределения (отличным от нормального считали распределение при уровне значимости $p < 0,05$). Проверку достоверности различий средних выборок с нормальным распределением осуществляли с помощью критерия Стьюдента. Для проверки достоверности различий выборок, не подчиняющихся нормальному распределению, использовали критерий Манна—Уитни. Статистическую значимость различий двух связанных вы-

борок определяли с помощью критерия Вилкоксона. Для проверки независимости качественных признаков использовали χ^2 -критерий Пирсона (независимыми признаки считали при $p < 0,05$). Анализ ОВ, БРВ, вероятности развития рецидива (БРР) проводили с помощью программного пакета АВМ SPSS методом Каплана—Мейера, статистическую значимость различий между кривыми выживаемости в группах определяли с помощью теста log-rank. Все различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

У 9 (50%) из 18 больных Rh-положительным ОЛЛ были обнаружены внутригенные делеции *IKZF1*, у 1 (5,5%) больного была диагностирована моносомия 7, что расценено как гаплонедостаточность исследуемого гена. В общей сложности выявлено 56% случаев с пере-

стройками гена *IKZF1*, что было статистически значимо чаще, чем при Rh-негативном В-ОЛЛ, где мутации этого гена были выявлены у 9 (18%) больных ($p = 0,0074$).

Распределение вариантов делеций было следующим: наиболее частой была $\Delta 4-7$ — она выявлена в 44% случаев, далее шли $\Delta 2-7$ (в 33% случаев), $\Delta 4-8$ и $\Delta 2-8$ (по 11% случаев). Корреляции между демографическими и клинико-лабораторными показателями (возраст, пол, начальный лейкоцитоз более $30 \times 10^9/л$, уровень ЛДГ более 750 ед/л, спленомегалия, нейтролейкоз) и наличием мутаций установлено не было (табл. 2).

Эффективность лечения у больных Rh-положительным В-ОЛЛ оценивали по молекулярному ответу на 70-й день химиотерапии в сочетании с ИТК 1-й линии (табл. 3).

BCR-ABL негативный статус был достигнут у 11 (61%) больных, у 7 (38%) проведена смена терапии

Таблица 2. Исходные демографические и клинико-лабораторные показатели у пациентов с наличием или отсутствием делеции *IKZF1*

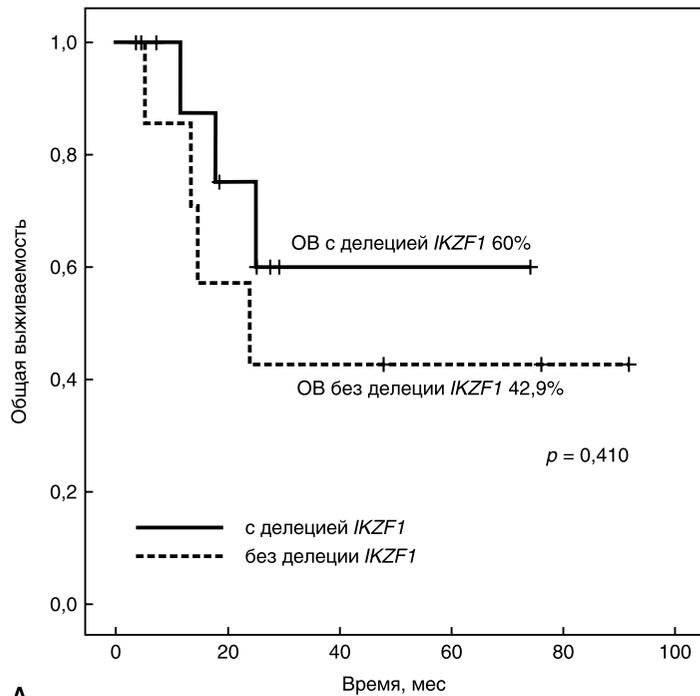
Показатель	Rh-негативный В-ОЛЛ			Rh-положительный В-ОЛЛ		
	Делеция <i>IKZF1</i>	Отсутствие делеции <i>IKZF1</i>	<i>p</i>	Делеция <i>IKZF1</i>	Отсутствие делеции <i>IKZF1</i>	<i>p</i>
Число больных	9	40	–	10	8	–
Возраст (лет), медиана (диапазон)	29 (18–29)	29 (17–56)	0,873	28,5 (17–56)	33 (24–68)	0,393
Пол:						
Мужчины	4 (44%)	15 (37%)	0,719	5 (50%)	4 (50%)	1
Женщины	5 (56%)	25 (63%)		5 (50%)	4 (50%)	
Начальный лейкоцитоз $> 30 \times 10^9/л$	2(22%)	17(43%)	1	4(40%)	6 (75%)	0,188
Спленомегалия	5 (55%)	37 (92%)	0,22	6 (60%)	5 (63%)	1
Нейтролейкоз	1 (11%)	3 (8%)	0,568	1 (10%)	0	1
Уровень ЛДГ более 750 ед/л	2 (22%)	25 (63%)	0,059	6 (60%)	6 (75%)	0,638
Коэкспрессия миелоидных маркеров CD13, CD33	4 (44%)	1 (2,5%)	0,002	2 (20%)	1 (12,5%)	1
Исходная группа риска по ОЛЛ-2009:						
Стандартная ($n = 18$)	36	15	1	–	–	–
Высокая ($n = 31$)		25				
Нормальный кариотип	5	12	0,244			
Всего	9 (45%)	18 (90%)	5 (25%)	11 (55%)	7 (35%)	2 (10%)

Таблица 3. Эффективность лечения у пациентов с наличием или отсутствием делеции *IKZF1*

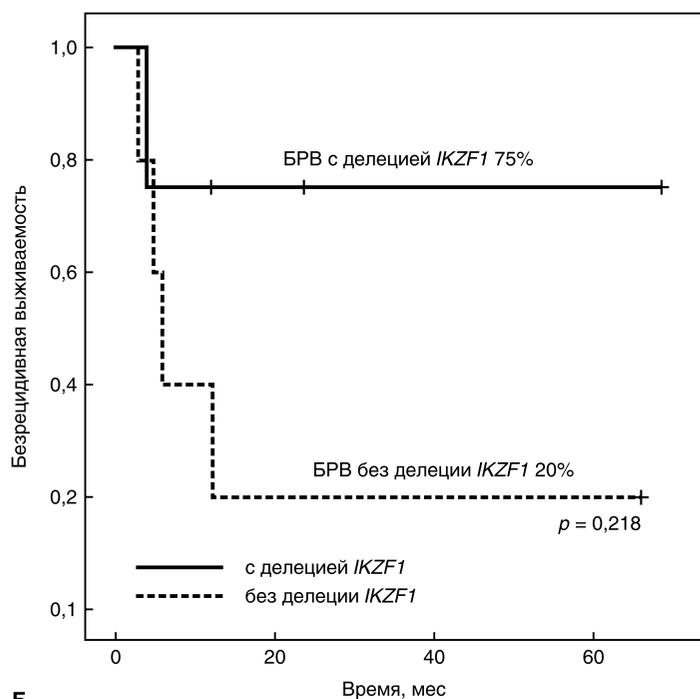
Показатель	Rh-негативный В-ОЛЛ			Rh-положительный В-ОЛЛ		
	Делеция <i>IKZF1</i> ($n = 9$)	Отсутствие делеции <i>IKZF1</i> ($n = 40$)	<i>p</i>	Делеция <i>IKZF1</i> ($n = 10$)	Отсутствие делеции <i>IKZF1</i> ($n = 8$)	<i>p</i>
Рефрактерность	1 (11%)	2 (5%)	0,463	0 (0%)	0 (0%)	–
Ремиссия*	8 (89%)	38 (95%)	0,463	7 (70%)	4 (50%)	0,635
Смертность в индукции	0 (0%)	2 (5%)	–	0 (0%)	0 (0%)	–
Число рецидивов	1 (11%)	8 (20%)	1	4 (40%)	3 (38%)	1

* Морфологическая ремиссия для Rh-негативного В-ОЛЛ, молекулярная — для Rh-положительного В-ОЛЛ.

ИТК. Наличие делеции *IKZF1* не имело значения при оценке молекулярной ремиссии на 70-й день — 70% больных с делецией *IKZF1* и 50% без делеции достигли молекулярной ремиссии ($p = 0,635$). Смертей в индукции зарегистрировано не было. Алло-ТКМ была выполнена 10 больным, из них 4 больным во второй ремиссии заболевания; ауто-ТКМ была выполнена 1 больному. Медиана времени до ТКМ составила 10,1 (5,8—17,9) мес.



А



Б

Рисунок 1. Выживаемость больных Ph-положительным ОЛЛ с делецией *IKZF1* и без нее. **А.** Общая выживаемость (ОВ). **Б.** Безрецидивная выживаемость (БРВ).

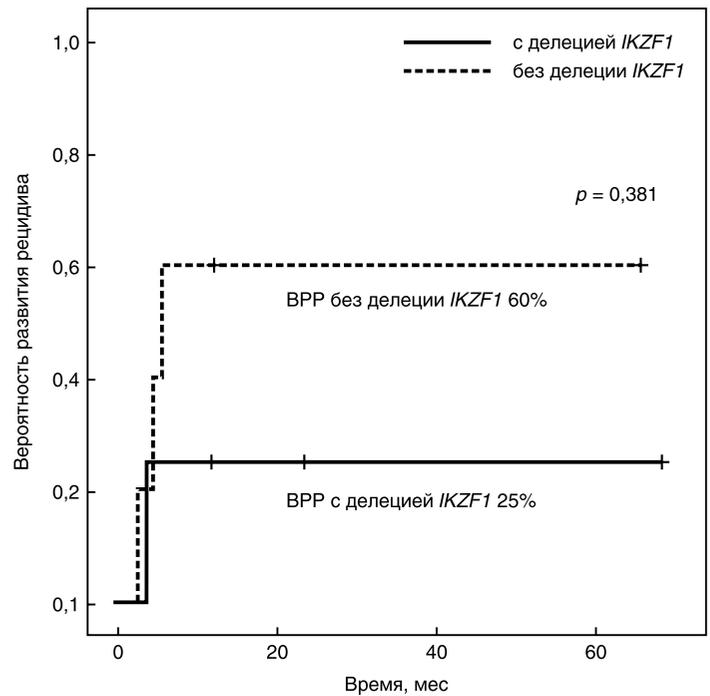


Рисунок 2. Вероятность развития рецидива у больных Ph-положительным ОЛЛ с делецией *IKZF1* и без нее.

Различий в долгосрочных результатах терапии (5-летние показатели ОВ, БРВ, ВПП) также не обнаружено: среди больных В-ОЛЛ с делецией *IKZF1* ($n = 10$) ОВ составила 60%, без нее — 42,9% ($n = 8$), $p = 0,410$; показатели БРВ составляли 75% ($n = 4$) и 20% ($n = 5$) соответственно, $p = 0,218$ (рис. 1, А и Б), а показатели ВПП 25% ($n = 4$) и 60% ($n = 5$) (рис. 2).

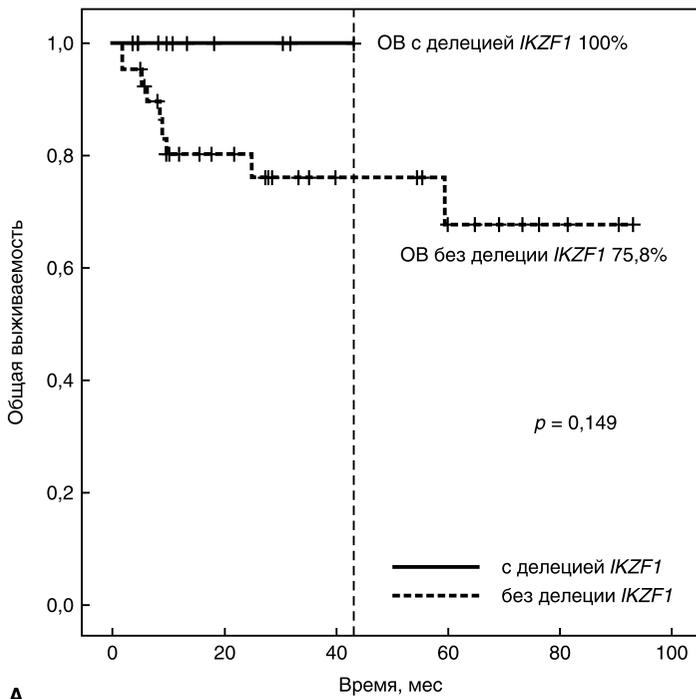
Внутригенные делеции *IKZF1* были обнаружены у 9 (18%) из 49 больных Ph-негативным В-ОЛЛ. Наиболее частой была делеция $\Delta 4-7$, она выявлена у 5 (56%) больных, у 2 (22%) больных найдена делеция $\Delta 2-7$, у 1 (11%) больного — делеция $\Delta 2-8$, и у 1 (11%) больного были обнаружены все варианты делеций — $\Delta 4-7$, $\Delta 4-8$, $\Delta 2-7$, $\Delta 2-8$.

Мы не выявили корреляции между наличием делеций *IKZF1* и исходными демографическими и клинико-лабораторными показателями, такими как возраст, пол, начальный лейкоцитоз более $30 \times 10^9/\text{л}$, уровень ЛДГ более 750 ед/л, спленомегалия, нейролейкоз. Взаимосвязи между наличием мутаций гена *IKZF1* и группой риска также не наблюдалось.

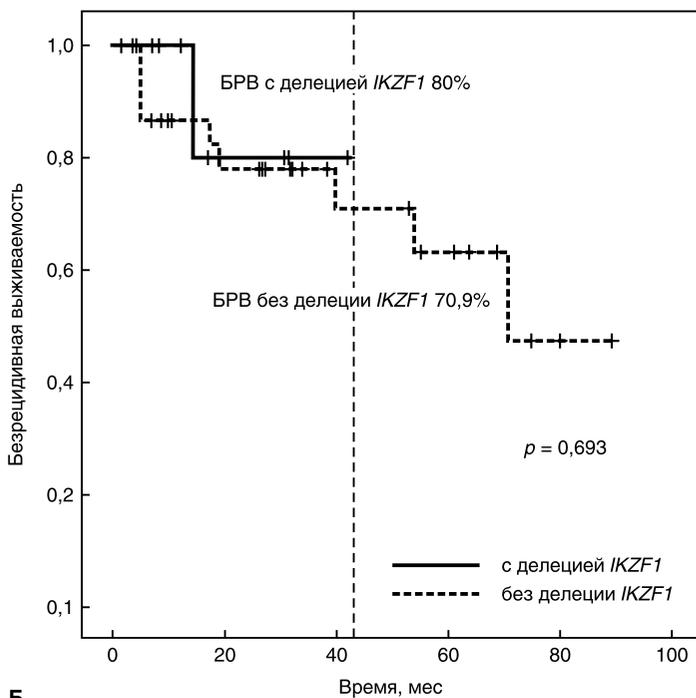
Эффективность лечения была проанализирована у всех 49 больных. Полная ремиссия была достигнута у 8 (89%) больных ОЛЛ с делециями *IKZF1* и у 38 (95%) больных без делеций. На этапе индукционной терапии вследствие инфекционных осложнений умерли 2 (4%) больных, ни у кого из них мутаций обнаружено не было. Доля тех больных, у кого ремиссия была достигнута после предфазы, составила 12,5% (в случае делеции *IKZF1*) и 8% (в случае отсутствия делеции *IKZF1*), после I фазы индукции — 75 и 82%, после II фазы ин-

дукции — 12,5 и 5% соответственно. Рефрактерность к проводимой терапии была диагностирована у 1 (11%) больного с делецией и у 2 (5%) больных без нее.

У 44% больных с делецией *IKZF1* в дебюте заболевания наблюдалась коэкспрессия двух миелоидных маркеров CD13 и CD33 на бластных клетках по данным иммунофенотипического исследования, в то время как у больных без делеции оба маркера одновременно были выявлены только в 2,5% случаев ($p = 0,0027$).



А



Б

Рисунок 3. Выживаемость больных Rh-негативным ОЛЛ с делецией *IKZF1* и без нее. **А.** Общая выживаемость (ОВ). **Б.** Безрецидивная выживаемость (БРВ).

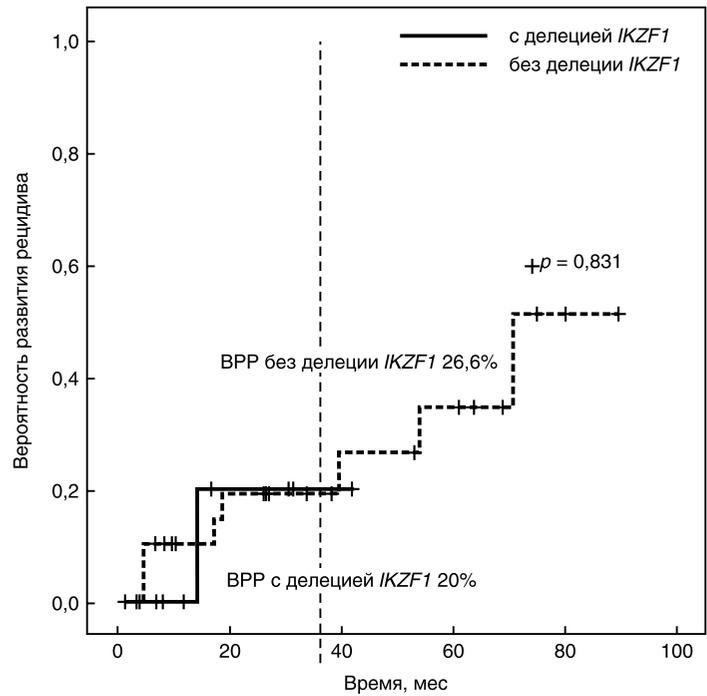


Рисунок 4. Вероятность развития рецидива у больных Rh-негативным ОЛЛ с делецией *IKZF1* и без нее.

У 3 из 4 больных с делецией *IKZF1* и коэкспрессией миелоидных маркеров наблюдались неудачи в лечении. У первого пациента была констатирована рефрактерность к проводимой терапии, в связи с чем он был переведен на терапию блинатумомабом в сочетании с дазатинибом и весаноидом, после чего была достигнута ремиссия. В настоящее время больному планируется алло-ТКМ. У 2 больных, несмотря на достижение морфологической ремиссии, наблюдалось значимое увеличение МОБ, что послужило причиной снятия с терапии после 1-й консолидации. Одному из них также проводили терапию блинатумомабом в сочетании с дазатинибом и весаноидом, в результате которой был достигнут МОБ-негативный статус и выполнена ауто-ТКМ в связи с отсутствием донора. Второму пациенту запланирована алло-ТКМ.

Долгосрочные результаты терапии (3-летние показатели ОВ, БРВ, ВРР) у больных Rh-негативным В-ОЛЛ не выявили статистически значимых различий в зависимости от наличия или отсутствия мутаций *IKZF1*. ОВ у больных с делецией *IKZF1* ($n = 9$) составила 100%, а без делеции ($n = 40$) — 75,8%, $p = 0,149$; БРВ — 80% ($n = 8$) и 70,9% ($n = 34$) соответственно, $p = 0,693$ (рис. 3, А и Б), а ВРР — 20 и 26,6% соответственно (рис. 4), $p = 0,831$ (рис. 1, А и Б).

Исследование МОБ у 21 больного Rh-негативным В-ОЛЛ, среди которых у 6 (29%) больных были мутации гена *IKZF1*, а у 15 (71%) мутаций не было, показало, что у пациентов с делециями клиренс опухолевых клеток происходит медленнее. МОБ на 70-й день была выявлена у 5 (33%) из 15 больных без делеций *IKZF1*,

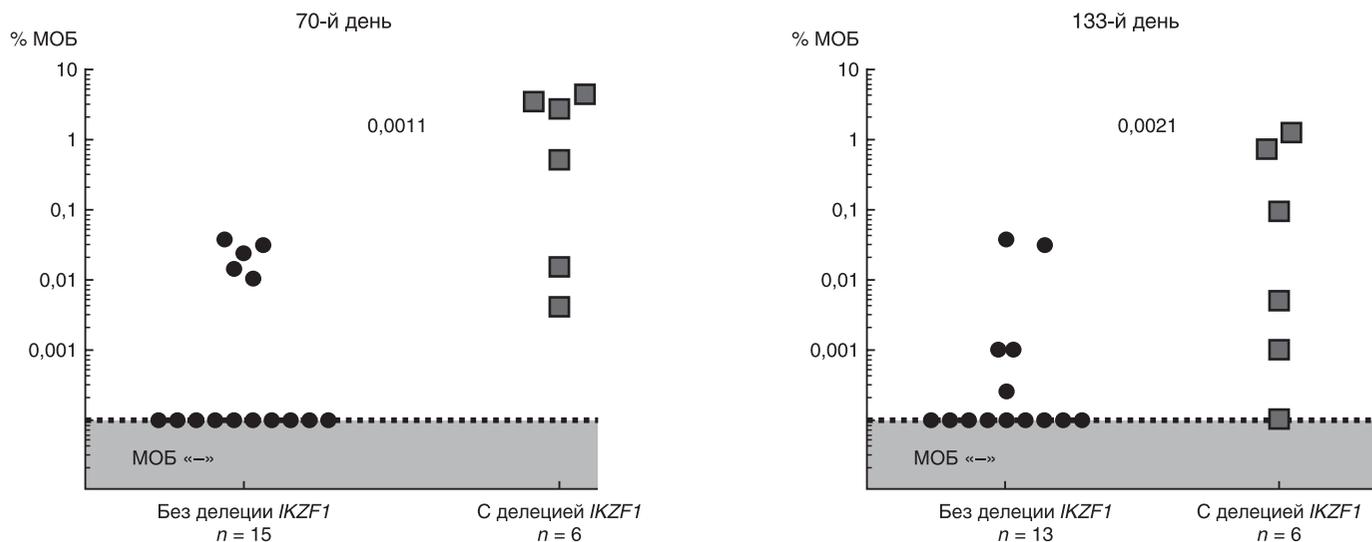


Рисунок 5. Уровень МОБ на 70-й и 133-й дни терапии у больных Ph-негативным В-ОЛЛ в зависимости от наличия делеции *IKZF1*.

среднее значение МОБ составило $0,008 \pm 0,003\%$, в то время как у 6 больных с делециями *IKZF1* МОБ обнаружена в 100% случаев со средним показателем МОБ $1,847 \pm 0,788\%$ ($p = 0,0011$). На 133-й день, как и на 70-й день у больных без мутаций *IKZF1*, МОБ выявлялась реже и ее показатели были ниже, чем у пациентов с делециями *IKZF1* ($0,0002 \pm 0,0001$ и $0,376 \pm 0,233\%$ соответственно; $p = 0,0021$) (рис. 5). У больных с делециями *IKZF1* отмечается снижение значений МОБ к 133-му дню по сравнению с 70-м днем ($p = 0,016$), однако только у 1 больного достигнут МОБ-негативный статус. Среди 5 больных без делеций *IKZF1*, у которых определялась МОБ, к 133-му дню у 1 больного МОБ не выявлена, у 3 больных наблюдается уменьшение МОБ по отношению к 70-му дню; $p = 0,063$ (рис. 6).

Обсуждение

Высокая частота рецидивов среди больных Ph-негативным В-ОЛЛ с нормальным кариотипом из группы стандартного риска обуславливает необходимость в выделении среди них подгруппы «других В-ОЛЛ» с неблагоприятным прогнозом. Прогностические шкалы, основанные на клинических, цитогенетических, иммунофенотипических характеристиках, не всегда позволяют с уверенностью отнести больного к той или иной группе риска. Благодаря появлению полногеномных методов исследования стало возможным открытие нового подтипа — Ph-подобного В-ОЛЛ, который впоследствии в 2017 г. был включен в классификацию ВОЗ. Многообразие патогенетических путей при Ph-подобном ОЛЛ обуславливает гетерогенность лейкоза на молекулярном уровне и способствует развитию новых терапевтических возможностей для улучшения долгосрочных результатов лечения. Внутригенные делеции *IKZF1* при Ph-подобном ОЛЛ встречаются с высокой частотой, связь с неблагоприятным прогно-

зом делает актуальным исследование роли делеций на различных протоколах химиотерапии.

В нашем исследовании частота делеций *IKZF1* среди больных Ph-позитивным В-ОЛЛ составила 56%, что сопоставимо с данными исследования Martinelli et al. [47], где делеции обнаружены у 83 (63%) больных с таким же диагнозом. У больных Ph-негативным В-ОЛЛ мы выявили мутации в 18% случаев. В работе Moorman et al. [37] в когорте из 454 больных Ph-негативным В-ОЛЛ делеции *IKZF1* выявлены в 11% случаев, Beldjord et al. [17] наблюдали их у 216 (25%) больных. При анализе типов делеций при Ph-позитивном и Ph-негативном В-ОЛЛ чаще всего встречались $\Delta 4-7$, в 44 и 55% случаев соответственно; делеции $\Delta 2-7$, $\Delta 2-8$, $\Delta 4-8$ представлены в данных группах примерно в равном соотношении (11–22%). Полученные результаты соответствуют данным, пред-

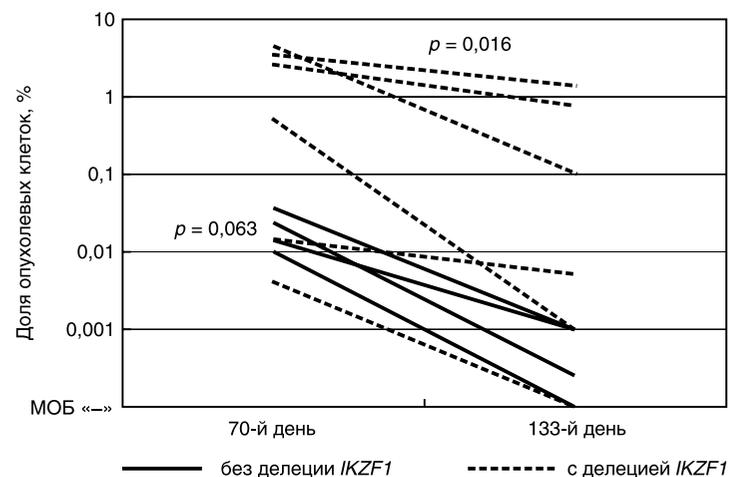


Рисунок 6. Клиренс МОБ у больных Ph-негативным В-ОЛЛ в зависимости от наличия делеции *IKZF1*.

ставленным в работах других исследователей [23, 36]. Мы не выявили корреляции с демографическими и клинико-лабораторными показателями (возраст, пол, начальный лейкоцитоз более $30 \times 10^9/\text{л}$, уровень ЛДГ более 750 ед/л, спленомегалия, нейролейкоз).

Среди больных Rh-негативным В-ОЛЛ с делецией *IKZF1* ни в одном случае не было обнаружено перестройки региона 11q23 (локуса гена *MLL*), делеций CDKN2A, комплексного кариотипа, t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1, интрахромосомной амплификации iAMP21. У 17 (35%) больных Rh-негативным В-ОЛЛ имелся нормальный кариотип, из них у 5 (29%) больных найдены делеции *IKZF1*, что превышает показатель, полученный в исследовании Othman et al. [48], составивший 14%.

Интересным наблюдением стала достоверно более частая коэкспрессия двух миелоидных маркеров CD13 и CD33 у больных с делецией *IKZF1* ($p = 0,0027$). Экспрессия одного или нескольких миелоидных антигенов у взрослых больных В-ОЛЛ встречается, по данным разных исследований, примерно в 30–50% случаев [49]. Данные о взаимосвязи aberrантной экспрессии CD13, CD33 с прогнозом заболевания противоречивы [50, 51]. Однако доказана их связь с t(9;22), моносомией 7 и антигеном стволовых клеток CD34, что дает основание предполагать происхождение CD13, CD33 позитивных ОЛЛ из мультипотентной стволовой клетки [52]. Kobitzsch et al. [36] высказали гипотезу о взаимосвязи лейкозной клетки со стволово-клеточным фенотипом и мутациями *IKZF1*. В своей работе, посвященной значению высокой мутационной нагрузки изоформ, ведущих к утрате функции гена, исследователи предполагают, что спорадическое возникновение делеций *IKZF1* возможно на всех этапах созревания В-лимфоцита в результате RAG-опосредованной VDJ-рекомбинации [53, 54]. Появление мутации на самой ранней стадии созревания приводит к образованию лейкозной клетки со стволово-клеточным фенотипом [54]. Вследствие этого формируется опухолевый клон с высокой мутационной нагрузкой, определяющий неблагоприятное клиническое течение заболевания. В целом патогенез aberrантной экспрессии миелоидных антигенов при В-ОЛЛ и формирования опухолевых клеток с высокой мутационной нагрузкой *IKZF1* остается малоизученным и требует дальнейших исследований.

По нашим результатам достоверное значение делеции *IKZF1* у больных Rh-позитивным и Rh-негативным В-ОЛЛ при выполнении протоколов Российской исследовательской группы не доказано. Небольшая когорта больных с делециями *IKZF1* и короткий срок наблюдения затрудняют оценку их клинической значимости. Также необходимо отметить, что хорошие результаты терапии у больных Rh-негативным В-ОЛЛ в представленном нами исследовании могут быть связаны с относительно молодым возрастом больных (медиана 29 лет) и небольшим сроком наблюдения.

Создается впечатление, что в ряде случаев делеции *IKZF1* связаны с течением заболевания у больных Rh-негативным В-ОЛЛ. В данной группе у больных с мутациями гена *IKZF1* ($n = 6$) наблюдалась персистенция МОБ на 2-м и 4-м месяце лечения, а также ее более высокие количественные значения по сравнению с больными без мутаций. Данные о связи делеций *IKZF1* с персистенцией МОБ описаны в российском педиатрическом исследовании, а также представлены в работах зарубежных авторов [15, 55, 56]. Во французском и немецком исследованиях [15, 56] наличие МОБ и обнаружение делеций *IKZF1* стали определяющими факторами для выделения группы высокого риска. В нашем исследовании сочетание факторов МОБ и делеций *IKZF1* на долгосрочных результатах не отразилось, вероятно, в силу малого срока наблюдения.

Таким образом, несмотря на то, что не было доказано достоверное значение делеций *IKZF1* при лечении по протоколам Российской исследовательской группы у больных Rh-позитивным и Rh-негативным В-ОЛЛ, показано, что при наличии мутаций у больных Rh-негативным В-ОЛЛ наблюдается замедленный клиренс опухоли. Полученные результаты демонстрируют в данной группе больных длительную персистенцию МОБ (в 83% случаев), а также высокую частоту коэкспрессии миелоидных маркеров CD13, CD33 (в 44% случаев).

Возможно, внедрение дополнительных диагностических методов, таких как оценка мутационной нагрузки, исследование МОБ внутригенных делеций *IKZF1* методом RT-PCR, позволит рассматривать их в качестве независимых прогностических факторов. Вместе с тем иной подход к терапии, применяемый на основании протоколов российского многоцентрового исследования, главный принцип которых заключается в неинтенсивном, но постоянном химиотерапевтическом воздействии с малым числом алло-ТКМ, а также повышение эффективности лечения в результате применения таргетных препаратов (блинатумомаб, ИТК) у больных с прогрессией МОБ может нивелировать значение *IKZF1*. Для подтверждения этих выводов необходимо дальнейшее исследование мутаций *IKZF1*, расширение диапазона молекулярной диагностики для своевременного выявления Rh-подобных ОЛЛ с ориентацией на последующую индивидуализацию программ терапии с помощью таргетного воздействия и оптимального планирования алло-ТКМ.

Литература

1. Moorman AV. New and emerging prognostic and predictive genetic biomarkers in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2016; 101:407–416.
2. Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* 2013; 381:1–27.
3. Bassan R, Spinelli O, Oldani E et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual

- disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2015; 113:4153–4163.
4. Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29:532–543.
 5. Paul S, Kantarjian H, Jabbour EJ. Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Mayo Clin Proc* 2016; 91:1645–1666.
 6. Issa GC, Kantarjian HM, Yin CC et al. Prognostic impact of pretreatment cytogenetics in adult Philadelphia chromosome–negative acute lymphoblastic leukemia in the era of minimal residual disease. *Cancer* 2017; 123:459–467.
 7. Mullighan CG, Goorha S, Radtke I et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2007; 446:758–764.
 8. Iacobucci I, Iraci N, Messina M et al. IKAROS deletions dictate a unique gene expression signature in patients with adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One* 2012; 7:1–10.
 9. Mullighan CG, Miller CB, Radtke I et al. BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature* 2008; 453:110–114.
 10. Nakayama H, Ishimaru F, Avitahl N et al. Decreases in Ikaros activity correlate with blast crisis in patients with chronic myelogenous leukemia. *Cancer Res* 1999; 59:3931–3934.
 11. Buitenkamp TD, Pieters R, Gallimore NE et al. Outcome in children with Down's syndrome and acute lymphoblastic leukemia: Role of IKZF1 deletions and CRLF2 aberrations. *Leukemia* 2012; 26:2204–2211.
 12. Kuiper RP, Waanders E, Van Der Velden VHJ et al. IKZF1 deletions predict relapse in uniformly treated pediatric precursor B-ALL. *Leukemia* 2010; 24:1258–1264.
 13. Waanders E, Van Der Velden VHJ, Van Der Schoot CE et al. Integrated use of minimal residual disease classification and IKZF1 alteration status accurately predicts 79% of relapses in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2011; 25:254–258.
 14. Caye A, Beldjord K, Mass-Malo K et al. Breakpoint-specific multiplex polymerase chain reaction allows the detection of IKZF1 intragenic deletions and minimal residual disease monitoring in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2013; 98:597–601.
 15. Dorge P, Meissner B, Zimmermann M et al. IKZF1 deletion is an independent predictor of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Haematologica* 2013; 98:428–432.
 16. Kushner BH, LaQuaglia MP, Wollner N et al. Desmoplastic small round-cell tumor: Prolonged progression-free survival with aggressive multimodality therapy. *J Clin Oncol* 1996; 14:1526–1531.
 17. Beldjord K, Chevret S, Asnafi V et al. Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictors in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014; 123:3739–3750.
 18. Olsson L, Johansson B. Ikaros and leukaemia. *Br J Haematol* 2015; 169:479–491.
 19. Cortes M, Wong E, Koipally J et al. Control of lymphocyte by the Ikaros gene family. *Curr Opin Immunol* 1999; 11:167–171.
 20. Georgopoulos K. Haematopoietic cell-fate decisions, chromatin regulation and Ikaros. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:162–174.
 21. Molnar A, Georgopoulos K. The Ikaros gene encodes a family of functionally diverse zinc finger DNA-binding proteins. *Mol Cell Biol* 1994; 14:8292–8303.
 22. Dovat S, Editor S. Regulation of Ikaros function by casein kinase 2 and protein phosphatase 1. *World J Biol Chem* 2011; 2:126–131.
 23. Mullighan C, Su X, Zhang J et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2009; 360:470–480.
 24. Roberts KG, Gu Z, Payne-Turner D et al. High frequency and poor outcome of Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia in adults. *J Clin Oncol* 2017; 35:394–401.
 25. Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371:1005–1015.
 26. Clappier E, Grardel N, Bakkus M et al. IKZF1 deletion is an independent prognostic marker in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia, and distinguishes patients benefiting from pulses during maintenance therapy: Results of the EORTC Children's Leukemia Group study 58951. *Leukemia* 2015; 29:2154–2161.
 27. Olsson L, Ivanov Ofverholm I, Noren-Nystrom U et al. The clinical impact of IKZF1 deletions in paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia is independent of minimal residual disease stratification in Nordic Society for Paediatric Haematology and Oncology treatment protocols used between 1992 and 2013. *Br J Haematol* 2015; 170:847–858.
 28. Van der Veer A, Zaliouva M, Mottadelli F et al. IKZF1 status as a prognostic feature in BCR-ABL1 – positive childhood ALL. *Blood* 2014; 123:1691–1699.
 29. Van der Veer A, Waanders E, Pieters R et al. Independent prognostic value of BCR-ABL1-like signature and IKZF1 deletion, but not high CRLF2 expression, in children with B-cell precursor ALL. *Blood* 2013; 122:2622–2629.
 30. Olsson L, Castor A, Behrendtz M et al. Deletions of IKZF1 and SPRED1 are associated with poor prognosis in a population-based series of pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia diagnosed between 1992 and 2011. *Leukemia* 2014; 28:302–310.
 31. Asai D, Imamura T, Suenobu S et al. IKZF1 deletion is associated with a poor outcome in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in Japan. *Cancer Med* 2013; 2:412–419.
 32. Yao Q, Liu K, Gale RP et al. Prognostic impact of IKZF1 deletion in adults with common B-cell acute lymphoblastic leukemia. *BMC Cancer* 2016; 16:269.
 33. Fang Q, Zhao X, Li Q et al. IKZF1 alterations and expression of CRLF2 predict prognosis in adult Chinese patients with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2017; 58:127–137.
 34. Ribera J, Morgades M, Zamora L et al. Prognostic significance of copy number alterations in adolescent and adult patients with precursor B acute lymphoblastic leukemia enrolled in PETHEMA protocols. *Cancer* 2015; 121:3809–3817.
 35. Kim M, Park J, Kim DW et al. Impact of IKZF1 deletions on long-term outcomes of allo-SCT following imatinib-based chemotherapy in adult Philadelphia chromosome-positive ALL. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50:354–362.
 36. Kobitzsch B, Gokbuget N, Schwartz S et al. Loss-of-function but not dominant-negative intragenic IKZF1 deletions are associated with an adverse prognosis in adult BCR-ABL-negative acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2017; 102:1739–1747.
 37. Moorman AV, Schwab C, Ensor HM et al. IGH@ translocations, CRLF2 deregulation, and microdeletions in adolescents and adults with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2017; 30:3100–3108.
 38. Паровичникова Е. Н., Клясова Г. А., Исаев В. Г. и др. Первые итоги терапии Ph-негативных острых лимфобластных лейкозов взрослых по

протоколу Научно-исследовательской группы гематологических центров России ОЛЛ-2009. Тер архив 2011; 83:7–11.

39. Паровичникова Е. Н., Троицкая В. В., Соколов А. Н. и др. Промежуточные результаты по лечению острых Ph-негативных лимфобластных лейкозов у взрослых больных (итоги Российской исследовательской группы по лечению острых лимфобластных лейкозов — RALL). Онкогематология 2014; 3:6–15.

40. Bene MC, Nebe T, Bettelheim P et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: A consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia* 2011; 25:567–574.

41. Bene MC, Castoldi G, Knapp W et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9:1783–1786.

42. Borowitz MJ, Pullen DJ, Shuster JJ et al. Minimal residual disease detection in childhood precursor-B-cell acute lymphoblastic leukemia: Relation to other risk factors. A Children's Oncology Group study. *Leukemia* 2003; 17:1566–1572.

43. Попов А. М., Вержбицкая Т. Ю., Фечина Л. Г. и др. Острые лейкозы: различия иммунофенотипа бластных клеток и их неопухолевых аналогов в костном мозге. Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика 2016; 9:302–313.

44. Попов А. М., Белевцев М. В., Боякова Е. В. и др. Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорусской кооперативной группы. Онкогематология 2016; 11:64–73.

45. Сидорова Ю. В., Сорокина Т. В., Бидерман Б. В. и др. Определение минимальной остаточной болезни у больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом методом пациент-специфической ПЦР. Клиническая лабораторная диагностика 2011; 12:22–24.

46. Паровичникова Е. Н., Троицкая В. В., Соколов А. Н. и др. Острые В-лимфобластные лейкозы взрослых: выводы из Российского проспек-

тивного многоцентрового исследования ОЛЛ-2009. Тер архив 2017; 89:10–17.

47. Martinelli G, Iacobucci I, Storlazzi CT et al. IKZF1 (Ikars) deletions in BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia are associated with short disease-free survival and high rate of cumulative incidence of relapse: A GIMEMA AL WP report. *J Clin Oncol* 2009; 27:5202–5207.

48. Othman MAK, Melo JB, Carreira IM et al. High rates of submicroscopic aberrations in karyotypically normal acute lymphoblastic leukemia. *Mol Cytogenetic* 2015; 8:1–12.

49. Kavianpour M, Ketabchi N, Saki N. Prognostic significance of aberrant expression of CD markers in acute lymphoblastic leukemia. *Magazine Eur Med Oncol* 2017; 10:164–169.

50. Bhushan B, Chauhan PS, Saluja S et al. Aberrant phenotypes in childhood and adult acute leukemia and its association with adverse prognostic factors and clinical outcome. *Clin Exp Med* 2010; 10:33–40.

51. Suggs JL, Cruse JM, Lewis RE. Aberrant myeloid marker expression in precursor B-cell and T-cell leukemias. *Exp Mol Pathol* 2007; 83:471–473.

52. Suggs JL, Cruse JM, Lewis RE. Aberrant myeloid marker expression in precursor B-cell and T-cell leukemias. *Exp Mol Pathol* 2007; 83:471–473.

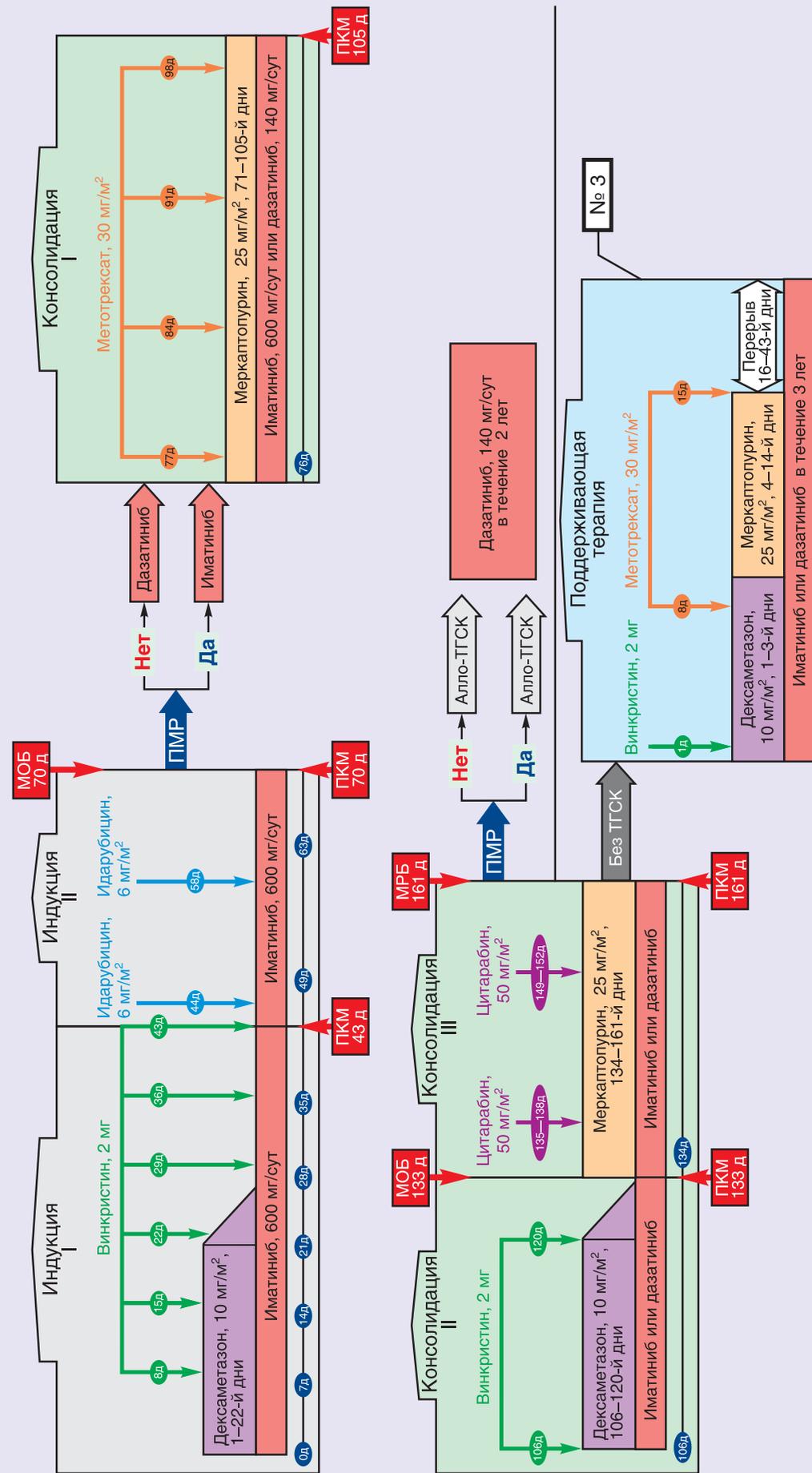
53. Iacobucci I, Storlazzi CT, Cilloni D et al. Identification and molecular characterization of recurrent genomic deletions on 7p12 in the IKZF1 gene in a large cohort of BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia patients. *Hematology* 2009; 114:2159–2167.

54. Yu W, Nagaoka H, Jankovic M et al. Continued RAG expression in late stages of B cell development and no apparent re-induction after immunization. *Nature* 1999; 400:682–687.

55. Цаур Г. А., Друй А. Е., Солодовников А. Г. и др. Делеции гена IKZF1 — независимый прогностический фактор у детей с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников. Онкогематология 2016; 11:32–48.

56. Dhedin N, Huynh A, Maury S et al. Role of allo-SCT in adult Ph(-) ALL. *Blood* 2015; 125:2486–2497.

Ph+ОЛЛ-2012m



Приложение 2. Схема протокола ОЛЛ-2012. Ата-С — цитарабин; Д — день; МолПР — молекулярная полная ремиссия; ТГСК — трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; 6-МП — 6-меркаптопурин.

1. ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России (n = 59).
2. ГБУЗКО «Калужская областная клиническая больница» (n = 1).
3. ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА» (n = 2).
4. ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н. А. Семашко» (n = 3).
5. ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер № 1» (n = 1).
6. ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения России (n = 1).
7. ГБУЗ Республики Мордовия «Республиканская клиническая больница № 4» (n = 1).

Приложение 3. Центры проведения исследования (n — число больных, включенных в исследование).

РЕЗУЛЬТАТЫ ТЕРАПИИ ИМАТИНИБОМ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ В НАЦИОНАЛЬНОМ ИНСТИТУТЕ ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ ВЬЕТНАМА

Result of the treatment of chronic myeloid leukemia with imatinib from the Vietnam National Institute of Hematology and Blood Transfusion

Нгуен Ха Тхань, Нгуен Ань Чи, Нгуен Тхи Тхао, Ле Суан Хай,
Ву Тхи Бить Хуонг, Дуонг Куок Тинь, Бать Куок Кхань

Национальный институт гематологии и трансфузиологии,
Ханой, Вьетнам

Nguyen Ha Thanh*, Nguyen Anh Tri*, Nguyen Thi Thao, Le Xuan Hai,
Vu Thi Bich Huong, Duong Quoc Chinh, Bach Quoc Khanh

National Institute of Hematology and Blood Transfusion, Hanoi,
Vietnam

Введение. Хронический миелолейкоз (ХМЛ) является распространенной патологией во Вьетнаме, занимая третье место в структуре злокачественных заболеваний крови. С 2009 г. во Вьетнаме в качестве стартовой терапии больных ХМЛ применяется иматиниб, эффективность которого была оценена в данном исследовании.

Материалы и методы. Проведен анализ результатов терапии иматинибом (400 мг/сут) у больных ХМЛ ($n = 121$), находившихся на лечении в Национальном институте гематологии и трансфузиологии Вьетнама в 2010–2014 гг.

Результаты. На фоне терапии иматинибом кумулятивная частота полного цитогенетического ответа составила 67,8%, полного молекулярного ответа — 66,1%. Установлена корреляция между продолжительностью периода времени от установки диагноза ХМЛ до начала лечения иматинибом, с одной стороны, и частотой достижения полного цитогенетического ответа (отношение рисков 0,158; $p = 0,001$) и полного молекулярного ответа (отношение рисков 0,263; $p = 0,018$), с другой стороны. Выявлено, что у больных ХМЛ применение иматиниба уменьшает влияние на течение заболевания установленных ранее прогностических факторов. Ежегодный риск прогрессии ХМЛ уменьшался со временем. Трехлетние показатели выживаемости без прогрессии заболевания и общей выживаемости составили 94,2 и 98% соответственно. Гематологические побочные эффекты легкой степени выраженности отмечены в течение первого года наблюдения:

Introduction. Chronic myeloid leukemia (CML) ranks third among hematological malignancies in Vietnam. Imatinib has become the standard therapy for CML patients in Vietnam since 2009.

Materials and methods. A phase IV clinical study for 1st line imatinib treatment of CML patients, carried out in 121 CML patients treated in NIHBT and receiving imatinib 400 mg/daily from 2010 to 2014.

Results. Cumulative CCyR and CMR were achieved in 82 (67.8%) and 80 (66.1%) of patients, respectively. There was a correlation between the time interval (from CML diagnosis to initiating imatinib treatment) and both complete cytogenetic (OR 0.158; $p = 0.001$) and molecular (OR 0.263; $p = 0.018$) responses. The analysis demonstrated that imatinib treatment minimized the prognostic impact of previously established prognostic factors in CML. The 3-year PFS and OS rates were 114 (94.6%) and 118 (97.5%), respectively. Hematologic adverse effects were mild with 1st and 2nd grades anemia, granulocytopenia and thrombocytopenia found in 17 (14%), 27 (22.3%) and 29 (23.9%) patients, respectively. The most commonly non-hematologic adverse effects occurred in 1st year of follow-up including periorbital edema, nausea, musculoskeletal pain, and rash.

* The first two authors have contributed equally to this work

у 17 (14%) больных в виде анемии 1—2-й степени, у 27 (22,3%) — гранулоцитопении, у 29 (23,9%) — тромбоцитопении. Из негематологических побочных эффектов наиболее часто регистрировали периорбитальный отек, тошноту, сыпь, боли в мышцах и суставах.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз; иматиниб; цитогенетический ответ; молекулярный ответ; выживаемость

Для цитирования: Нгуен Ха Тхань, Нгуен Ань Чи, Нгуен Тхи Тхао, Ле Суан Хай, Ву Тхи Бить Хуонг, Дуонг Куок Тинь, Бать Куок Кхань. **Результаты терапии иматинибом у больных хроническим миелолейкозом в Национальном институте гематологии и трансфузиологии Вьетнама.** Гематология и трансфузиология 2018; 63(1):31–43 doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.26..1..003>

Для корреспонденции: Нгуен Ха Тхань, доцент, отделение химиотерапии Национального института гематологии и трансфузиологии, Ханой, Вьетнам

Электронная почта: ha_thanh_nguyen_vhhtm@yahoo.com

Финансирование. Исследование выполнено при частичной поддержке Департамента науки, технологии и повышения квалификации Министерства здравоохранения Вьетнама.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.01.2018

Принята в печать 16.05.2018

Keywords: chronic myeloid leukemia; imatinib; cytogenetic response; molecular response; survival

For citation: Nguyen Ha Thanh, Nguyen Anh Tri, Nguyen Thi Thao, Le Xuan Hai, Vu Thi Bich Huong, Duong Quoc Chinh, Bach Quoc Khanh.

Results of the treatment of chronic myeloid leukemia with imatinib from the Vietnam National Institute of Hematology and Blood Transfusion. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfusiologya) 2018; 63(1):31–43 (in Russian) doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.26..1..003>

For correspondence: Nguyen Ha Thanh, associate professor, Department of Chemotherapy, National Institute of Hematology and Blood Transfusion, Hanoi, Vietnam

E-mail: ha_thanh_nguyen_vhhtm@yahoo.com

Information about authors:

Nguyen Ha Thanh, <http://orcid.org/0000-0002-4884-0522>;

Nguyen Anh Tri, ID 044057000041;

Nguyen Thi Thao, ID 013132321;

Le Xuan Hai, ID 001071006372;

Vu Thi Bich Huong, ID 001179017747;

Duong Quoc Chinh, ID 012179370;

Bach Quoc Khanh, ID 011020509.

Acknowledgements. This study was funded in part by the Department of Science, Technology and Training (the Ministry of Health of Vietnam).

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

Received 25 Jan 2018

Accepted 16 May 2018

Введение

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) — наиболее распространенное злокачественное миелопролиферативное заболевание, ассоциированное с цитогенетической аномалией t(9;22), возникающей в результате объединения гена *ABL* 9-й хромосомы с геном *BCR* 22-й хромосомы [1]. Объединение генов *BCR-ABL* приводит к активации тирозинкиназы, инициирующей неконтролируемую пролиферацию миелоидных клеток [1]. Во Вьетнаме ХМЛ занимает третье место в структуре гематологических злокачественных заболеваний [2]. Иматиниб — ингибитор тирозинкиназы, аномального фермента, продуцируемого гибридным геном *BCR-ABL*, — продемонстрировал эффективность при применении в 1-й линии терапии ХМЛ, что повлияло на тактику ведения этих больных [1]. С 2009 г. иматиниб применяется во Вьетнаме как препарат стартовой терапии у больных ХМЛ в рамках Международной программы помощи пациентам, нуждающимся в препарате Гливек (Glivec®), — GIPAP (Glivec International Patient Assistance Program).

Цель настоящего исследования — анализ терапии иматинибом больных ХМЛ в хронической фазе, наблюдавшихся в Национальном институте гематологии и трансфузиологии Вьетнама (Ханой).

Introduction

Chronic myeloid leukemia (CML), the most common myeloproliferative neoplasm, has a typical t(9;22) cytogenetic abnormality, in which the *ABL* gene on chromosome 9 is fused with the *BCR* gene on chromosome 22 [1]. *BCR-ABL* fusion gene results in activation of tyrosine kinase, which leads to uncontrolled proliferation of myeloid cells [1]. In Vietnam, CML ranks third among hematological malignancies [2]. Treatment for CML has changed significantly when imatinib, the first tyrosine kinase inhibitor (TKI) developed to block the activity of the *BCR-ABL* protein, was approved and became effective 1st line therapy in CML [1]. Imatinib has become the standard therapy for CML patients in Vietnam since 2009, when Glivec® was made available for Vietnamese CML patients from the Vietnam Patient Assistance Program (VPAP) and the Glivec® International Patient Assistance Program (GIPAP). The present study was carried out in chronic phase CML (CP-CML) patients registered to the National Institute of Hematology and Blood Transfusion (NIHBT), the largest institute of hematology in Hanoi, Vietnam.

Материал и методы

Настоящее исследование проводилось в рамках IV фазы клинического изучения препарата иматиниб в Национальном институте гематологии и трансфузиологии Вьетнама (Ханой) как препарата 1-й линии терапии больных ХМЛ в хронической фазе. До лечения иматинибом больным проводилось лечение гидроксимочевинной. Все больные получали иматиниб в стартовой дозе 400 мг 1 раз в сутки. Проанализированы результаты терапии у больных ХМЛ (n = 121), находившихся на лечении с 2010 по 2014 г.

Исследовали демографические и клинико-лабораторные данные, включавшие в себя пол, возраст, выраженность спленомегалии, оценку по шкале риска Sokal [3], оценку статуса больного по шкале ECOG, продолжительность периода времени между установлением диагноза ХМЛ и началом лечения иматинибом. Кроме того, изучали показатели гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), мочевой кислоты в крови. Исследовали наличие филадельфийской хромосомы, BCR-ABL^{p210}, глубину цитогенетического и молекулярного ответов, годичную, двухлетнюю и трехлетнюю выживаемость, включая общую выживаемость (ОВ) и выживаемость без прогрессирования (ВБП).

Поскольку исследование было начато в 2010 г., то использовали понятие полного молекулярного ответа вместо таких принятых в настоящее время терминов, как «молекулярно неопределимая лейкемия» или «глубокий молекулярный ответ».

При оценке индекса по шкале риска Sokal учитывали такие параметры, как возраст больного при поступлении, размер селезенки ниже края левой реберной дуги, процентное содержание бластных клеток в периферической крови и показатели тромбоцитов. При индексе по шкале Sokal менее 0,8 больного относили к группе низкого риска, в пределах 0,8–1,2 — к группе умеренного риска, более 1,2 — к группе высокого риска. Индекс по шкале Sokal [3] вычисляли по следующей формуле:

$$\text{Индекс по шкале Sokal} = \exp [0,116 (\text{возраст} - 43,4)] + 0,0345 (\text{размер селезенки} - 7,51) + 0,188 [(\text{тромбоциты}/700) \times 2 - 0,563] + 0,0887 (\% \text{ бластных клеток} - 2,1)$$

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета компьютерных программ SPSS Statistics 19. Графические зависимости ОВ и ВБП были построены с помощью логрангового критерия и по кривой Каплана—Мейера.

Material and methods

This is a phase IV clinical study for 1st line imatinib treatment of CML patients in chronic phase (hydroxyurea treatment prior to imatinib was accepted), carried out in NIHBT. All patients received 400 mg imatinib daily as starting dose. The study has been carried out in 121 CML patients treated in NIHBT with imatinib from 2010 to 2014.

We investigated clinical and laboratorial parameters, including age, sex, splenomegaly, Sokal score, ECOG performance status, imatinib treatment starting time from diagnosis, hemoglobin, WBC, platelet count, LDH, uric acid, Philadelphia (Ph) chromosome, BCR-ABL^{P210}, cytogenetic and molecular response levels, and 1-year, 2-year and 3-year survivals, including overall survival (OS) and progression-free survival (PFS). As the study has started since 2010, the term *complete molecular response* (CMR) was still in use instead of more updated terms such as *molecularly undetectable leukemia* or *deep molecular response* (DMR) etc.

Parameters included in Sokal index were: (1) age of patient at presentation, (2) spleen size below the left costal margin, (3) peripheral blood blast percentage and (4) platelet count. A patient is categorized as low-risk if Sokal index < 0.8, intermediate-risk if Sokal index is 0.8–1.2, and high-risk if Sokal index > 1.2. Sokal index was calculated according to the following formula [3].

$$\text{Sokal index} = \exp[0.116 (\text{age} - 43.4)] + 0.0345 (\text{spleen size} - 7.51) + 0.188 [(\text{platelets}/700) \times 2 - 0.563] + 0.0887 (\% \text{ blasts} - 2.1).$$

We analyzed parameters using IBM SPSS statistics Version.19. The OS and PFS were plotted with log-rank test and Kaplan—Meier survival curves.

Результаты

Характеристики больных

Характеристика больных до начала лечения иматинибом представлена в табл. 1.

Таблица 1. Демографическая и клиничко-лабораторная характеристика пациентов до начала терапии иматинибом

Показатель	Больные		Среднее ± СО
	п	%	
Возраст			46,5 ± 15,9
до 60 лет	88	72,7	
старше 60 лет	33	27,3	
Пол			
Мужской	70	57,9	
Женский	51	42,1	
Спленомегалия			
≤ 10 см ниже края левого ребра	23	19,0	
> 10 см ниже края левого ребра	98	81,0	
Статус по шкале ECOG			
0–1	120	99,2	
2–4	1	0,08	
Риск по шкале Sokal			
Низкий	6	5,0	
Умеренный	43	35,5	
Высокий	72	59,5	
Время от установления диагноза до начала лечения иматинибом			
< 6 мес	79	65,3	
6–12 мес	18	14,8	
12–18 мес	10	8,3	
18–24 мес	6	5,8	
> 24 мес	7	5,8	
Гемоглобин, г/л			91 ± 36
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л			164 ± 147
Тромбоциты, × 10 ⁹ /л			486 ± 369
ЛДГ, ед/л			1542 ± 937
Мочевая кислота, ммоль/л			
Мужчины			379 ± 265
Женщины			243 ± 189
Ph-хромосома	119	98,3	
BCR-ABL ^{P210}	121	100,0	
Тип b3a2	63	52,1	
Тип b2a2	58	47,9	

Ph-хромосома — филадельфийская хромосома; СО — стандартное отклонение.

Results

Patients characteristics

Characteristics of CML patients before imatinib treatment are presented in the table 1.

Table 1. Baseline parameters at the diagnosis (n = 121)

Parameters	Patients		Mean ± SD
	N	%	
Age			46,5 ± 15,9
≤ 60	88	72.7	
> 60	33	27.3	
Sex			
Male	70	57.9	
Female	51	42.1	
Splenomegaly			
≤ 10 cm below the left costal margin	23	19	
> 10 cm below the left costal margin	98	81	
ECOG performance status			
0–1	120	99.2	
2–4	1	0.08	
Sokal score			
Low	6	5	
Intermediate	43	35.5	
High	72	59.5	
Imatinib treatment starting time from diagnosis			
< 6 months	79	65.3	
6–12 months	18	14.8	
12–18 months	10	8.3	
18–24 months	6	5.8	
> 24 months	7	5.8	
Hemoglobin (g/l)			91 ± 36
WBC (× 10 ⁹ /l)			164 ± 147
Platelet (× 10 ⁹ /l)			486 ± 369
LDH (U/l)			1542 ± 937
Uric acid (mmol/l)			
Male			379 ± 265
Female			243 ± 189
Ph chromosome	119	98.3	
BCR-ABL ^{P210}	121	100	
b3a2 type	63	52.1	
b2a2 type	58	47.9	

Частоты полного гематологического ответа (ПГО), полного цитогенетического ответа (ПЦО) и полного молекулярного ответа (ПМО)

К третьему месяцу лечения иматинибом полный гематологический ответ (ПГО) был достигнут у 117 (96,7%) из 121 больного. Среднее время от начала приема иматиниба до достижения ПГО составило $1,22 \pm 1,12$ мес. Полный цитогенетический ответ (ПЦО) был достигнут у 82 (67,8%) из 121 больного, из них у 31 (37,2%) ремиссия отмечена к 6-му месяцу и у 44 (53,7%) — к 12-му месяцу лечения (рис. 1). Полный молекулярный ответ (ПМО) был достигнут у 80 (66,1%) больных, из них у 13 (16,5%) к 12-му месяцу, у 23 (28,9%) — к 18-му месяцу, у 61,1% — более чем через 18 мес от начала терапии иматинибом (рис. 2).

Прогностические факторы

Влияние ПЦО и ПМО на темпы прогрессии заболевания показано было ранее в ряде исследований [4–6].

Rates of complete hematologic response (CHR), complete cytogenetic response (CCyR) and complete molecular response (CMR)

CHR was achieved in 96.7% patients at 3 months. Mean time from start of imatinib to CHR is $1,22 \pm 1,12$ months. CCyR was achieved in 67.8% patients following imatinib treatment (from which 37.2% had CCyR at 6 months and 53.7% had CCyR at 12 months) (figure 1). 66.1% patients had CMR in total (from which 16.5% had CMR at 12 months, 28.9% — at 18 months and 66.1% after > 18 months following initiating imatinib treatment) (figure 2).

Prognostics factors

Several studies have shown the impact of CCyR and CMR on PFS and progression rate [4–6]. In this study,

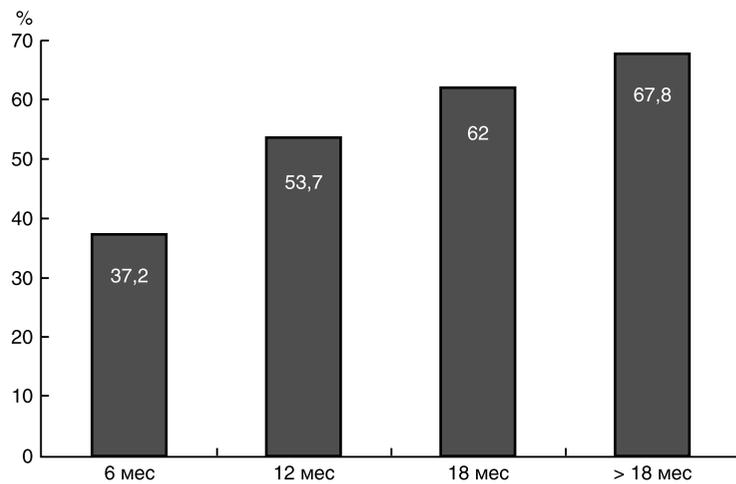


Рисунок 1. Кумулятивная частота полного цитогенетического ответа у больных ХМЛ, получавших иматиниб.

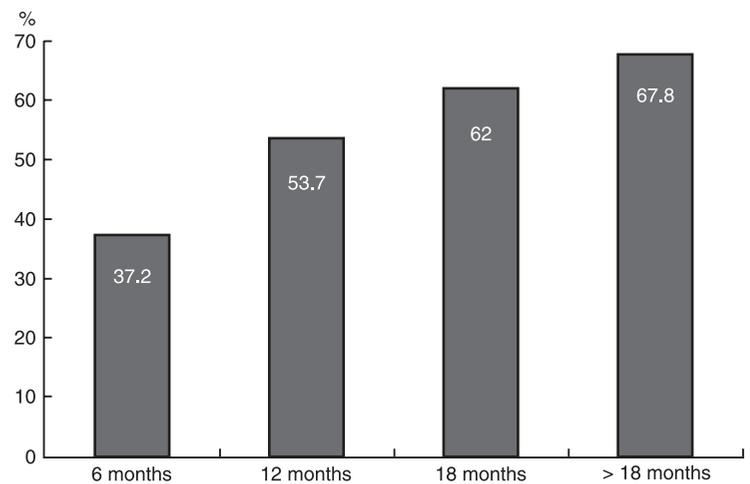


Figure 1. Cumulative CCyR rate.

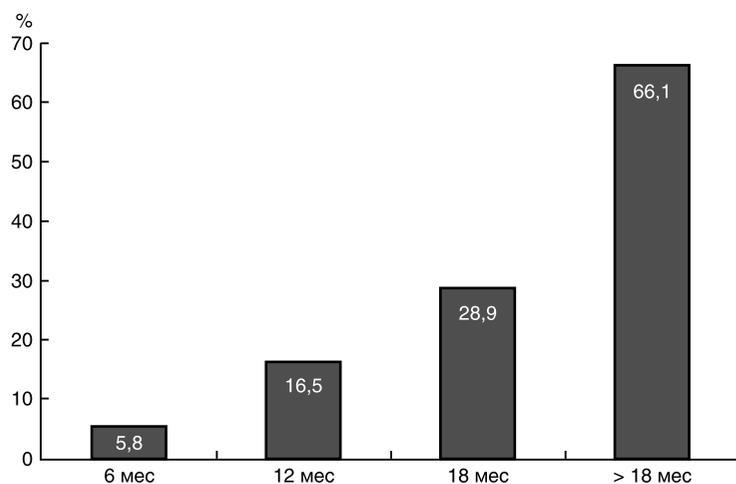


Рисунок 2. Кумулятивная частота полного молекулярного ответа у больных ХМЛ, получавших иматиниб.

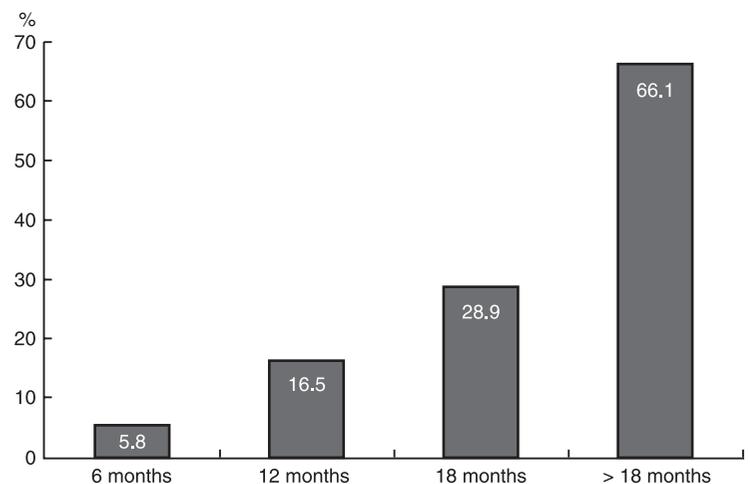


Figure 2. Cumulative CMR rate.

Таблица 2. Однофакторный анализ влияния факторов риска на достижение ПЦО и ПМО

Фактор риска	Полная цитологическая ремиссия		Полная молекулярная ремиссия	
	Отношение шансов	p	Отношение шансов	p
Возраст ≥ 60 лет	0,734	0,473	0,899	0,795
Мужской пол	0,959	0,915	0,844	0,642
Спленомегалия (≥ 10 см ниже края реберной дуги)	0,270	0,045	0,472	0,119
Гемоглобин < 120 г/л	3,258	0,043	1,077	0,865
Лейкоциты > 100 × 10 ⁹ /л	0,626	0,336	0,933	0,871
Тромбоциты > 450 × 10 ⁹ /л	0,913	0,818	0,790	0,519
Индекс по шкале Sokal (низкий/умеренный/высокий риск)	0,603	0,159	0,805	0,484
Время от установления диагноза до назначения иматиниба (≥ 12 мес)	0,481	0,000	0,569	0,000

Таблица 3. Многофакторный анализ влияния факторов риска на достижение ПЦО и ПМО

Фактор риска	ПЦО		ПМО	
	Отношение шансов	p	Отношение шансов	p
Возраст ≥ 60 лет	0,774	0,615	0,875	0,769
Мужской пол	0,945	0,902	0,875	0,740
Спленомегалия (≥ 10 см ниже края реберной дуги)	0,397	0,216	0,512	0,231
Гемоглобин < 120 г/л	2,590	0,148	0,913	0,853
Лейкоциты > 100 × 10 ⁹ /л	0,970	0,959	1,084	0,872
Тромбоциты > 450 × 10 ⁹ /л	1,264	0,608	0,886	0,763
Индекс по шкале Sokal (низкий/умеренный/высокий риск)	0,803	0,665	0,947	0,973
Время от установления диагноза до назначения иматиниба (≥ 12 мес)	0,158	0,001	0,263	0,018

Table 2. Univariate analysis of risk factors for CCyR and CMR

Risk factor	CCyR		CMR	
	OR	p	OR	p
Age (> 60)	0.734	0.473	0.899	0.795
Sex (Male)	0.959	0.915	0.844	0.642
Splenomegaly (> 10 cm below costal margin)	0.270	0.045	0.472	0.119
Hemoglobin (< 120 g/l)	3.258	0.043	1.077	0.865
WBC (> 100 × 10 ⁹ /l)	0.626	0.336	0.933	0.871
Platelet (> 450 × 10 ⁹ /l)	0.913	0.818	0.790	0.519
Sokal index (Low/Intermediate/High risks)	0.603	0.159	0.805	0.484
Imatinib treatment starting time from diagnosis (> 12 months)	0.481	0.000	0.569	0.000

Table 3. Multivariate analysis of risk factors for CCyR and CMR

Risk factor	CCyR		CMR	
	OR	p	OR	p
Age (> 60)	0.774	0.615	0.875	0.769
Sex (Male)	0.945	0.902	0.875	0.740
Splenomegaly (> 10 cm below costal margin)	0.397	0.216	0.512	0.231
Hemoglobin (< 120 g/l)	2.590	0.148	0.913	0.853
WBC (> 100 × 10 ⁹ /l)	0.970	0.959	1.084	0.872
Platelet (> 450 × 10 ⁹ /l)	1.264	0.608	0.886	0.763
Sokal index (Low/Intermediate/High risks)	0.803	0.665	0.947	0.973
Imatinib treatment starting time from diagnosis (> 12 months)	0.158	0.001	0.263	0.018

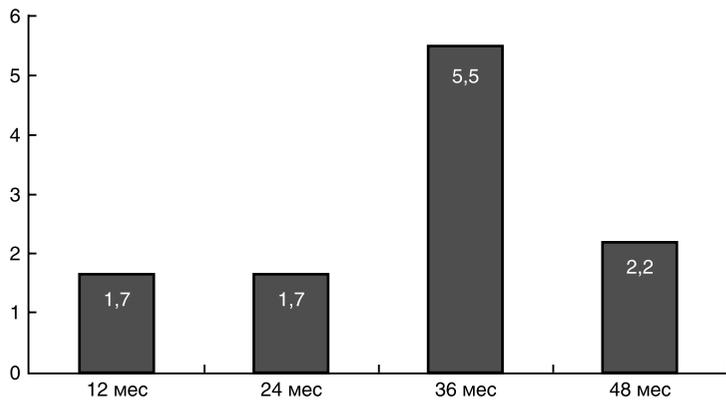


Рисунок 3. Ежегодная частота выявления фазы акселерации/бластного криза.

В настоящей работе проанализированы классические прогностические факторы, определяющие различия в вероятности достижения ПЦО и ПМО в хронической фазе ХМЛ (табл. 2, 3).

Частоты прогрессии в фазу акселерации/бластного криза

Полученные данные свидетельствуют о том, что ежегодный риск прогрессии заболевания при лечении иматинибом снижается, особенно начиная с 3-го года лечения (рис. 3).

Выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость

Анализ выживаемости показал, что ВВП для 1, 2 и 3-го годов составляла 98,3, 97,5 и 94,6% соответственно, а ОВ — 100, 99,1 и 98% соответственно (рис. 4 и 5).

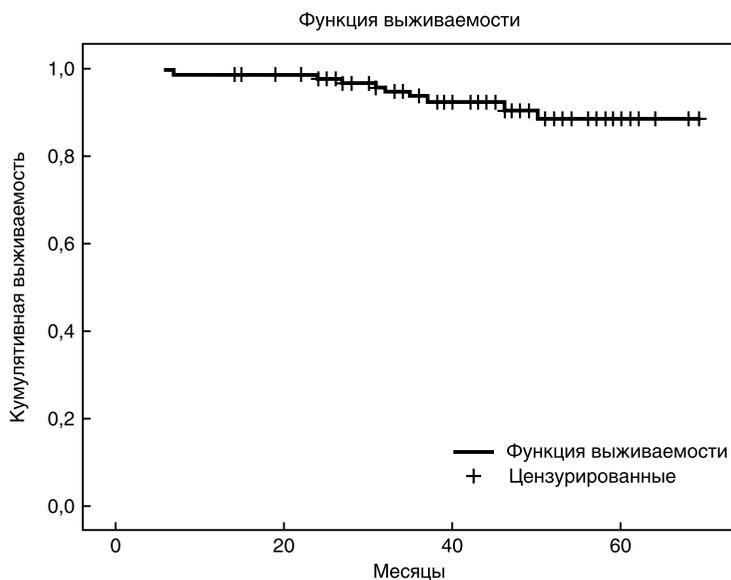


Рисунок 4. Выживаемость без прогрессирования (ВВП) больных ХМЛ, получавших иматиниб.

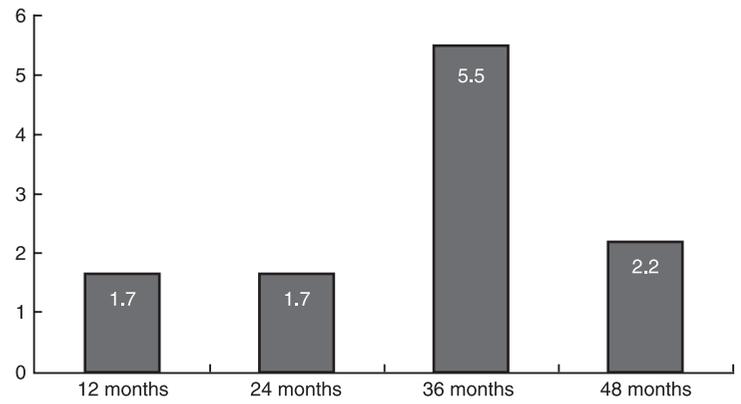


Figure 3. Annual AP/BC rates.

we investigated impact of classical prognostic factors associated with differences in the probability to achieve of CCyR and CMR in CP-CML. Results of analysis are shown in tables 2 and 3.

Accelerated phase/blast crisis (AP/BC) rates

Our data showed that the annual risk of progression seemed to decrease over time, especially since 3rd year of imatinib treatment (figure 3).

Progression-free and overall survivals

The 1-year, 2-year and 3-year PFS rates were 98.3%; 97.5% and 94.6%, respectively. The 1-year, 2-year and 3-year OS rates were 100%; 99.1% and 98%, respectively (figures 4 and 5).

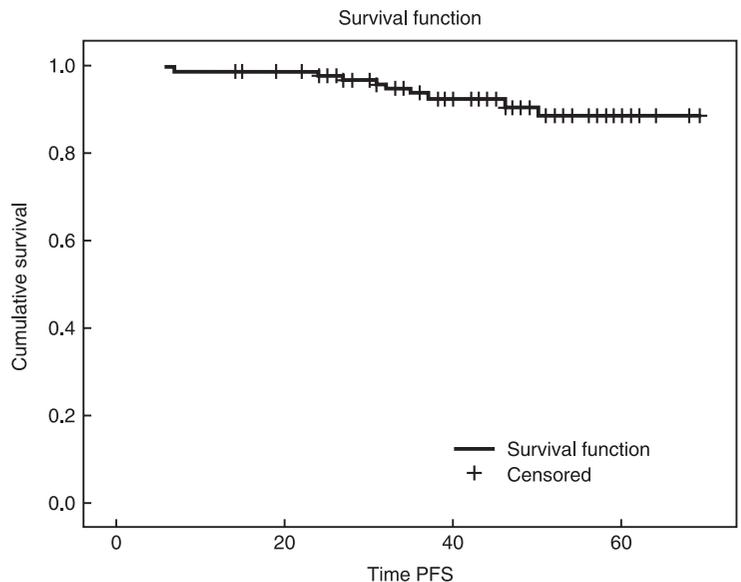


Figure 4. Progression-free survival.

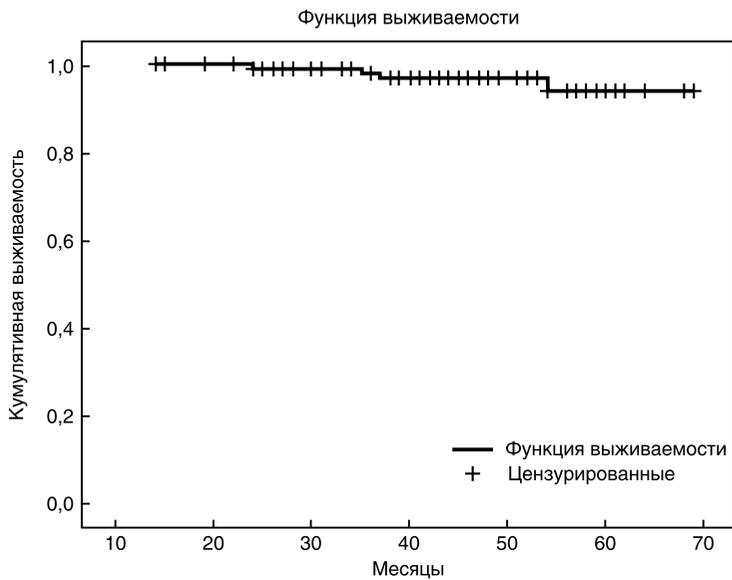


Рисунок 5. Общая выживаемость больных ХМЛ, получавших иматиниб.

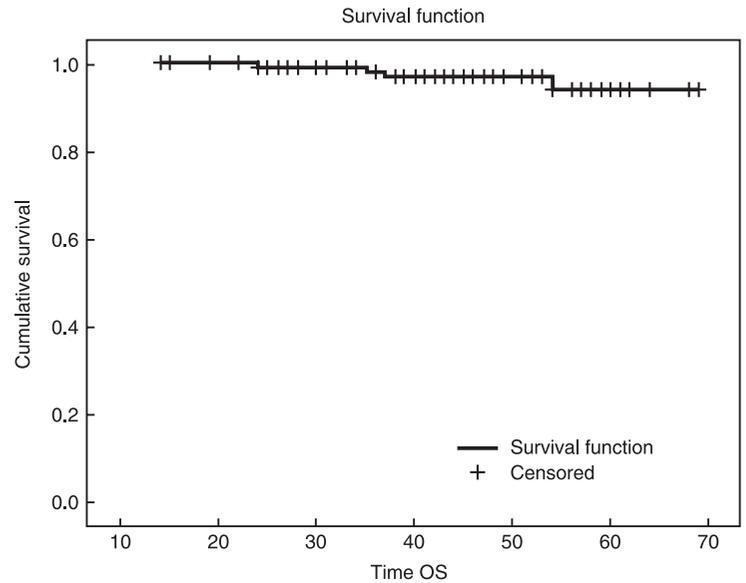


Figure 5. Overall survival.

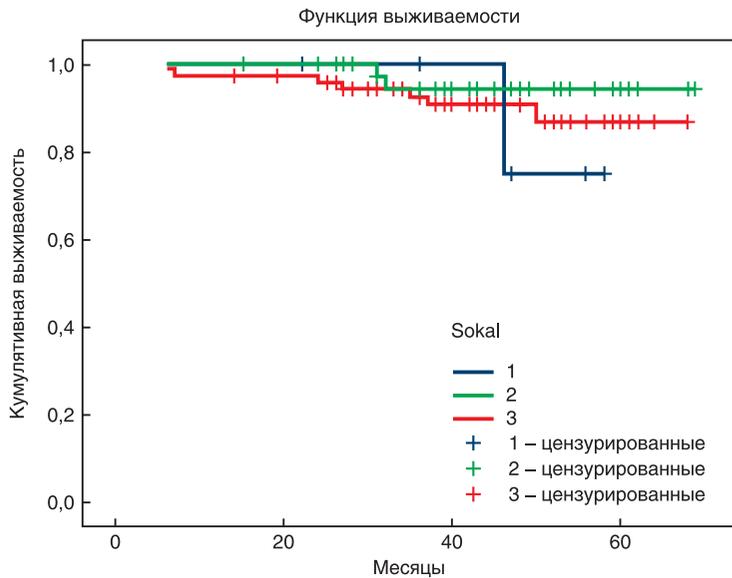


Рисунок 6. Выживаемость без прогрессирования (ВБП) в зависимости от индекса по шкале Sokal.

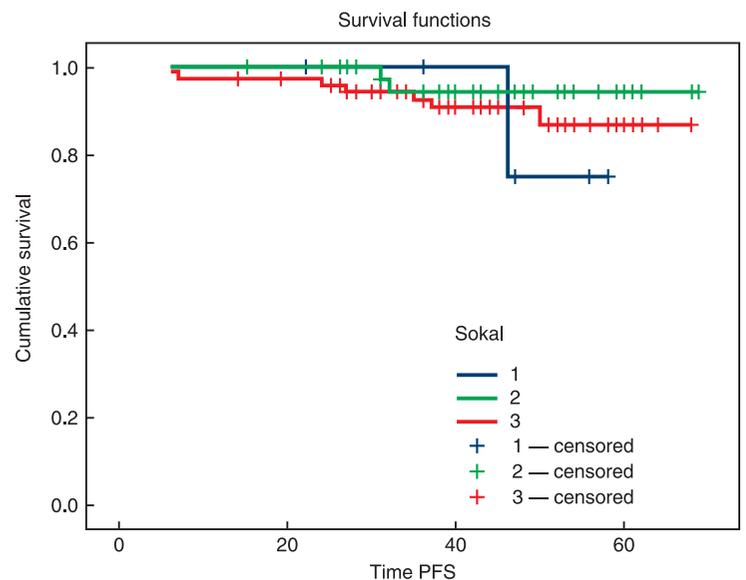


Figure 6. PFS by Sokal index.

ВБП и прогностические факторы

Индекс по шкале Sokal являлся менее значимым прогностическим фактором, чем применение иматиниба в качестве препарата первой линии лечения больных ХМЛ ($p > 0,05$). Кроме того, достижение ПЦО к 6-му месяцу терапии не являлось статистически значимым прогностическим фактором безрецидивного течения заболевания (рис. 6 и 7).

Побочные эффекты

Больные хорошо переносили лечение иматинибом в дозе 400 мг/сут. Побочные гематологические эффекты легкой степени выраженности отмечены в течение 1-го

PFS according to prognostic factors

The analysis showed how established risk models such as the Sokal index in CML has become less relevant since imatinib treatment was introduced as 1st line therapy ($p > 0.05$). Also, our data showed that the level of CCyR at 6 months was not a significant prognostic factor for freedom from progression (figures 6 and 7).

Adverse effects

In our study, imatinib was well tolerated at a daily dose of 400 mg. The adverse effects were mild: 1st and 2nd grades anemia, granulocytopenia and thrombocytopenia were

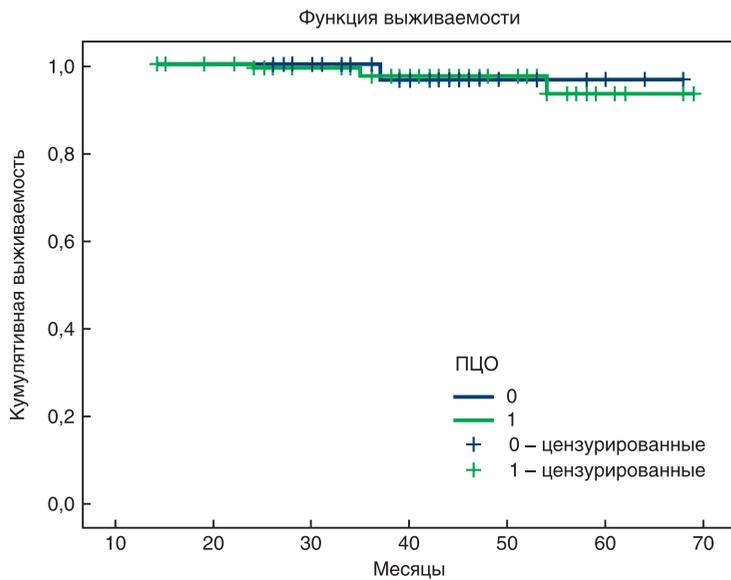


Рисунок 7. Выживаемость без прогрессирования (ВБП) при ПЦО у больных ХМЛ, получавших лечение иматинибом.

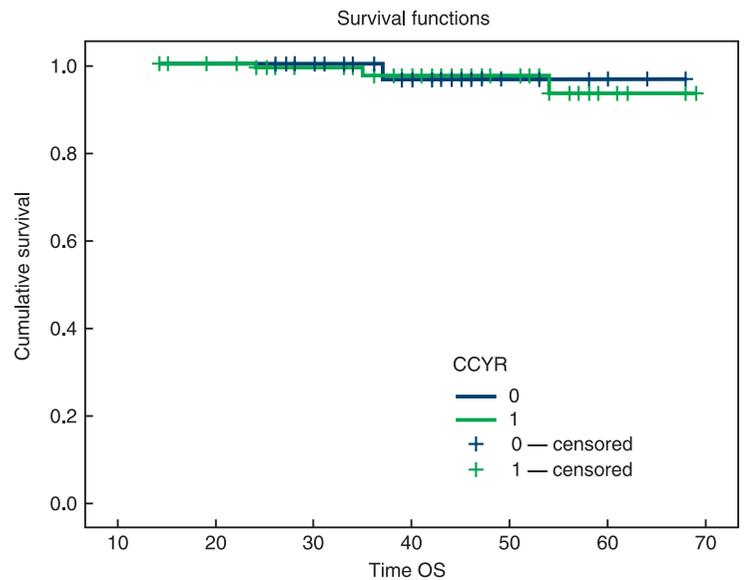


Figure 7. PFS of imatinib-treated CML by CCyR.

года наблюдения: у 17 (14%) больных в виде анемии 1–2-й степени, у 27 (22,3%) — гранулоцитопении, у 29 (23,9%) — тромбоцитопении. Из негематологических побочных явлений встречались периорбитальные отеки — у 35 (28,9%) больных, тошнота и рвота — у 21 (17,3%), повышение активности печеночных ферментов — у 12 (9,9%), сыпь — у 18 (14,9%), боль в мышцах и суставах — у 24 (19,8%), судороги — у 8 (6,6%) больных (табл. 4).

Обсуждение

Средний возраст больных ХМЛ в данном исследовании был ниже, чем в странах Запада, что отражает возрастное распределение населения во Вьетнаме. Подобная тенденция преобладания более молодых боль-

found in 14%, 22.3% and 23.9% patients, respectively. Most adverse effects occurred early in treatment. The most commonly reported adverse effects in 1st year of follow-up were periorbital edema, nausea, musculoskeletal pain, and rash (table 4).

Discussion

Our data showed that the mean age of Vietnamese CML patients is much lower than that seen in Western countries, which may reflect the age distribution of this country. This trend was supported by several studies from Asian

Таблица 4. Частота возникновения побочных эффектов

Побочный эффект	Больные	
	n	%
Гематологические побочные эффекты		
Анемия	17	14,0
Гранулоцитопения	27	22,3
Тромбоцитопения	29	23,9
Негематологические побочные эффекты		
Периорбитальный отек	35	28,9
Боль в мышцах и суставах	24	19,8
Рвота и тошнота	21	17,4
Сыпь	18	14,9
Судороги и миалгия	8	6,6
Повышение активности печеночных ферментов	12	9,9

Table 4. Rate of adverse effects

Adverse effect	Patients	
	N	%
Hematologic adverse effects		
Anemia	17	14.0
Granulocytopenia	27	22.3
Thrombocytopenia	29	23.9
Non-hematologic adverse effects		
Periorbital edema	35	28.9
Musculoskeletal pain	24	19.8
Vomiting and nausea	21	17.4
Rash	18	14.9
Cramp and myalgia	8	6.6
Elevated liver enzymes	12	9.9

ных отмечена и в других исследованиях, выполненных в азиатских странах, где возраст больных составлял от 40 до 45 лет [2, 7–9]. При этом в большинстве исследований, проведенных среди больных ХМЛ как в Азии, так и в западных странах, преобладали мужчины [1, 2, 7–10, 11]. Характерная транслокация t(9;22) наблюдалась у 98,3% больных, что коррелирует с результатами исследований других авторов, согласно которым t(9;22) отмечена более чем у 90% больных ХМЛ в хронической фазе [8, 10, 12]. Таким образом, большинство больных в развивающихся странах поступают для лечения на поздних стадиях заболевания, когда в клинической картине отмечается большое разнообразие симптомов (анемия, спленомегалия), лейкоцитоз ($164 \pm 147 \times 10^9/\text{л}$), тромбоцитоз ($486 \pm 369 \times 10^9/\text{л}$), повышение активности ЛДГ (1542 ± 937 ед/л). Большинство таких больных относится к группе высокого риска при оценке прогностических факторов по шкале Sokal.

Мы нашли, что кумулятивные частоты ПЦО и ПМО у всех больных, получавших лечение иматинибом, постоянно возрастали, что согласуется с предварительным исследованием в рамках клинических исследований IRIS [13], результаты которых свидетельствуют о повышении частоты ПМО с течением времени. Кроме того, отмечена тенденция к снижению частоты прогрессии в фазу акселерации и бластного криза после 3 лет лечения иматинибом: частота выявления фаз акселерации и бластного криза достигала максимума в 5,5% на 3-й год лечения и впоследствии снижалась до 2,2%. Установлено, что ПЦО к 6-му месяцу терапии является существенным прогностическим фактором безрецидивного течения, что необходимо для достижения оптимального ответа в соответствии с рекомендациями European LeukemiaNet [1]. В данном исследовании более чем у трети больных ПЦО был достигнут к 6-му месяцу терапии, при этом данный показатель не являлся значимым прогностическим фактором безрецидивной выживаемости. Это может быть связано с небольшим числом больных или, что более вероятно, с недостаточно продолжительным периодом наблюдения. У больных ХМЛ, получавших иматиниб, 3-летние показатели ОВ и ВБП составили 98 и 94,6% соответственно.

Сходные показатели были получены в ряде аналогичных исследований. По данным Druker et al. [14] и Hochhaus et al. [15], частота 5-летней выживаемости составляла 90–95%.

Несмотря на то что результаты однофакторного анализа полученных нами данных указывают на влияние спленомегалии на вероятность достижения больными ПЦО, сопоставление этих данных с результатами многофакторного анализа выявляет только одну корреляционную зависимость — между продолжительностью периода от установления диагноза до начала лечения, с одной стороны, и ПЦО (отношение шансов 0,158; $p = 0,001$) и ПМО (отношение шансов 0,263; $p = 0,018$), с другой.

developing countries, where the age of CML patients were lower and usually ranged from 40 to 45 [2, 7–9]. On the other hand, regarding gender distribution, majority studies in Asia have concluded that there was a male predominance in CML, which was consistent with Western authors [1, 2, 7–10, 11]. Typical t(9;22) was seen in 98.3% patients. This result also was consistent with some other Asian authors showing that t(9;22) was seen in more 90% CP-CML patients [8, 10, 12]. Finally, as usually seen in a developing country, most of patients were admitted rather late, thus presented with a full range of clinical symptoms (anemia, splenomegaly), leukocytosis ($164 \pm 147 \times 10^9/\text{l}$), increased platelet count ($486 \pm 369 \times 10^9/\text{l}$), elevated LDH (1542 ± 937 U/l). As consequences, majority of patients were categorized as high-risk according to prognostic assessment tool such as Sokal scoring system.

In this study, the cumulative CCyR and CMR rates were increased steadily for all CML patients treated with imatinib. Our data was consistent with a substudy of IRIS trial, the result of which showed that rate of CMR increased over time [13]. As a result, our data showed a trend of declining rate of progression into AP/BC phases after 3 years of imatinib treatment (AP/BC rates were at pick of 5.5% in the 3rd year then dropped to 2.2% afterward).

The level of CCyR at 6 months was shown to be an important prognostic factor for freedom from progression and required for optimal response as according to ELN 2013 recommendation [1]. In this study more than 1/3 of all patients have reached CCyR at 6 months. However, our data showed that the level of CCyR at 6 months was not a significant prognostic factor for freedom from progression. The explanation may be a limited patients' number, or more likely due to short time of observation.

Our data showed the high PFS and OS for imatinib-treated CML patients (the 3-year PFS and OS rates were 94.6% and 98%, respectively). Several other clinical trials of CP-CML patients showed similar pattern of survival. According to Druker et al. [14] and Hochhaus et al. [15], 5-year survival rates were approximately 90% and up to 95%.

In this study, although univariate analysis still showed the impact of splenomegaly on the probability of patients reaching CCyR, when combined with multivariate analysis there was only a correlation between the time interval (from CML diagnosis to initiating imatinib treatment) and both complete cytogenetic (OR = 0.158; $p = 0.001$) and molecular (OR = 0.263; $p = 0.018$) responses. Thus, the analysis demonstrates how imatinib has minimized the prognostic impact of previously established prognostic factors in CML, such as older age, leukocytosis, thrombocytosis and splenomegaly. In fact, some authors have concluded that while classical pretreatment prognostic factors lost its impact, imatinib-associated prognostic factors such as CCyR or deep molecular response (DMR) have gained their role in assessment of long-term prognosis (OS or PFS) [11, 16].

Таким образом, полученные результаты показывают, что иматиниб уменьшает значимость ранее установленных прогностических факторов ХМЛ — пожилого возраста, лейкоцитоза, тромбоцитоза и спленомегалии. Это согласуется с данными ряда авторов, свидетельствующими, что выявленные до лечения классические прогностические факторы теряют свое значение, в то время как достижение при лечении иматинибом ПЦО и ПМО для длительного прогноза (ОВ и БРВ) становится все более существенным [11, 16].

Оценка состояния больных по шкале риска Sokal перед лечением выявила, что большинство из 121 больного относились к группам высокого и умеренного риска — 72 (59,5%) и 43 (35,5%) соответственно, и только 6 (5%) больных были отнесены к группе низкого риска. Этот факт можно связать с поздней диагностикой заболевания из-за позднего обращения пациентов, что ухудшает прогноз при ХМЛ. Исследование влияния уровня риска по шкале Sokal на выживаемость больных показало, что, хотя ОВ и ВБП в каждой прогностической группе несколько отличаются от значений, полученных по кривым выживаемости Каплана—Мейера, эти различия нельзя признать значимыми, поскольку $p > 0,05$ как для ВБП, так и для ОВ. Полученные нами данные согласуются с результатами исследования Kantarjian et al. [11], согласно которым система оценки риска по шкале Sokal утрачивает свою прогностическую значимость в эпоху терапии ингибиторами тирозинкиназы.

Согласно нашим данным, прием иматиниба в дозе 400 мг/сут хорошо переносится. Гематологические побочные эффекты были выражены в легкой степени и отмечались только на 1-м году приема препарата: у 17 (14%) больных в виде анемии 1-й и 2-й степени, у 27 (22,3%) — гранулоцитопении, у 29 (23,9%) больных — тромбоцитопении. Из негематологических побочных явлений следует отметить: периорбитальные отеки у 35 (28,9%) больных, тошноту и рвоту — у 21 (17,3%), повышение активности печеночных ферментов — у 12 (9,9%), сыпь — у 18 (14,9%), боль в мышцах и суставах — у 24 (19,8%), судороги — у 8 (6,6%) больных. В подавляющем числе случаев побочные эффекты были выражены незначительно и поддавались лечению, в связи с чем снижения дозы/прекращения терапии иматинибом не требовалось. Эти результаты коррелируют с данными Международного рандомизированного исследования (International Randomized Study of Interferon and STI571 — IRIS), а результаты 6-летнего катамнестического наблюдения показали, что побочные эффекты стали причиной прекращения приема иматиниба только у 5% больных [14, 15].

В ряде исследований установлено, что побочные эффекты в большинстве случаев развиваются на ранних стадиях лечения и имеют тенденцию к снижению выраженности в динамике на 2-м году лечения [14, 15, 17, 18].

Наблюдавшаяся при лечении иматинибом тенденция к уменьшению тяжелых побочных эффектов,

In this study, we have used Sokal index scoring system on imatinib-treated CP-CML patients. Our data showed that out of 121 patients, the majority was categorized as high-risk group by Sokal scores (the percentage of patients belonged to low, intermediate and high-risk categories for Sokal scores were 5%, 35.5% and 59.5%, respectively). This fact may reflect the country's specific situation when patients have been diagnosed rather late, thus the majority belonged to high-risk group. We have investigated the impact of Sokal scores on survival of the patients. The result showed that although the PFS and OS of each prognostic group were somehow different as by Kaplan—Meier survival curves, these differences were not significant with $p > 0.05$ for both PFS and OS. Our data was consistent with other authors such as Kantarjian et al. [11], according to whom the significance of the Sokal risk assessment system was lost its prognostic impact in the era of TKIs therapy.

Our data showed that imatinib was well tolerated at a daily dose of 400 mg. The adverse effects were mild: 1st and 2nd grades anemia, granulocytopenia and thrombocytopenia were found in 14%, 22.3% and 23.9% patients, respectively. Most adverse effects occurred early in treatment. The most commonly reported adverse effects in 1st year of follow-up of newly diagnosed CML patients treated with imatinib were periorbital edema, nausea, musculoskeletal pain, and rash. We have found out that most adverse effects were mild and manageable; none of our patients had to discontinue imatinib treatment so far. The IRIS trial's authors have come to the conclusion that imatinib has been well tolerated and 6-year follow-up showed that only 5% of patients have discontinued treatment because of the adverse effects [14, 15]. Several authors also have mentioned that majority of adverse events occurred early during therapy course and there was a trend of decrease from 2nd year of imatinib treatment afterward [14, 15, 17, 18]. For the most troublesome adverse effects, myelosuppression (which lead to hematologic adverse events such as anemia, granulocytopenia and thrombocytopenia), the explanation for the trend of decline of these effects was that during the course of therapy, imatinib effectively reduced the number of Philadelphia positive stem cells (which considered to be responsible for hematopoiesis in chronic phase of CML), thus from the 2nd or 3rd year of treatment, normal hematopoietic cells became predominant and therefore normal hematopoiesis was able to regenerate [19, 20].

таких как миелосупрессия, приводящая к развитию анемии, гранулоцитопении и тромбоцитопении, связана с тем, что препарат снижает количество стволовых Ph⁺ клеток, что определяет особенности гемопоэза при ХМЛ в хронической фазе, вследствие чего со 2-го или 3-го года лечения клетки с нормальным гемопоэзом становятся доминирующими, что является предпосылкой для восстановления нормального гемопоэза [19, 20].

Выводы

Таким образом, полученные нами данные по эффективности лечения иматинибом больных ХМЛ во Вьетнаме соответствуют результатам международных исследований по таким показателям, как ПЦО и ПМО, ОВ и ВБП. Показано, что применение иматиниба нивелирует влияние классических прогностических факторов и требует разработки новых подходов к оценке риска для больных ХМЛ.

Литература

1. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia 2013. *Blood* 2013; 122:872–884. doi: 10.1182/blood-2013-05-501569.
2. Tran Thi Minh Huong, Do Trung Phan. Epidemiology of hematopoietic diseases in northern Vietnam according to statistics data from Institute of Hematology and Blood Transfusion, Bach Mai hospital. *Annu Hematol Sci Res* 2002; 8:15–24.
3. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M et al. Prognostic discrimination in “good-risk” chronic granulocytic leukemia. *Blood* 1984; 63:789–799.
4. Hughes TP, Hochhaus A, Branford S et al. Long-term prognostic significance of early molecular response to imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: an analysis from the International Randomized Study of Interferon and ST1571 (IRIS). *Blood* 2010; 116:3758–3765. doi: 10.1182/blood-2010-03-273979.
5. Hanfstein B, Muller MC, Hehlmann R et al. Early molecular and cytogenetic response is predictive for long-term progression-free and overall survival in chronic myeloid leukemia (CML). *Leukemia* 2012; 26:2096–2102. doi:10.1038/leu.2012.85.
6. Rousselot Ph, Guilhot J, Preudhomme C et al. Relationship between molecular responses and disease progression in patients treated first line with imatinib (Im) based regimens: impact of treatment arm within the French Spirit trial from the French CML group (FI LMC). *Blood* 2012; 120:168.
7. Chavan D, Ahmad F, Iyer P et al. Cytogenetic investigation in chronic myeloid leukemia: study from an Indian population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006; 7:423–426.
8. Irfan SM, Bhurgri Y. Clinico-pathological features and outcomes in chronic phase chronic myeloid leukemia patients treated with hydroxyurea. *Asian Pac J Cancer Prev* 2009; 10:591–594.

Conclusion

In conclusion, the results of our study showed the effectiveness of imatinib treatment in Vietnamese CML patients and our results were similar to what reported from international studies, assessed by measurable parameters such as CCyR, CMR, OS, PFS. This study also highlighted that the impact of classical prognostic factors has been minimized with imatinib treatment and there is a need to develop new risk assessment tools for CML in TKIs era.

Acknowledgements

This study was funded in part by the Department of Science, Technology and Training (the Ministry of Health of Vietnam).

9. Bhat G, Bhat A, Wani A et al. Polymorphic variation in glutathione-S-transferase genes and risk of chronic myeloid leukaemia in the Kashmiri population. *Asian Pac J Cancer* 2012; 13:69–73.
10. Usmani SZ, Yunus SA, Jamal Y. Overview of chronic myeloid leukemia patients in Pakistan in the pre-imatinib era. *Asian Pac J Cancer Prev* 2009; 10:1039–1040.
11. Kantarjian H, O’Brien S, Jabbour E et al. Improved survival in chronic myeloid leukemia since the introduction of imatinib therapy: a single-institution historical experience. *Blood* 2012; 119:1981–1987. doi: 10.1182/blood-2011-08-358135
12. Payandeh M, Sadeghi M, Sadeghi E. Treatment and survival in patients with chronic myeloid leukemia in a chronic phase in West Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16:7555–7559.
13. Branford S, Seymour JF, Grigg A et al. BCR-ABL messenger RNA levels continue to decline in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib for more than 5 years and approximately half of all first-line treated patients have stable undetectable BCR-ABL using strict sensitivity criteria. *Clin Cancer Res* 2007; 13:7080–7085. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0844.
14. Druker BJ, Guilhot F, O’Brien SG et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2006; 355:2408–2417. doi: 10.1056/NEJMoa062867.
15. Hochhaus A, O’Brien SG, Guilhot F et al. Six-year follow-up of patients receiving imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2009; 23:1054–1061. doi:10.1038/leu.2009.38.
16. Kantarjian HM, O’Brien S, Cortes JE et al. Complete cytogenetic and molecular responses to interferon alpha-based therapy for chronic myelogenous leukemia are associated with excellent long-term prognosis. *Cancer* 2003; 97:1033–1041. doi: 10.1002/cncr.11223.

17. Hehlmann R, Lauseker M, Jung-Munkwitz S et al. Tolerability-adapted imatinib 800 mg/d versus 400 mg/d versus 400 mg/d plus interferon α in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29:1634–1642. doi: 10.1200/JCO.2010.32.0598.
18. Payandeh M, Sadeghi E, Sadeghi M. Non-hematological adverse events of imatinib in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP). *J App Pharm Sci* 2015; 5:87–90. doi: 10.7324/JAPS.2015.50213.

Комментарий редакции

При анализе результатов терапии иматинибом обращает на себя внимание возраст больных ХМЛ (медиана возраста 46,5 года), который значительно меньше, чем в европейских странах (медиана возраста 55 лет). Однако авторы справедливо отмечают, что тенденция к преобладанию больных молодого возраста наблюдается и в других азиатских странах (медиана возраста 40–45 лет). Обсуждая особенности клинико-гематологической картины у больных ХМЛ до начала терапии иматинибом, следует отметить, что в исследование включены 23 (20%) больных, начавших лечение в поздней хронической фазе, т. е. через 12 мес после установления диагноза. Вероятно, это было одним из дополнительных факторов, обусловивших столь значительную частоту больных с высокой группой риска по шкале Sokal и отсутствие взаимосвязи неблагоприятных факторов риска до начала терапии и частоты достижения полных цитогенетических и молекулярных ответов. Терапевтическая тактика использования иматиниба в стандартной дозе 400 мг/сут (без эскалации до 600–800 мг/сут при недостаточном ответе) не является стандартной, но в целом она обеспечила хорошие результаты по выживаемости (общей и без прогрессирования) и низкую степень токсичности.

Заведующая научно-консультативным отделением химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России, профессор, д. м. н. А. Г. Туркина

19. Petzer AL, Eaves CJ, Lansdorp PM et al. Characterization of primitive subpopulations of normal and leukemic cells present in the blood of patients with newly diagnosed as well as established chronic myeloid leukemia. *Blood* 1996; 88:2162–2171.
20. Jabbour E, Deininger M, Hochhaus A. Management of adverse events associated with tyrosine kinase inhibitors in the treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2011; 25:201–210. doi:10.1038/leu.2010.215.

Editorial Note

Notably, the mean age of CML patients treated in this study (46.5 years) was significantly lower than that in the European countries (55 years). As the authors point out, this tendency towards younger age of CML patients (a mean of 40–45 years) has been also observed in other Asian countries. Twenty-three patients (20%) enrolled in the study started imatinib treatment in the late chronic phase of the disease (12 months after diagnosis or later), which probably contributed to the high proportion of patients with a high Sokal risk score and the low predictive value of risk factors at baseline as regards to attainment of complete cytogenetic or complete molecular response. Treatment with imatinib at a daily dose of 400 mg without dose escalations to 600–800 mg in case of suboptimal response, while not a standard practice, yielded good results in overall and progression-free survival and was well tolerated.

Professor A. G. Turkina, MD, Dr. Sci. (Med.), head of the Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Disorders, National Research Center for Hematology

МОДИФИКАЦИЯ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА НЕПРЯМОЙ ПРОБЫ КУМБСА У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДАРАТУМУМАБОМ

A modification of the pre-analytical phase of the indirect Coombs test for multiple myeloma patients treated with daratumumab

Головкина Л. Л.¹, Минева Н. В.², Менделеева Л. П.¹, Бесмельцев С. С.², Стремouxова А. Г.¹, Грибанова Е. О.¹, Соловьев М. В.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России, Москва, Россия

² ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Golovkina L. L.¹, Mineeva N. V.², Mendeleeva L. P.¹, Bessmelzev S. S.², Stremoukhova A. G.¹, Gribanova E. O.¹, Solovyev M. V.¹

¹ National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

² Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, Russian Federation

Резюме. Для лечения больных множественной миеломой (ММ), рефрактерной к терапии ингибиторами протеасом и иммуномодулирующими препаратами, применяют таргетные моноклональные антитела к CD38, поскольку маркер CD38 обладает выраженной экспрессией на злокачественных плазматических клетках. Однако белок CD38 в незначительном количестве представлен на эритроцитах. Взаимодействие терапевтических антител к CD38 с эритроцитами приводит к появлению CD38-специфической агглютинации в некоторых иммуногематологических тестах.

Цель исследования: отработать и адаптировать методику устранения CD38-специфической агглютинации в антиглобулиновом тесте путем обработки эритроцитов дитиотреитолом.

Задачи исследования: изучить антипенный профиль эритроцитов до и после обработки дитиотреитолом; изучить иммуногематологические характеристики сывороток и эритроцитов больных ММ, получающих антитела к CD38.

Материалы и методы: исследовали сыворотки и эритроциты 9 больных ММ до и в процессе лечения антителами к CD38, применяя стандартные эритроциты 3- и 11-клеточной панелей, эритроциты доноров компонентов крови. Антигенный профиль эритроцитов до и после

Abstract. Daratumumab, the first therapeutic monoclonal antibody that binds to CD38, is used for treatment of patients with multiple myeloma. The CD38 transmembrane protein is highly expressed on the surface of malignant myeloma cells, but also, to a lesser extent, is expressed by many other types of cells, including red blood cells (RBCs). When daratumumab binds to CD38 expressed on RBCs, this may result in positive indirect antiglobulin tests (IAT) performed to identify immunological compatibility before RBC transfusions. Anti-CD38-specific agglutination may also variably affect autocontrol, direct antiglobulin test (DAT), and eluate tests.

The aim of the study was to develop a protocol for preventing CD38-specific agglutination in antiglobulin tests by treatment of RBCs with dithiothreitol (DTT).

Materials and methods. Between July 2016 and April 2017, 9 multiple myeloma patients undergoing daratumumab treatment were tested using routine methods in the Immunohematology Laboratory of the National Hematological Research Center in Moscow. The tests included ABO and Rh typing, extended phenotype matching, DAT, and IAT in LISS/Coombs gel cards. Tests were performed before and after treatment of RBCs with DTT.

Results. No daratumumab interference was observed in ABO, Rh, Kell, MNS or Fy typing with IgM antibodies.

обработки их дитиотреитолом изучали методом гемагглютинации.

Результаты: метод обработки эритроцитов дитиотреитолом воспроизведен и адаптирован к условиям работы специалистов клинической лабораторной диагностики Российской Федерации. Отработаны нюансы применения дитиотреитола. Показана эффективность дитиотреитола при устранении CD38-специфической агглютинации в иммунологических тестах у больных ММ, получавших антитела к CD38. Показано, что у всех больных аутоконтроль, прямая проба Кумбса были отрицательными до и после введения антител к CD38. Результаты пробы на совместимость между сывороткой больного и донорскими эритроцитами, выполняемые в непрямом антиглобулиновом тесте, результаты скрининга аллоиммунных антиэритроцитарных антител у больных на фоне проводимого лечения антителами к CD38 можно было оценивать только после обработки планируемых к переливанию эритроцитов и тест-эритроцитов дитиотреитолом. Без обработки дитиотреитолом CD38-специфическую агглютинацию в гелевых картах LISS/Coombs оценивали на 1+ — 2+. Лечение антителами к CD38 не мешало проведению расширенного фенотипирования эритроцитов с использованием реактивов на основе полных специфических антител (систем АВО, Резус, Келл, MNS, Даффи).

Заключение: дитиотреитол позволяет устранять CD38-специфическую агглютинацию у больных ММ, получающих терапию антителами к CD38.

Ключевые слова: иммуногематологические исследования; антиглобулиновый тест непрямой и прямой; пробы на совместимость; аллоиммунные антитела; эритроцит; CD38; антитела к CD38; множественная миелома; таргетная терапия; дитиотреитол; антигены эритроцитарных систем

Для цитирования: Головкина Л. Л., Минеева Н. В., Менделеева Л. П., Бессмельцев С. С., Стрёмухова А. Г., Грибанова Е. О., Соловьев М. В. *Модификация преаналитического этапа непрямой пробы Кумбса у больных множественной миеломой при лечении даратумумабом.* Гематология и трансфузиология 2018; 63(1):44–54 doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.45..1..004>

Для корреспонденции: Головкина Лариса Леонидовна, д. м. н., заведующая лабораторией трансфузиологической иммуногематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России, Москва, Россия
Электронная почта: largol@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.05.18

Принята к печати 16.05.18

DAT and auto control were also negative in all patients. On the other hand, all patients showed daratumumab-mediated positive IAT, which was resolved by treatment of RBCs with DTT.

Conclusions. Anti-CD38 antibodies interfere with serological tests. This interference can be resolved by treating RBCs with DTT. Blood banks and immunohematological laboratories should be informed that a patient is receiving treatment with anti-CD38.

Keywords: immunohematological tests; direct antiglobulin test; indirect antiglobulin test; blood compatibility tests; red blood cells; alloimmune antibodies; CD38; anti-CD38 antibodies; multiple myeloma; target therapy; dithiothreitol; red blood cell antigens

For citation: Golovkina L. L., Mineeva N. V., Mendeleeva L. P., Bessmelzev S. S., Stremoukhova A. G., Griбанова E. O., Solovyev M. V.

A modification of the pre-analytical phase of the indirect Coombs test for multiple myeloma patients treated with daratumumab.

Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya) 2018; 63(1):44–54 (in Russian)

doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.45..1..004>

For correspondence: Golovkina Larisa L., MD, PhD, DSc, head of laboratory of transfusiological immunohematology, National Research Center for Hematology, Moscow, 125165, Russian Federation
E-mail: largol@mail.ru

Information about authors:

Golovkina L. L., ResearcherID: M-6316-2014; Scopus Author ID: 6602579655; SPIN-код: 1934-4336; AuthorID: 605358;

Mineeva N. V., SPIN-код: 7528-9460; AuthorID: 691696; <https://orcid.org/0000-0001-7137-8877>;

Mendeleeva L. P., Scopus Author ID: 6701562648; ResearcherID: H-7845-2016; SPIN-код: 2564-2246; AuthorID: 122877;

Bessmelzev S. S., SPIN-код: 4955-1364; AuthorID: 274497;

Stremoukhova A. G., AuthorID: 715042;

Griбанова E. O., SPIN-код: 3772-7386; AuthorID: 303138;

Solovyev M. V., SPIN-код: 8939-0286; AuthorID: 963886.

Financial disclosure. The study had no sponsorship.

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

Received 14 May 2018

Accepted 16 May 2018

Введение

В течение последних полутора десятилетий схемы терапии множественной миеломы (ММ) включали два основных класса препаратов — ингибиторы протеасом (ИП) и иммуномодулирующие препараты (ИМП), что позволило значительно улучшить результаты лечения, повысить показатели общей и беспрогрессивной выживаемости. В то же время формирующаяся «двойная рефрактерность» [1, 2] к этим лекарственным препаратам диктует необходимость поиска принципиально новых подходов к терапии ММ.

Моноклональные антитела (МА) являются таргетными препаратами, реагирующими непосредственно с опухолевыми клетками. Злокачественные плазматические клетки экспрессируют на своей поверхности молекулы CD38 [3]. В клинической практике применяют МА к CD38, которые, являясь иммуноглобулинами класса G (неполные IgG1к-антитела), оказывают цитотоксическое действие на опухолевые клетки посредством комплементзависимой и антителозависимой цитотоксичности, а также запуска клеточного апоптоза [4]. МА к CD38 продемонстрировали высокую эффективность в клинических исследованиях I и II фазы в качестве монотерапии у больных ММ после обширной предшествующей терапии, в стадии рецидива или при рефрактерности к применяемым для лечения препаратам, а именно — ИП и ИМП [4].

Однако CD38 экспрессируются не только на поверхности злокачественных плазматических клеток, но и на мембране эритроцитов. При этом взаимодействие терапевтических неполных антител к CD38 с эритроцитами не приводит к острому гемолизу из-за низкой экспрессии белка CD38 на них [4]. Терапия МА к CD38 обычно сопровождается незначительным снижением уровня гемоглобина у пациентов (менее чем на 5–10 г/л) [5, 6].

Часто больные ММ нуждаются в переливании эритроцитной массы вследствие анемии. Перед трансфузиями донорской крови и/или ее компонентов необходимо выполнить иммунологические исследования, часть из которых заключается в непрямом антиглобулиновом тесте (НАТ), называемом также непрямой пробой Кумбса (Приказ Минздрава РФ №183н от 02.04.13 «Об утверждении правил клинического использования донорской крови и/или ее компонентов») [7].

Непрямую пробу Кумбса используют для исследования на индивидуальную совместимость донора и реципиента по неполным IgG-антителам, а также для идентификации и установления специфичности неполных антиэритроцитарных антител в сыворотке реципиента (больного) — с панелями тест-эритроцитов: для скрининга антител применяют трехклеточную панель, для выявления специфичности антител используют панель эритроцитов, состоящую из 10–11 образцов клеток. Кроме того, непрямую пробу

Кумбса применяют для выявления некоторых эритроцитарных антигенов с использованием реактивов, содержащих специфические IgG-антитела.

Неполные антитела к CD38, применяемые для лечения больных ММ и циркулирующие в плазме, связываются как с эритроцитами самого больного и эритроцитами доноров, планируемых для переливания, так и с тест-эритроцитами, которые используются для исследования антиэритроцитарных антител, вызывая феномен «панагглютинации» (CD38-специфическая агглютинация) в иммунологических реакциях в НАТ и с конглоутинами. Фиксированные на тест-эритроцитах антитела к CD38 будут препятствовать идентификации аллоиммунных антител в сыворотке больного; антитела к CD38, фиксированные на донорских эритроцитах, будут создавать эффект их несовместимости с сывороткой больного, а фиксированные на эритроцитах больного неполные антитела к CD38 будут препятствовать выявлению антигенов эритроцитов при работе со специфическими неполными антителами. Количество белка CD38 на эритроцитах незначительно [4]. Поэтому CD38-специфическая агглютинация при наличии большого количества антител к CD38 (концентрация 1–10 мкл/мл) обычно выражена слабо (в гелевых картах на 1+) , но по мере снижения концентрации антител (до 0,1–0,5 мкл/мл) сила агглютинации снижается до визуализации ее только под микроскопом [5]. Таким образом, CD38-специфическая агглютинация является дозозависимой.

Антитела к CD38 не влияют на результаты иммунологических реакций при использовании реактивов на основе полных IgM специфических антител. Такими реактивами проводят определение антигенов эритроцитов систем АВО, Резус [5, 8] и других. Поэтому сложностей в определении групповой и резус-принадлежности больного после введения ему антител к CD38 возникать не должно.

Длительность циркуляции антител к CD38 в организме больного после прекращения лечения колеблется от 2 до 6 мес [5, 9], т. е. все это время в иммунологических реакциях с применением конглоутинов, в прямой и непрямой реакциях Кумбса (в классической постановке в пробирках или в гелевых картах с антиглобулиновой сывороткой) может наблюдаться положительная CD38-специфическая агглютинация. Поэтому специалисты службы крови и иммуногематологических лабораторий должны быть информированы о лечении больного антителами к CD38.

Способы устранения CD38-специфической агглютинации

Главная задача иммуногематологов — обеспечение иммунологической безопасности трансфузий эритроцитсодержащих сред (ЭСС). Для этого необходимо правильно выбрать донорские ЭСС, совместимые с

сывороткой больного. Необходимо обеспечить выявление антигенного профиля больного, идентификацию аллоиммунных антител у него и грамотно оценить результаты проб на совместимость перед переливанием аллогенных эритроцитов. Для выполнения поставленных задач важен поиск методик по устранению влияния антител к CD38 на результаты непрямого антиглобулинового теста.

Существует два подхода к устранению влияния антител к CD38 на иммунологические реакции — это либо нейтрализация самих антител в плазме/сыворотке больного *in vitro*, либо денатурация белка CD38 непосредственно на эритроцитах. Для обеспечения иммунологической безопасности трансфузий ЭСС необходимо подбирать компоненты с учетом антигенного профиля реципиента и донора, т. е. можно проводить расширенное фенотипирование эритроцитов больного до введения антител к CD38 и/или генотипирование, которое возможно на любом этапе лечения [10].

Нейтрализация антител к CD38 в плазме/сыворотке больного *in vitro* перед проведением серологических реакций

Нейтрализация антител к CD38 в сыворотке больного достигается добавлением растворимых антигенов CD38 или антиидиотипических антител. Однако такие реактивы находятся в стадии разработки и в настоящее время недоступны для широкого применения [10].

Денатурация белка CD38 на эритроцитах

Белок CD38 имеет шесть дисульфидных связей, определяющих пространственную конфигурацию самого белка и являющихся критическими для его структуры. Некоторые химические вещества, такие как дитиотреитол [11], 2-меркаптоэтанол [12] и трипсин [8], способны разрушать эти важные дисульфидные мостики. Под воздействием указанных реагентов происходит денатурация внеклеточного домена молекулы CD38, который утрачивает способность связывать терапевтические антитела к CD38. Дитиотреитол (ДТТ) снижает связывание антител к CD38 с эритроцитами на 92%, в то время как трипсин только на 40% [8].

Денатурация белка CD38 на эритроцитах дитиотреитолом

ДТТ является дешевым и доступным химическим веществом, которое лучше всего подходит для обработки эритроцитов как самого больного ММ, так и тест-эритроцитов клеточных панелей, а также донорских эритроцитов, планируемых для переливания. Антигены некоторых эритроцитарных систем разрушаются под воздействием ДТТ, что может исказить результаты скрининга антител у больного, проб на совместимость по неполным антителам из-

за появления ложноотрицательных результатов. Под действием ДТТ разрушаются антигены, имеющие в своей структуре дисульфидные связи: систем Kell (символ ISBT KEL), Dombrock (символ ISBT DO), Indian (символ ISBT IN), John Milton Hagen (символ ISBT JMH), Knops (символ ISBT KN), Landsteiner-Wiener (символ ISBT LW), Lutheran (символ ISBT LU), Raph (символ ISBT RAPH), Cartwright (символ ISBT YT) [10]. Антитела к антигенам перечисленных систем могут вызывать посттрансфузионные реакции разной степени тяжести. Для жителей Российской Федерации наиболее значимым является антиген Келл системы Kell, который имеет высокую иммуногенную активность [7].

Цель исследования: отработать и адаптировать методику устранения CD38-специфической агглютинации в антиглобулиновом тесте путем обработки эритроцитов ДТТ.

Задачами исследования были: изучить антигенный профиль эритроцитов до и после обработки ДТТ; изучить иммуногематологические характеристики сывороток и эритроцитов больных ММ, получающих терапию антителами к CD38.

Материалы и методы

В иммуногематологическую лабораторию ФГБУ «НМИЦ гематологии» в период с июля 2016 г. по апрель 2017 г. была направлена кровь 9 больных ММ (7 мужчин и 2 женщины) в возрасте от 51 до 74 лет (медиана 62 года), подписавших информированное согласие на участие в клиническом исследовании. На предыдущих этапах лечения 6 больных получали многочисленные курсы, включавшие три таргетных препарата (бортезомиб, талидомид, леналидомид), 1 больной — 4 препарата (бортезомиб, карфилзомиб, леналидомид, помалидомид). Кроме того, 4 больным была выполнена трансплантация аутологичных стволовых клеток. У всех больных была подтверждена двойная рефрактерность опухоли к применявшимся ингибиторам протеасом и иммуномодулирующим препаратам, в связи с чем им была начата монотерапия препаратом даратумумаб — МА к CD38 (в дозе 16 мг/кг на каждое введение).

Материалом для исследования служили сыворотки и эритроциты больных ММ до и в процессе лечения антителами к CD38 (на фоне 1–6 курсов терапии, то есть после 1–15 введений даратумумаба), стандартные эритроциты 3- и 11-клеточной панелей фирмы «BioRad», эритроциты доноров компонентов крови.

Приготовление рабочего раствора дитиотреитола

Для приготовления базового 1 М раствора ДТТ 154 мг ДТТ разводили в 10 мл фосфатного буфера с pH 8,0. Для полного растворения емкость с раствором ДТТ на 10 мин помещали в термостат или водяную баню с температурой 37 °С. Получившийся раствор разливали в

пластиковые пробирки по 1 мл и хранили при -18°C или менее. Замораживать можно только базовый 1 М раствор ДТТ.

Для обработки эритроцитов необходим 0,2 М раствор ДТТ. Его либо получали из базового 1 М раствора, либо готовили свежий 0,2 М раствор.

Для приготовления 0,2 М раствора ДТТ базовый 1 М раствор ДТТ размораживали при комнатной температуре, хорошо перемешивали путем встряхивания и разводили в 5 раз фосфатным буфером с рН 8,0 (к 1 мл ДТТ добавляли 4 мл фосфатного буфера).

Для приготовления свежего 0,2 М раствора ДТТ к 1 г ДТТ добавляли 32 мл фосфатного буфера с рН 8,0. Для полного растворения емкость с раствором ДТТ на 10 мин помещали в термостат или водяную баню с температурой 37°C . Неиспользованный 0,2 М раствор ДТТ нельзя замораживать для повторного использования, поэтому 0,2 М раствор ДТТ должен быть только свежеприготовленным!

Тестовые контроли

До проведения основного исследования выбирали и готовили взвеси эритроцитов для контроля эффективности действия ДТТ, т. е. эритроциты с антигенами, подверженными (антигены системы Келл) и не подверженными (антигены системы Резус и т. д.) действию ДТТ:

- для отрицательного контроля использовали эритроциты E+ (фенотип E+ E+ или E+ e+) или любого фенотипа системы Резус;
- для положительного контроля использовали эритроциты, содержащие антигены Келл и/или Челлано (фенотип K+k+, K+K+, K-k+).

Обработка эритроцитов дитиотреитолом

Подготавливали 3–5% суспензию контрольных эритроцитов; для приготовления 5% взвеси эритроцитов к 0,5 мл 0,9% физиологического раствора (заводского производства) добавляли 25 мкл осадка эритроцитов или 50 мкл цельной крови либо брали уже готовую 3–5% взвесь тест-эритроцитов скрининговой панели I, II, III или 10–11-клеточной панели для идентификации специфичностей аллоантител; таким же образом подготавливали 3–5% суспензию исследуемых эритроцитов больного или донорских эритроцитов; подписывали пробирки.

По 200 мкл подготовленных суспензий клеток переносили в соответствующим образом промаркированные пробирки и однократно отмывали 0,9% раствором натрия хлорида (заводского производства) или фосфатным буфером с рН 7,4. По 100 мкл 3–5% суспензии отмываемых клеток осаждали центрифугированием, к осадку эритроцитов добавляли 400 мкл 0,2 М ДТТ, после чего перемешивали путем встряхивания и на 30–45 мин помещали в водяную баню при 37°C (встряхивая каждые 10 мин). После инкубации эри-

троциты 4 раза отмывали 0,9% раствором натрия хлорида (заводского производства) или фосфатным буфером с рН 7,4.

При контроле эффективности обработки эритроцитов клетки с ДТТ должны сохранить антигены системы Резус, но утратить антигены Келл и Челлано. Если результаты определения антигенов не соответствовали ожидаемым, процедуру обработки эритроцитов ДТТ повторяли. Если процесс обработки эритроцитов ДТТ оценивали как эффективный, то эритроциты использовали для проведения прямой и непрямой пробы Кумбса. Проведение прямого и непрямой антиглобулинового теста (пробы Кумбса) осуществляли в пробирках или гелевых картах LISS/Coombs.

Прямой антиглобулиновый тест в пробирках

Прямой антиглобулиновый тест (АГТ) проводили в один этап по методике производителя антиглобулиновой сыворотки (ООО «Гематолог», Россия). Он предназначен для выявления антиэритроцитарных антител, фиксированных на эритроцитах *in vivo*. Результаты прямой пробы Кумбса, выполненной в пробирках с антиглобулиновой сывороткой, оценивали визуально и микроскопически.

Непрямой антиглобулиновый тест в пробирках

Непрямой антиглобулиновый тест проводили в два этапа по методике производителя антиглобулиновой сыворотки (ООО «Гематолог», Россия). На первом этапе происходит фиксация антител на эритроцитах *in vitro*, на втором осуществляется их выявление в реакции агглютинации с помощью антиглобулиновой сыворотки. Применение раствора LISS позволяет сократить продолжительность первого этапа.

Прямую и непрямую пробу Кумбса в гелевых картах выполняли по методикам производителей карт. Агглютинацию в гелевых колонках оценивали в баллах от 0 (отсутствие агглютинации) до 4+ (присутствие агглютинации).

Определение фенотипа эритроцитов систем АВО, Резус, Келл, MNS, Кидд (Jk), Даффи (Fu) у больных ММ выполняли соответствующими специфическими МА по методикам производителя (ООО «Гематолог», Россия).

Результаты и обсуждение

Результаты лабораторных испытаний воздействия ДТТ на антигены эритроцитов

При отработке и адаптации метода обработки эритроцитов ДТТ все исследования повторяли 10 раз с разными образцами клеток. В начале работы проверяли устойчивость растворов ДТТ разной молярности к воздействию температуры -18°C . Для этого 1 М и 0,2 М растворы замораживали и хранили от 24 до 120 ч. Исследования показали, что свежеприготовлен-

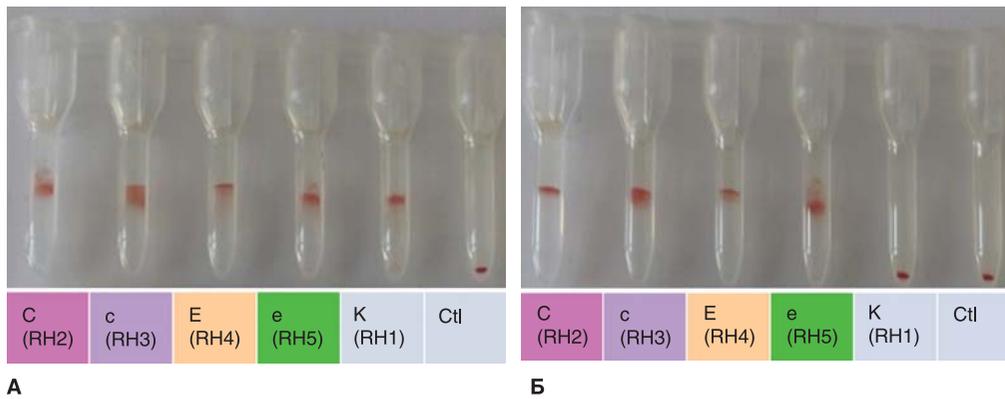


Рисунок 1. Результаты реакции гемагглютинации в гелевых картах, предназначенных для определения фенотипа системы Резус и антигена К. **А.** Эритроциты не обработаны ДТТ (контроль). **Б.** После обработки эритроцитов ДТТ антигены системы Резус сохраняют свою способность реагировать со специфическими антителами (агглютинированные эритроциты расположены наверху геля), в то время как эритроциты с антигеном К теряют эту способность (неагглютинированные эритроциты расположены на дне пробирки с гелем). Ctl — отрицательный контроль.

ный 0,2 М раствор и 0,2 М раствор ДТТ, приготовленный из размороженного 1 М раствора, сохраняли свою активность, в то время как активность 0,2 М раствора ДТТ снижалась после всех периодов заморозки.

После обработки эритроцитов ДТТ проводили их отмывку. Сравнение результатов агглютинации эритроцитов с анти-Е и анти-Келл антителами после отмывки их фосфатно-буферным или 0,9% раствором натрия хлорида не выявило различия, что указывало на возможность использования 0,9% раствора хлорида натрия.

По методике зарубежных авторов [13] предложено использовать в качестве контроля эффективности обработки эритроцитов ДТТ Е+ и К+ эритроциты. Однако эти антигены нечасто встречаются у жителей Российской Федерации: антиген Е у 30% и антиген К у 10%. Поэтому мы предлагаем применять в качестве контроля любые антигены системы Резус и

системы Келл. Исследования доказали возможность применения такого подхода. На рис. 1 и 2 приведены результаты фенотипирования эритроцитов по антигенам СсЕе Кк в гелевых картах до и после их обработки ДТТ.

Результаты лабораторных исследований сывороток и эритроцитов больных множественной миеломой, получавших терапию моноклональными антителами к CD38

Серологическими методами у 9 больных до и после введения даратумумаба была определена групповая принадлежность по антигенам систем АВО, Резус, Келл с использованием МА класса IgM соответствующей специфичности, а также было выполнено расширенное фенотипирование по антигенам систем MNS, Даффи и Кидд. Антигены систем MNS и Даффи определяли посредством МА IgM класса, антигены системы Кидд — посредством МА IgG-класса. Затруднений в определении групповой принадлежности антигенов систем АВО, Резус, Келл, MNS и Даффи у больных ни до, ни после введения даратумумаба не было. Антигены системы Кидд были идентифицированы у больных дважды — до введения даратумумаба с нативными эритроцитами больного и после введения препарата с эритроцитами, обработанными ДТТ (табл. 1).

Скрининг антиэритроцитарных антител выполняли больным до введения даратумумаба в непрямой пробе Кумбса в гелевых картах LISS/Coombs с использованием трехклеточной скрининговой панели тест-эритроцитов (фенотипы ccdee, CCDee, ccDEE). Образцы сывороток больных после введения даратумумаба тестировали с тест-эритроцитами 3- и 11-клеточной панелей, обработанными и не обработанными ДТТ. Результаты скрининга антиэритроцитарных антител у всех больных до введения даратумумаба были отрицательными, т. е. в их сыворотках отсутствовали аллоиммунные антитела. Трансфузии эритроцитов не

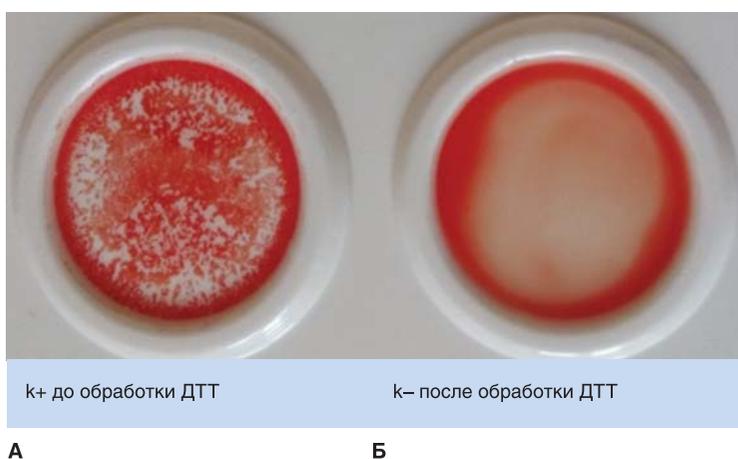


Рисунок 2. Результаты реакции гемагглютинации с анти-к антителами до (**А**) и после (**Б**) обработки эритроцитов ДТТ. Эритроциты с антигеном k после обработки ДТТ не агглютинируются специфическими антителами (**Б**).

Таблица 1. Результаты расширенного фенотипирования больных множественной миеломой до и после введения даратумумаба

Больные	Системы антигенов															
	ABO	Резус					Келл		MNS				Кидд		Даффи	
		C	c	D	E	e	K	k	M	N	S	s	Jka	Jkb	Fya	Fyb
Больной Д.	B	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
Больная Б.	A	Cw	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Больной К.	B	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+
Больной Г.	B	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Больной С.	O	Cw	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+
Больной М.	AB	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+
Больной З.	O	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Больной К. Я.	O	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Больной Т.	AB	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+

Таблица 2. Результаты иммуногематологических исследований больных множественной миеломой

Больные	Возраст, лет	Пол	Результаты исследований сывороток и эритроцитов больных до введения даратумумаба		Количество введенных даратумумаба	Результаты исследований после введения даратумумаба			
			Скрининг антител в непрямом АГТ	Прямой АГТ		Скрининг антител в непрямом АГТ		Прямой АГТ	Аутоконтроль
						до обработки ДТТ	после обработки ДТТ		
Больной З.	54	М	Отр.	Отр.	10	2+	Отр.	Отр.	Отр.
Больной К.	74	М	Отр.	Отр.	2	1+	Отр.	Отр.	Отр.
Больная Б.	64	Ж	Отр.	Отр.	13	2+	Отр.	Отр.	Отр.
Больной К. Я.	65	М	Отр.	Отр.	4	1+	Отр.	Отр.	Отр.
Больной Д.	70	М	Отр.	Отр.	5	2+	Отр.	Отр.	Отр.
Больной М.	57	М	Отр.	Отр.	14	2+	Отр.	Отр.	Отр.
Больной Г.	62	М	Отр.	Отр.	15	1+	Отр.	Отр.	Отр.
Больной Т.	51	М	Отр.	Отр.	12	1+	Отр.	Отр.	Отр.
Больной З.	54	М	Отр.	Отр.	8	1+	Отр.	Отр.	Отр.

АГТ – антиглобулиновый тест.

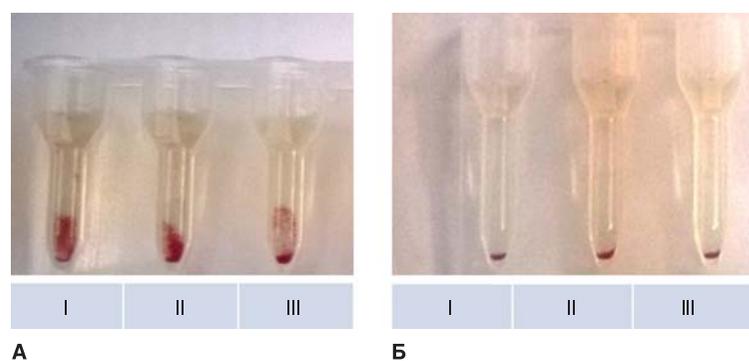


Рисунок 3. Больная З. Диагноз множественная миелома. **А.** Результаты непрямого пробы Кумбса; положительный результат (2+) после введения даратумумаба. **Б.** Отрицательный результат после введения даратумумаба и обработки эритроцитов трехклеточной панели ДТТ.

проводили. После введения даратумумаба скрининг антител повторили для моделирования ситуации поиска антител: у 5 пациентов наблюдали положительный результат на 1+, у 4 — на 2+ (табл. 2 и рис. 3, А). После обработки тест-эритроцитов ДТТ наблюдали отрицательный результат непрямого антиглобулинового теста (рис. 3, Б). Полученные данные суммированы в табл. 2.

Чтобы смоделировать ситуацию идентификации аллоиммунных антител, провели исследования сывороток всех больных после введения даратумумаба с тест-эритроцитами идентификационной 11-клеточной панели. Результат непрямого антиглобулинового теста был положительным на 2+ с не обработанными ДТТ эритроцитами (рис. 4, А) и отрицательным с эритро-

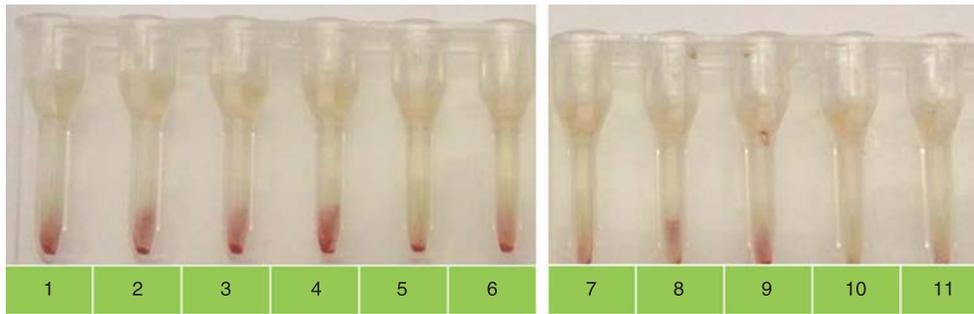
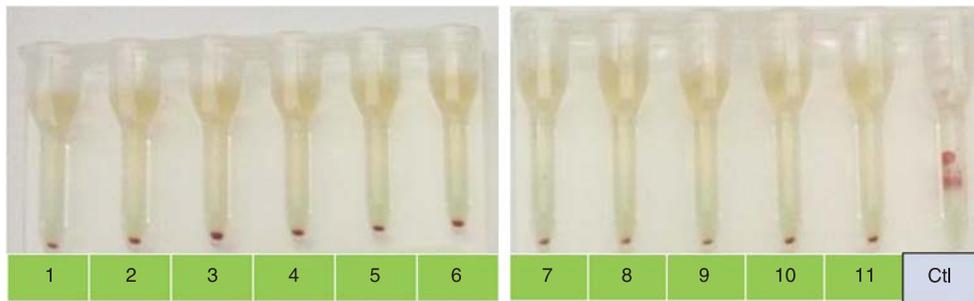
**А****Б**

Рисунок 4. Результаты непрямого антиглобулинового теста с не обработанными (**А**) и обработанными (**Б**) ДТТ тест-эритроцитами 11-клеточной панели и сывороткой больного, получавшего антитела к CD38. **А.** Положительный результат. **Б.** Отрицательный результат. Ctl — положительный контроль: цоликлон анти-D с неполными антителами и D⁺ эритроциты.

цитами, обработанными ДТТ (рис. 4, Б). ДТТ разрушает антигены системы Келл, поэтому присутствие у больного, получающего даратумумаб, аллоиммунных анти-К антител можно не выявить. Для предупреждения посттрансфузионных осложнений важно применять совместимые по антигенам системы Келл ЭСС [7].

Прямую пробу Кумбса проводили в пробирках и гелевых колонках LISS/Coombs с полиспецифической антиглобулиновой сывороткой. У всех 9 больных ММ до и после введения антител к CD38 прямая проба Кумбса была отрицательной (см. табл. 2), что указывало на отсутствие фиксированных аутоантител на эритроцитах до введения даратумумаба и фиксированных антител к CD38 после введения препарата. Аутоконтроль у данной категории пациентов также был отрицательным (рис. 5). Отрицательные результаты прямой и непрямой пробы Кумбса, выполненной между аутосыворотками и аутоэритроцитами больных после введения антител к CD38, объясняли следующим образом: на разных эритроцитах одного и того же человека присутствует разное количество белка CD38. После введения антител к CD38 эритроциты с высокой экспрессией этого белка разрушаются в селезенке [5]. В кровеносном русле больного остаются эритроциты с низкой экспрессией CD38 или вообще без нее. Малое количество антигенных детерминант адсорбирует мало антител к CD38, количество которых недостаточно для выявления в непрямом антиглобулиновом тесте [5]. Sullivan et al. доказали [14], что даратумумаб индуцирует исчезновение белка CD38

с мембраны эритроцитов больного в течение 7 дней после первого введения. После прекращения лечения экспрессия CD38 восстанавливается.

Больным ММ, получавшим антитела к CD38, для купирования проявлений анемического синдрома могут потребоваться трансфузии ЭСС. Перед каждой трансфузией врач, выполняющий ее, обязан провести пробы на совместимость по полным и неполным антителам между сывороткой больного и донорскими

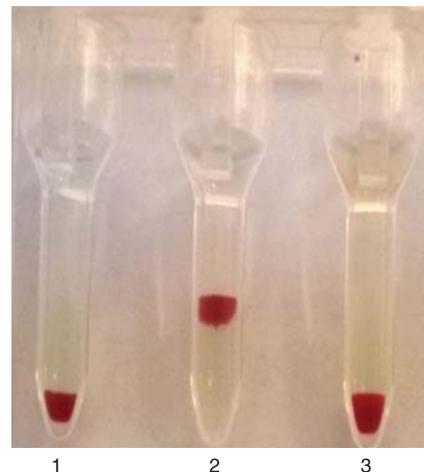


Рисунок 5. Больная Б. Диагноз множественная миелома. Отрицательные результаты прямой пробы Кумбса (пробирка 1) и аутоконтроля (пробирка 3) в гелевых картах LISS/Coombs. В пробирке 2 показан результат положительного контроля (эритроциты D⁺ и анти-D неполные антитела).

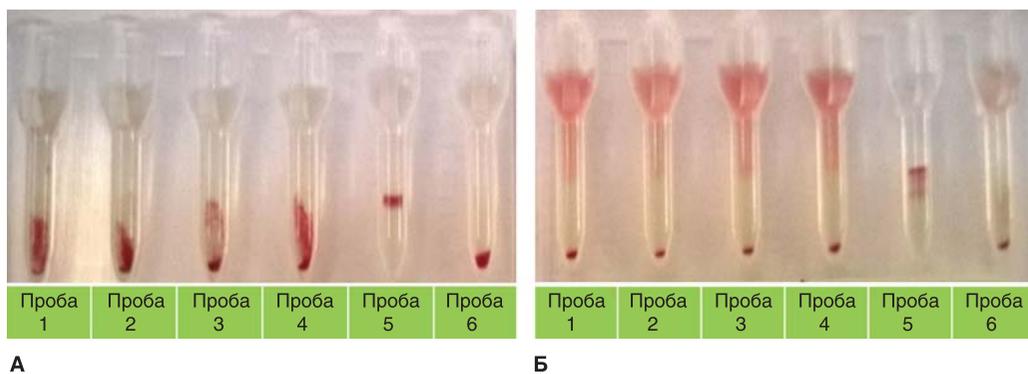
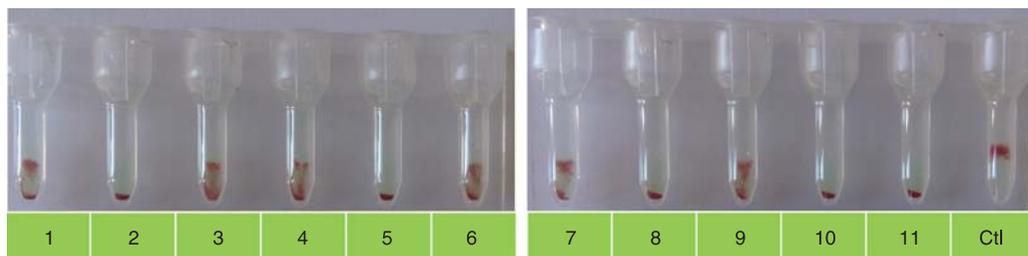


Рисунок 6. Больная С. Диагноз множественная миелома. Результаты непрямого антиглобулинового теста с двумя образцами не обработанных (А) и обработанных (Б) ДТТ аллогенных эритроцитов и двумя образцами сыворотки после введения даратумумаба. Проба № 5 на рисунках А и Б — положительный контроль (эритроциты D+ и анти-D неполные антитела). Проба № 6 — отрицательный контроль (эритроциты D- и анти-D неполные антитела).



А



Б

Рисунок 7. Больная Д. Диагноз множественная миелома. Результаты идентификации специфичности аллоиммунных антител в сыворотке, содержащей антитела к CD38 с не обработанными (А) и обработанными (Б) ДТТ тест-эритроцитами 11-клеточной панели. А. Результаты непрямого антиглобулинового теста с не обработанными ДТТ тест-эритроцитами интерпретации не подлежат (положительный результат в колонках 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9; cII — положительный контроль: цоликлон анти-D с неполными антителами и D+ эритроциты). Б. После обработки тест-эритроцитов ДТТ в сыворотке четко определено присутствие анти-Fya антител (положительный результат в колонках 1, 3, 4, 6, 7, 9; cII — положительный контроль: цоликлон анти-D с неполными антителами и D+ эритроциты).

эритроцитами, планируемыми для переливания. Даратумумаб не затрудняет интерпретацию результатов реакции прямой агглютинации (холодовой пробы на совместимость по IgM-антителам), но будет связываться с CD38-рецепторами донорских эритроцитов в непрямом антиглобулиновом тесте. CD38-специфическая агглютинация может маскировать истинную несовместимость по IgG-антителам. Подбор донорских эритроцитов перед трансфузиями осуществляли посредством реакции солевой агглютинации и не прямой пробы Кумбса в гелевых колонках.

Мы провели пробу на совместимость в непрямом антиглобулиновом тесте между двумя образцами эритроцитов доноров и сывороткой больной С. после

введения даратумумаба. Результат непрямого антиглобулинового теста был положительным на 2+ с не обработанными ДТТ эритроцитами (рис. 6, А) и отрицательным с обработанными ДТТ эритроцитами (рис. 6, Б), т. е. планируемые для переливания эритроциты были совместимы с сывороткой реципиента. Однако следует учитывать, что ДТТ разрушает эритроцитарные антигены, имеющие в своей структуре дисульфидные связи, в частности антигены системы Келл, поэтому пробы на совместимость по неполным антителам, выполняемые в непрямом антиглобулиновом тесте, могут быть ложноотрицательными. Для предупреждения посттрансфузионных осложнений вследствие несовместимости по редким антителам пациентам можно

проводить расширенное фенотипирование по клинически значимым антигенам эритроцитов до введения антител к CD38 и переливать эритроциты доноров с учетом антигенной структуры реципиента.

У больных ММ, которым вводили даратумумаб, в сыворотке могут присутствовать эритроцитарные аллоиммунные антитела, выработавшиеся в результате предшествующих беременностей или трансфузий ЭСС. При скрининге аллоантител в сыворотке больных ММ неполные антитела к CD38, взаимодействуя с тест-эритроцитами в непрямом антиглобулиновом тесте, вызывают их агглютинацию, которая может маскировать положительные реакции, обусловленные аллоантителами [15–17]. Поэтому скрининг антител у больных после введения даратумумаба следует проводить с тест-эритроцитами после их обработки ДТТ. На рис. 7 представлены результаты идентификации аллоиммунных антител в сыворотке больного Д., содержащей антитела к CD38, с не обработанными (А) и обработанными (Б) ДТТ тест-эритроцитами 11-клеточной панели. Результаты непрямого антиглобулинового теста с не обработанными ДТТ тест-эритроцитами (А) интерпретации не подлежат. После обработки тест-эритроцитов (Б) ДТТ в сыворотке четко определено присутствие анти- F_{u} антител. CD38-специфическую агглютинацию наблюдали не со всеми тест-эритроцитами (рис. 7, А), что можно объяснить разной экспрессией белка CD38 на эритроцитах 11-клеточной панели: при малом количестве антигена CD38 на эритроцитах CD38-специфическая агглютинация формироваться не будет.

Заключение

- Антитела к CD38 влияют на результаты тестов, выполняемых перед трансфузией в непрямой пробе Кумбса (проба на совместимость по антителам класса IgG, скрининг антиэритроцитарных антител, а также определение антигенов эритроцитов с помощью неполных специфических антител).
- В настоящее время разработаны методы обработки эритроцитов ДТТ, которые специалисты иммуногематологических лабораторий и отделений переливания крови могут использовать для устранения влияния антител к CD38 на результаты тестов, проводимых перед трансфузией.
- Антитела к CD38 не взаимодействуют с эритроцитами, обработанными ДТТ.
- ДТТ денатурирует антигены, имеющие в своей структуре дисульфидные связи, что обязательно надо учитывать при постановке проб на индивидуальную совместимость перед трансфузиями ЭСС, при скрининге и идентификации специфичностей аллоиммунных антиэритроцитарных антител, выполняемых в непрямом антиглобулиновом тесте.
- Для предупреждения посттрансфузионных осложнений вследствие несовместимости по редким антителам пациентам можно проводить расширенное фе-

нотипирование по клинически значимым антигенам эритроцитов до введения антител к CD38 и переливать эритроциты доноров с учетом антигенной структуры реципиента.

- Специалисты иммуногематологических лабораторий и отделений переливания крови должны быть предупреждены о лечении больного ММ антителами к CD38.

Рекомендации по обследованию больных множественной миеломой для иммуногематологов и лечащих врачей

Обязательно следует оповещать специалистов службы крови и иммуногематологических лабораторий о лечении больного антителами к CD38.

Перед назначением препаратов антител к CD38 необходимо выполнить определение группы крови и скрининг антиэритроцитарных антител у больного. Желательно провести расширенное фенотипирование эритроцитов больных по клинически значимым антигенам.

После или **в процессе** лечения антителами к CD38: - Антигены систем АВО, Резус и Келл можно выявить специфическими антителами класса IgM на протяжении всего курса терапии антителами к CD38.

- Для скрининга или идентификации специфичности антител, для постановки проб на совместимость по неполным антителам в непрямой пробе Кумбса необходимо использовать эритроциты, обработанные дитиотреитолом.

- Поскольку дитиотреитол разрушает антигены системы Келл, то после проведения пробы на совместимость в непрямой пробе Кумбса больному необходимо переливать К– (отрицательные) эритроциты, за исключением больных с фенотипом КК.

Литература

1. Kumar S, Lee J, Lahuerta J et al. Risk of progression and survival in multiple myeloma relapsing after therapy with IMiDs and bortezomib: A multicenter international myeloma working group study. *Leukemia* 2012; 26: 149–157.
2. Usmani S, Ahmadi T, Ng Y et al. Analysis of real-world data on overall survival in multiple myeloma patients with ≥ 3 prior lines of therapy including a proteasome inhibitor (PI) and an immunomodulatory drug (IMiD), or double refractory to a PI and an IMiD. *Oncologist* 2016; 21: 1–7.
3. Sherbenou D, Behrens C, Su Y et al. The development of potential antibody-based therapies for myeloma. *Blood Rev* 2015; 29: 81–91.
4. Moreau P, van de Donk N, San Miguel J et al. Practical considerations for the use of Daratumumab, a novel CD38 monoclonal antibody, in myeloma. *Drugs* 2016; 76: 853–867.
5. Oostendorp M, Lammerts van Bueren J, Doshi P et al. When blood transfusion medicine becomes complicated due to interference by monoclonal antibody therapy. *Transfusion* 2015; 55: 1555–1562.
6. Chari A, Satta T, Tayal A et al. Outcomes and management of red blood cell transfusions in multiple myeloma patients treated with daratumumab. *Blood* 2015; 26: Abstr 3571.

7. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 22.04.2014 №183н г. Москва. Об утверждении перечня лекарственных средств для медицинского применения, подлежащих предметно-количественному учету. Доступно по адресу: <https://rg.ru/2014/08/05/lekarstva-dok.html>.
8. Chapuy C, Nicholson R, Aguad M et al. Resolving the daratumumab interference with blood compatibility testing. *Transfusion* 2015; 55:1545–1554.
9. Darzalex package insert. Horsham, PA: Janssen Biotech, 2015. Доступно по адресу: <http://www.darzalex.com/shared/product/darzalex/darzalex-prescribing-information.pdf> (по состоянию на 7 января 2016 г.).
10. Chapuy C, Aguad M, Nicholson R et al. International validation of a dithiothreitol (DTT)-based method to resolve the daratumumab interference with blood compatibility testing. *Transfusion* 2016; 56:2964–2972.
11. Berthelie V, Laboureau J, Boulla G et al. Probing ligand-induced conformational changes of human CD38. *Eur J Biochem* 2000; 267:3056–3064.
12. Guida L, Franco L, Zocchi E et al. Structural role of disulfide bridges in the cyclic ADP-ribose related bifunctional ectoenzyme CD38. *FEBS Lett* 1995; 368:481–484.
13. Fung MK, Grossman BJ, Hillayer CD, Westhoff CM, eds. *Technical Manual*. 18th ed. —AABB PressM, 2014. Method 3.18.
14. Sullivan HC, Gener-Smidt C, Nooka AK et al. Daratumumab (anti-CD38) induces loss of CD38 on red blood cells. *Blood* 2017; 129:3033–3037.
15. Velliquette RW, Shakarian G, Jhang J et al. Daratumumab-derived anti-CD38 can be easily mistaken for clinically significant antibodies to Lutheran antigens or to Knops antigens (abstract). *Transfusion* 2015; 55:26A.
16. Aye T, Arndt PA, Leger RM et al. Myeloma patients receiving daratumumab (anti-CD38) can appear to have an antibody with Lutheran-related specificity (abstract). *Transfusion* 2015; 55:28A.
17. Hannon JL, Caruk B, Clarke G. Serological findings related to treatment with a human monoclonal antibody (daratumumab) in patients with advanced plasma cell myeloma (abstract). *Transfusion* 2014; 54:162A.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ТРАНЕКСАМОВОЙ КИСЛОТЫ, ФАКТОРА XIII И КОНЦЕНТРАТА ФИБРИНОГЕНА НА ФОРМИРОВАНИЕ И ЛИЗИС КРОВЯНОГО СГУСТКА ПРИ ИЗБЫТОЧНОМ ФИБРИНОЛИЗЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ ТКАНЕВЫМ И УРОКИНАЗНЫМ АКТИВАТОРОМ ПЛАЗМИНОГЕНА

Effects of tranexamic acid, factor XIII, and fibrinogen on clot formation and lysis in the model of hyperfibrinolysis induced by tissue- vs urokinase-type plasminogen activator

Будник И. А.¹, Морозова О. Л.¹, Цымбал А. А.¹, Шенкман Б.², Эйнав Ю.³

Budnik I. A.¹, Morozova O. L.¹, Tsymbal A. A.¹, Shenkman B.², Einav Yu.³

¹ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

¹ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

² Медицинский центр им. Х. Шибы, Тель-ха-Шомер, Израиль

² Sheba Medical Center, Tel-Hashomer, Israel

³ Холонский технологический институт, Холон, Израиль

³ Holon Institute of Technology, Holon, Israel

Цель исследования. Сравнить влияние транексамовой кислоты (ТКК), фактора XIII (FXIII) и концентрата фибриногена на формирование и лизис кровяного сгустка в условиях гиперфибринолиза, индуцированного с помощью тканевого (tPA) или урокиназного (uPA) активатора плазминогена *in vitro*.

Материалы и методы. В образцы цитратной крови, полученной от 28 взрослых здоровых добровольцев, добавляли 10 мкг/мл ТКК, 2 МЕ/мл концентрата FXIII или 3 мг/мл концентрата фибриногена. Фибринолиз индуцировали добавлением к крови активатора плазминогена (tPA или uPA) в полумаксимальных эффективных концентрациях (90 и 33 МЕ/мл соответственно). Свертывание крови индуцировали рекальцификацией и добавлением препарата тканевого фактора. Формирование и лизис сгустка изучали методом ротационной тромбоэластометрии.

Результаты. Добавление к крови ТКК вызывало увеличение плотности сгустка в присутствии tPA и оказывало выраженный антифибринолитический эффект вне зависимости от вида действующего активатора плазминогена. Добавление FXIII в условиях как tPA-, так и

Aim of the study. To compare the effects of tranexamic acid (TXA), factor XIII concentrate (FXIII) and fibrinogen concentrate on clot formation and fibrinolytic resistance in the *in vitro* model of hyperfibrinolysis induced by tissue- (tPA) vs urokinase-type (uPA) plasminogen activators.

Materials and methods. Citrated whole blood from 28 adult healthy volunteers was supplemented with 10 µg/mL TXA, 2 IU/mL FXIII, or 3 mg/mL fibrinogen concentrate. Hyperfibrinolysis was induced by spiking the blood with tPA or uPA at their half-maximal effective concentrations (90 and 33 IU/mL, respectively). Clotting was induced by recalcification and addition of tissue factor and monitored using rotation thromboelastometry.

Results. The use of TXA increased maximal clot firmness in the presence of tPA and markedly inhibited clot lysis in the presence of any of the plasminogen activators. Supplementation of blood with FXIII significantly increased clot firmness and improved fibrinolytic resistance in the presence of either tPA or uPA. Supplementation with fibrinogen concentrate elicited a strikingly different effect on clot formation and lysis depending on the type of plasminogen activator. In the presence of tPA, fibrinogen

uPA-индуцированного гиперфибринолиза способствовало увеличению плотности сгустка и повышению его устойчивости к лизису. Добавление концентрата фибриногена в присутствии tPA приводило к повышению плотности и фибринолитической устойчивости сгустка. В отличие от этого, в присутствии uPA добавление концентрата фибриногена вызывало противоположный — профибринолитический — эффект, который выражался в снижении плотности сгустка и увеличении скорости его лизиса. Аналогичный эффект фибриногена обнаруживался в обогащенной тромбоцитами плазме и плазме без клеточных микрочастиц.

Заключение. Эффект от применения гемостатиков в условиях гиперфибринолиза существенно зависит от вида действующего активатора плазминогена. При выборе метода коррекции гемостатического потенциала крови необходим анализ механизмов индукции гиперфибринолиза.

Ключевые слова: гиперфибринолиз; гемостатики; транексамовая кислота; фактор XIII; концентрат фибриногена; тканевой активатор плазминогена; урокиназный активатор плазминогена

Для цитирования: Будник И. А., Морозова О. Л., Цымбал А. А., Шенкман Б., Эйнав Ю. *Анализ влияния транексамовой кислоты, фактора XIII и концентрата фибриногена на формирование и лизис кровяного сгустка при избыточном фибринолизе, индуцированном тканевым и урокиназным активатором плазминогена.* Гематология и трансфузиология 2018; 63(1):55–64

doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.86..1..005>

Для корреспонденции: Будник Иван Александрович, доцент кафедры патофизиологии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения России (Сеченовский Университет), 119048, г. Москва, Россия. Электронная почта: budnik.ivan@gmail.com

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

Поступила 03.11.17

Принята к печати 16.05.18

concentrate significantly increased clot firmness and attenuated clot lysis. In contrast, in the presence of uPA, the use of fibrinogen markedly reduced clot firmness and promoted clot lysis. Similar effects of fibrinogen concentrate were observed in platelet-rich and microparticles-free plasma.

Conclusion. In hyperfibrinolysis, effect of the hemostatic drugs significantly depends on the type of plasminogen activator used. Therefore, mechanisms of hyperfibrinolysis should be taken into consideration while administering hemostatic drugs.

Keywords: fibrinolysis; hemostatics; tranexamic acid; factor XIII; fibrinogen; tissue plasminogen activator; urokinase-type plasminogen activator

For citation: Budnik I. A., Morozova O. L., Tsybmal A. A., Shenkman B., Einav Yu. *Effects of tranexamic acid, factor XIII, and fibrinogen on clot formation and lysis in the model of hyperfibrinolysis induced by tissue- vs urokinase-type plasminogen activator.* Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya) 2018; 63(1):55–64 (in Russian)

doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.86..1..005>

For correspondence: Budnik Ivan, MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathophysiology, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119048, Russian Federation
E-mail: budnik.ivan@gmail.com

Information about authors:

Budnik I. A., <http://orcid.org/0000-0002-6652-2667>. Scopus Author ID: 24167930800. ResearcherID: C-3254-2014;

Morozova O. L., <http://orcid.org/0000-0003-2453-1319>. Scopus Author ID: 55805379800. ResearcherID: R-9125-2017;

Tsybmal A. A., <http://orcid.org/0000-0002-2928-1067>;

Shenkman B., <http://orcid.org/0000-0002-2888-8502>. Scopus Author ID: 7005545029;

Einav Y., <http://orcid.org/0000-0001-8222-7695>. Scopus Author ID: 6602990973.

Financial disclosure. The study had no sponsorship.

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

Received 03 Nov 2017

Accepted 16 May 2018

Введение

Гиперфибринолиз — это типовая форма патологии системы гемостаза, характеризующаяся избыточной активностью плазмина, ускоренным лизисом фибрина и/или фибриногена и, как следствие, склонностью к кровотечениям. Данное состояние осложняет течение различных заболеваний и может служить независимой предпосылкой летального исхода [1]. Одной из частых причин гиперфибринолиза является значительное увеличение концентрации тканевого (tPA) или урокиназного (uPA) активаторов плазминогена в плазме крови. Повышение уров-

ня tPA лежит в основе геморрагического синдрома при травматической коагулопатии [2], операциях с применением аппарата искусственного кровообращения [3], терминальной стадии цирроза печени, операциях по трансплантации печени [4], остром промиелоцитарном лейкозе [5] и др. В свою очередь повышение уровня uPA лежит в основе гиперфибринолиза при амилоидозе [6], метастатическом раке предстательной железы [7], хронической почечной недостаточности [8] и др. Высокий риск больших кровотечений в условиях гиперфибринолиза требу-

ет тщательного мониторинга и своевременной коррекции гемостатического потенциала крови у пациентов с данной патологией.

Несмотря на то что tPA и uPA выполняют одну и ту же каталитическую функцию (превращение плазминогена в плазмин), молекулярная структура и механизм действия этих активаторов существенно различаются. Благодаря наличию пальцевидного домена и лизинсвязывающего сайта во 2-м крингл-домене, tPA может связываться с фибрином. Это связывание приводит к многократному увеличению ферментативной активности tPA и активации связанного с фибрином плазминогена, что определяет высокую фибринселективность данного активатора. Напротив, в структуре uPA отсутствуют домены, способные связываться с фибрином. Тем не менее uPA является активатором как свободного (циркулирующего), так и связанного с фибрином плазминогена, что свидетельствует о его низкой фибринселективности [1]. Более того, показано, что для uPA, в отличие от tPA, характерна выраженная фибринолитическая активность [9]. Эти и другие различия в действии tPA и uPA могут оказывать существенное влияние на эффективность применения гемостатических препаратов в условиях гиперфибринолиза.

Традиционно для коррекции гемостатического потенциала крови в условиях гиперфибринолиза используются антифибринолитики — синтетические аналоги лизина и прямые ингибиторы плазмина [10]. В последнее время интерес вызывает возможность использования с этой целью различных концентратов факторов свертывания [11]. Несмотря на широкое применение в клинической практике как антифибринолитиков, так и концентратов факторов свертывания, до настоящего времени не проводилось сравнительного анализа эффектов от применения этих препаратов в условиях tPA- и uPA-индуцированного гиперфибринолиза. В данной работе, используя модель гиперфибринолиза *in vitro*, с помощью метода ротационной тромбоэластометрии мы впервые показали, что транексамовая кислота (ТКК) и фактор XIII (FXIII) оказывают антифибринолитический эффект как при tPA-, так и при uPA-индуцированном гиперфибринолизе, тогда как эффект концентрата фибриногена существенно зависит от вида действующего активатора плазминогена.

Соответствие исследования этическим требованиям

Данное исследование было одобрено этическим комитетом медицинского центра им. Х. Шибы (Тель-хашомер, Израиль) и проведено в соответствии с принципами Хельсинской декларации. Перед включением в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

Материалы и методы

Взятие крови

В исследовании приняли участие 28 здоровых добровольцев, не имевших в анамнезе нарушений в системе гемостаза и не принимавших никаких лекарственных препаратов в течение 14 дней перед включением в исследование. Взятие крови осуществляли натошак пункцией срединной локтевой вены с помощью иглы-бабочки 20G при минимальном по времени наложении жгута. Кровь собирали в вакуумные пробирки, содержащие 3,2% раствор трехзамещенного цитрата натрия. Соотношение антикоагулянта и крови составляло 1:9. Перед началом манипуляций образцы крови выдерживали в течение 30 мин при комнатной температуре.

Приготовление обогащенной тромбоцитами плазмы и плазмы без клеточных микрочастиц

Для приготовления обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) образцы крови центрифугировали при 134 g в течение 12 мин, после чего верхние две трети объема супернатанта переносили в отдельную пробирку в качестве ОТП. Для приготовления плазмы без клеточных микрочастиц ОТП центрифугировали при 1600 g в течение 15 мин, после чего супернатант переносили в отдельную пробирку и дополнительно центрифугировали при 40 000 g в течение 60 мин. Полученный в итоге супернатант переносили в отдельную пробирку в качестве плазмы без клеточных микрочастиц.

Ротационная тромбоэластометрия

Формирование кровяного сгустка исследовали с помощью ротационного тромбоэластометра ROTEM («Tem Innovations GmbH», Germany). Для теста NATEM в кювету тромбоэластометра помещали 20 мкл реагента star-tem (CaCl₂, конечная концентрация 17 мМ) и 20 мкл фосфатного буфера (PBS; pH 7,4), для теста EXTEM — 20 мкл реагента star-tem и 20 мкл разведенного 1:100 реагента ex-tem (содержит recombinant тканевой фактор и фосфолипиды), для теста INTEM — 20 мкл реагента star-tem и 20 мкл реагента in-tem (содержит фосфолипиды частичного тромбопластина из головного мозга кролика и эллаговую кислоту). Далее в кювету помещали 300 мкл крови или плазмы и тщательно перемешивали с реагентами путем пипетирования. Формирование и лизис кровяного сгустка регистрировали при температуре 37 °C в течение 60 мин в виде кривой — тэмограммы. Оценивали следующие параметры тэмограммы: максимальная плотность сгустка (MCF, мм; максимальная амплитуда тэмограммы), время начала лизиса (LOT, мин; время от момента начала формирования сгустка до снижения амплитуды тэмограммы на 15% от MCF), индекс лизиса на 30-й минуте (LI30, %; амплитуда тэмограммы через

30 мин от момента начала формирования сгустка, выраженная в процентах от MCF). Если не указано иное, то представлены результаты теста EXTEM. Все эксперименты были выполнены в стандартных условиях одним исследователем.

Модель гиперфибринолиза

Фибринолиз индуцировали добавлением 90 МЕ/мл tPA (препарат Актилизе; «Boehringer Ingelheim», Германия) или 33 МЕ/мл uPA (препарат Actosolv; «Eumedica Pharmaceuticals», Бельгия), что соответствовало предварительно определенным полумаксимальным эффективным концентрациям (EC₅₀) [12]. Чтобы минимизировать преждевременный фибринолиз, после добавления активатора плазминогена образец крови перемешивали путем пипетирования, незамедлительно помещали в кюветы тромбоэластометра, содержащие индукторы свертывания, и начинали запись тэмограммы. О наличии гиперфибринолиза свидетельствовало снижение максимальной амплитуды тэмограммы на 15% и более от MCF [13]. Чтобы оценить возможности коррекции формирования кровяного сгустка в условиях гиперфибринолиза, в образцы крови перед применением активатора плазминогена добавляли один из следующих препаратов: 10 мкг/мл ТКК (препарат Суклокарпон, «Pfizer», Бельгия), 2 МЕ/мл концентрата FXIII (препарат Fibrogammin P, «CSL Behring», Германия), 3 мг/мл концентрата фибриногена (препарат Наемосомплеттан Р, «CSL Behring», Германия) или 3 мг/мл фибриногена (F4883, «Sigma-Aldrich Company Ltd.», США), растворенного в PBS. В контрольные образцы крови вместо указанных гемостатических препаратов добавляли соответствующее количество PBS.

Статистический анализ

Статистический анализ выполнен с помощью программы Statistica 10 (Statsoft, США). Результаты исследования представлены в виде $M \pm SD$, где M — среднее значение для выборки, SD — стандартное отклонение. Для каждого анализируемого показателя тэмограммы сравнивали значения средних в цельной крови, при добавлении активатора плазминогена, а также при добавлении активатора плазминогена в сочетании с вышеуказанными гемостатическими препаратами (всего 12 сравнений). Сравнения проводили с использованием двухстороннего t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Во избежание эффекта множественных сравнений значения p были откорректированы по методу Шидака. Различия средних считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Формирование и лизис кровяного сгустка в присутствии tPA и uPA

В образцах цельной крови MCF составила $60 \pm 2,2$ мм, спонтанный лизис кровяного сгустка не наблюдался. Добавление к крови 90 МЕ/мл tPA приводило к снижению MCF до $42,2 \pm 5,9$ мм ($p < 0,001$) и индуцировало лизис сгустка. LOT при этом составило $23,7 \pm 4,1$ мин, LI30 был равен $18,8 \pm 13,9\%$. При добавлении к крови 33 МЕ/мл uPA значения MCF и LOT статистически значимо не отличались от значений в присутствии tPA, однако LI30 был существенно больше, чем в образцах с tPA, и составил $64,1 \pm 8,1\%$ ($p < 0,001$). Иными словами, в использованных концентрациях tPA и uPA в одинаковой мере снижали максимальную плотность кровяного сгустка и через схожие промежутки времени индуцировали его лизис (гиперфибринолиз), хотя

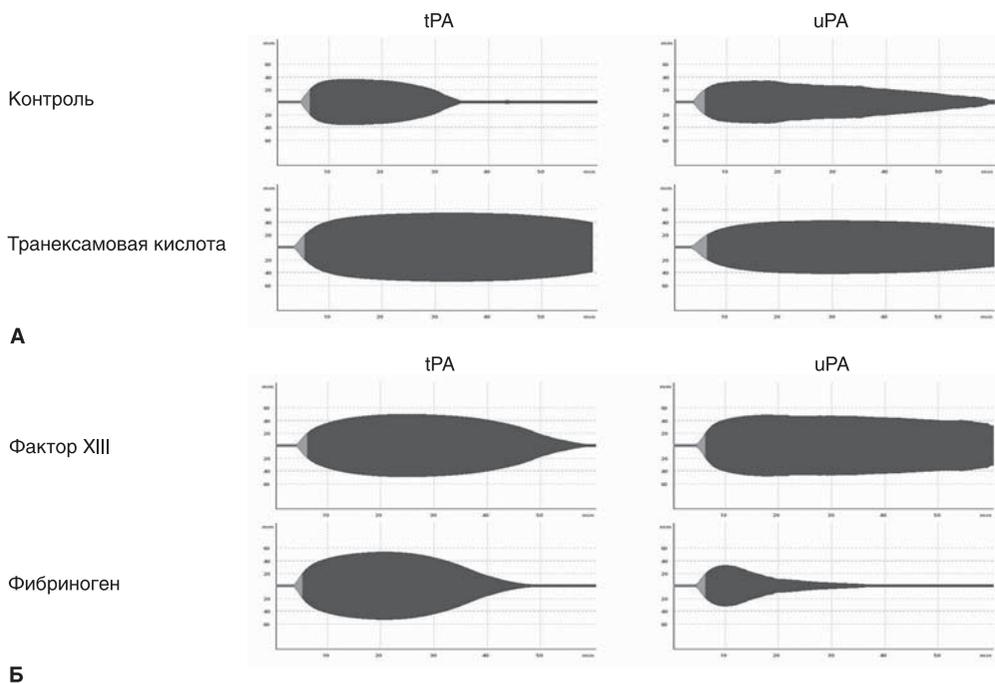


Рисунок 1. Влияние транексамовой кислоты, концентрата фактора XIII и концентрата фибриногена на формирование и лизис кровяного сгустка в условиях гиперфибринолиза, индуцированного с помощью тканевого (tPA) или урокиназного (uPA) активатора плазминогена. В цельную кровь добавляли 10 мкг/мл транексамовой кислоты, 2 МЕ/мл концентрата фактора XIII или 3 мг/мл концентрата фибриногена. В контрольные образцы добавляли соответствующее количество фосфатного буфера. Фибринолиз индуцировали добавлением 90 МЕ/мл tPA или 33 МЕ/мл uPA. Формирование и лизис сгустка изучали методом ROTEM (тест EXTEM). Представлены репрезентативные тэмограммы одного из десяти независимых экспериментов.

динамика лизиса сгустка при этом имела определенные различия (рис. 1).

Эффект ТКК в условиях гиперфибринолиза

В условиях tPA-индуцированного гиперфибринолиза добавление к крови 10 мкг/мл ТКК вызывало повышение MCF до $54,9 \pm 6,2$ мм ($p = 0,002$) и значительно ингибировало лизис сгустка, о чем свидетельствовало удлинение LOT до $50,5 \pm 7,7$ мин ($p < 0,001$) и увеличение LI30 до 100% во всех исследованных образцах (см. рис. 1). В условиях uPA-индуцированного гиперфибринолиза после добавления ТКК MCF составила $45,1 \pm 5,9$ мм, однако по сравнению с контролем данное изменение не достигло уровня статистической значимости ($p = 0,084$). LOT при этом увеличивалось до $53,1 \pm 6,5$ мин ($p < 0,001$), LI30 возрастал до $97,2 \pm 3,7\%$ ($p < 0,001$), что существенно не отличалось от значений этих показателей в присутствии tPA (см. табл. 1). Следовательно, добавление к крови ТКК способствовало увеличению плотности сгустка в присутствии tPA и оказывало выраженный антифибринолитический эффект вне зависимости от действующего активатора плазминогена.

Эффект FXIII в условиях гиперфибринолиза

Добавление к крови 2 МЕ/мл FXIII в условиях tPA-индуцированного гиперфибринолиза вызывало повышение MCF до $53,3 \pm 6,6$ мм ($p = 0,042$), удлинение

LOT до $39,4 \pm 5,2$ мин ($p < 0,001$) и увеличение LI30 до $92,4 \pm 5,7\%$ ($p < 0,001$). Схожие изменения показателей тэмограммы наблюдались и в присутствии uPA: после добавления концентрата FXIII MCF увеличивалась до $49,5 \pm 5,5$ мм ($p = 0,002$), LOT — до $43,5 \pm 6,2$ мин ($p < 0,001$) и LI30 — до $96,3 \pm 5,3\%$ ($p < 0,001$) (см. рис. 1). Таким образом, добавление к крови концентрата FXIII в условиях как tPA-, так и uPA-индуцированного гиперфибринолиза способствовало увеличению плотности сгустка и повышению его устойчивости к лизису.

Эффект концентрата фибриногена в условиях гиперфибринолиза

В условиях tPA-индуцированного гиперфибринолиза добавление к крови 3 мг/мл концентрата фибриногена (препарат Наемосcompletтан Р) приводило к выраженному увеличению MCF, которая составила $57,2 \pm 4,7$ мм ($p < 0,001$), незначительному удлинению LOT (до $29,4 \pm 4,5$ мин; $p = 0,096$) и существенному увеличению LI30, составившего $65,2 \pm 9,4\%$ ($p < 0,001$), что в целом свидетельствовало о повышении плотности и фибринолитической устойчивости кровяного сгустка. Принципиально иной эффект от применения данного препарата наблюдался в присутствии uPA. В этих условиях добавление к крови концентрата фибриногена не вызывало заметного изменения MCF, укорачивало LOT до $11 \pm 2,5$ мин ($p = 0,017$) и значительно умень-

Таблица 1. Влияние транексамовой кислоты, FXIII и фибриногена на формирование и лизис кровяного сгустка в условиях tPA- и uPA-индуцированного гиперфибринолиза

Показатель	tPA		uPA		tPA vs uPA
	M ± SD	p ¹	M ± SD	p ¹	p
MCF:					
Контроль	$42,2 \pm 5,9$	–	$36,5 \pm 6,8$	–	0,528
ТКК	$54,9 \pm 6,2$	0,002	$45,1 \pm 5,9$	0,084	0,024
FXIII	$53,3 \pm 6,6$	0,042	$49,5 \pm 5,5$	0,002	0,906
Фибриноген	$57,2 \pm 4,7$	0,001	$34,1 \pm 4,3$	0,995	< 0,001
LOT:					
Контроль	$23,7 \pm 4,1$	–	$18,5 \pm 5,8$	–	0,328
ТКК	$50,5 \pm 7,7$	< 0,001	$53,1 \pm 6,5$	< 0,001	0,999
FXIII	$39,4 \pm 5,2$	< 0,001	$43,5 \pm 6,2$	< 0,001	0,803
Фибриноген	$29,4 \pm 4,5$	0,096	$11,0 \pm 2,5$	0,017	< 0,001
LI30:					
Контроль	$18,8 \pm 13,9$	–	$64,1 \pm 8,1$	–	< 0,001
ТКК	100 ± 0	< 0,001	$97,2 \pm 3,7$	< 0,001	0,287
FXIII	$92,4 \pm 5,7$	< 0,001	$96,3 \pm 5,3$	< 0,001	0,813
Фибриноген	$65,2 \pm 9,4$	< 0,001	$8,0 \pm 5,5$	< 0,001	< 0,001

¹ Значения p при сравнении с соответствующим контролем.

LI30 — индекс лизиса на 30-й минуте; LOT — время начала лизиса; M — выборочное среднее; MCF — максимальная плотность сгустка;

SD — стандартное отклонение; tPA — тканевой активатор плазминогена; uPA — урокиназный активатор плазминогена. Объем каждой выборки — 10 наблюдений. Сравнения средних выполнены с помощью t-критерия Стьюдента. Значения p откорректированы по методу Шидака.

шало L130 — до $8 \pm 5,5\%$ ($p < 0,001$) (см. рис. 1). Иными словами, в присутствии uPA добавление концентрата фибриногена вызвало противоположный — профибринолитический — эффект.

С целью верификации обнаруженного явления мы повторили эксперимент с добавлением к крови того же концентрата фибриногена, используя вместо теста EXTEM тесты INTEM и NATEM (рис. 2). В обоих тестах в присутствии tPA концентрат фибриногена повышал плотность сгустка и его устойчивость к фибринолизу и, напротив, в присутствии uPA оказывал профибри-

нолитическое действие. Аналогичные результаты были получены также в тесте EXTEM при добавлении к крови раствора фибриногена от другого производителя (F4883, «Sigma-Aldrich») (результаты не представлены).

Для дальнейшего исследования эффектов концентрата фибриногена (препарат Haemocomplettan P) в условиях tPA- и uPA-индуцированного гиперфибринолиза мы изучили влияние препарата на показатели тэмограммы в ОТП и плазме без клеточных микрочастиц. Как и в цельной крови, в присутствии tPA добавление концентрата фибриногена к ОТП приводило

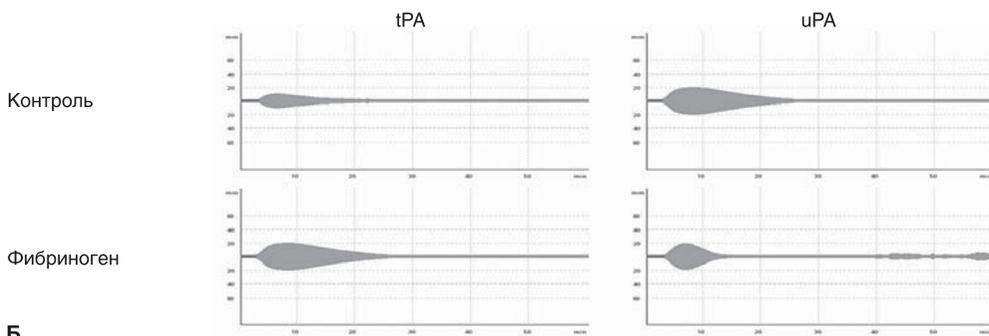
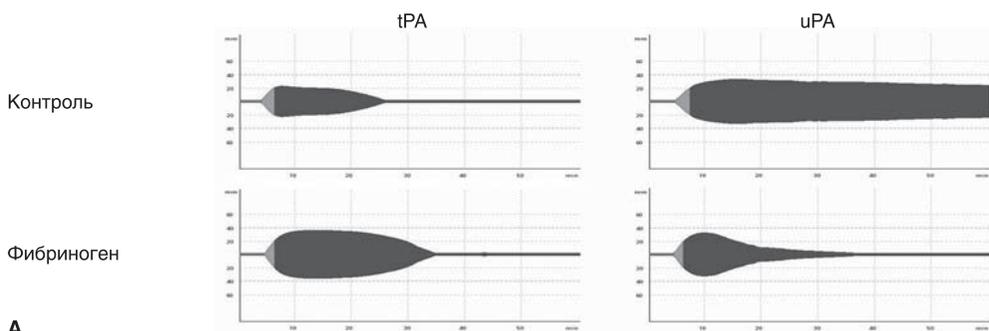
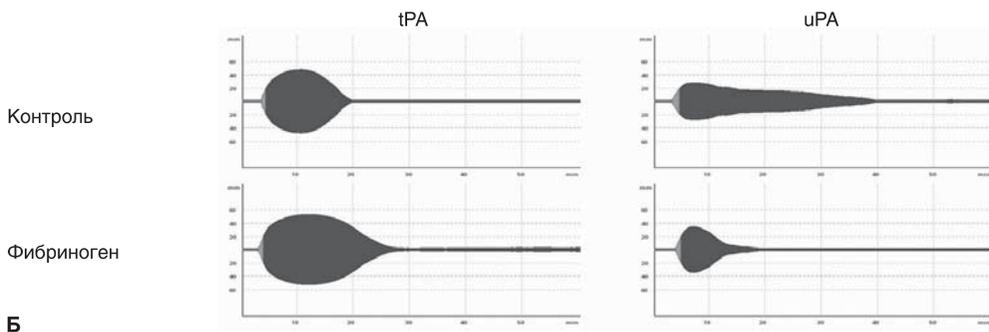
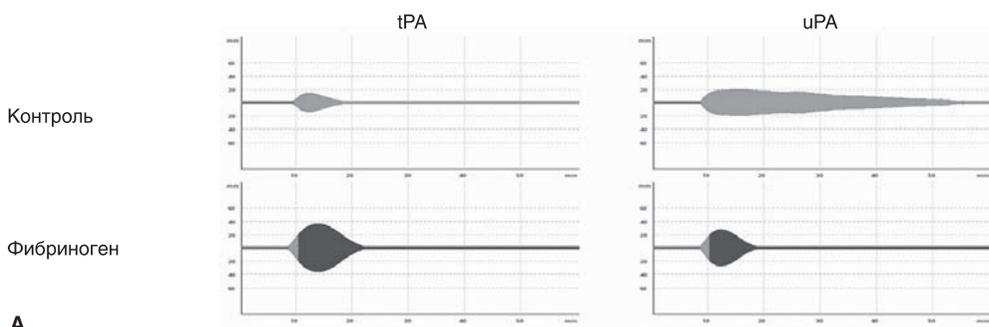


Рисунок 2. Влияние концентрата фибриногена на формирование и лизис кровяного сгустка в условиях гиперфибринолиза, индуцированного с помощью тканевого (tPA) или урокиназного (uPA) активатора плазминогена. В цельную кровь добавляли 3 мг/мл концентрата фибриногена. В контрольные образцы добавляли соответствующее количество фосфатного буфера. Фибринолиз индуцировали добавлением 90 МЕ/мл tPA или 33 МЕ/мл uPA. Формирование и лизис сгустка изучали методом ROTEM. **А.** Тест NATEM. **Б.** Тест INTEM. Представлены репрезентативные тэмограммы одного из пяти независимых экспериментов.

Рисунок 3. Влияние концентрата фибриногена на формирование и лизис сгустка плазмы в условиях гиперфибринолиза, индуцированного с помощью тканевого (tPA) или урокиназного (uPA) активатора плазминогена. В обогащенную тромбоцитами плазму (**А**) или плазму без клеточных микрочастиц (**Б**) добавляли 3 мг/мл концентрата фибриногена. В контрольные образцы добавляли соответствующее количество фосфатного буфера. Фибринолиз индуцировали добавлением 90 МЕ/мл tPA или 33 МЕ/мл uPA. Формирование и лизис сгустка изучали методом ROTEM (тест EXTEM). Представлены репрезентативные тэмограммы одного из пяти независимых экспериментов.

к увеличению MCF и удлинению LOT по сравнению с контролем, тогда как в присутствии uPA препарат фибриногена не оказывал заметного влияния на величину MCF, но значительно укорачивал LOT, т. е. оказывал профибринолитическое действие (рис. 3, А). Аналогичные результаты были получены при добавлении концентрата фибриногена к плазме без клеточных микрочастиц в условиях tPA- и uPA-индуцированного гиперфибринолиза (рис. 3, Б).

Обсуждение

Данное исследование посвящено изучению возможностей фармакологической коррекции формирования и фибринолитической устойчивости кровяного сгустка в условиях гиперфибринолиза. Для решения поставленной задачи мы использовали модель гиперфибринолиза *in vitro*, в которой фибринолиз индуцировали добавлением в цельную кровь tPA или uPA, а формирование и лизис кровяного сгустка изучали методом ротационной тромбоэластометрии (ROTEM). В отличие от традиционных методов исследования системы гемостаза, ROTEM учитывает вклад не только плазменных, но и всех клеточных компонентов системы гемостаза в их взаимосвязи и позволяет дать глобальную оценку гемостатического потенциала крови пациента [14, 15]. Данный метод широко используется в клинической практике для диагностики гиперфибринолиза и оценки эффективности проводимой гемостатической терапии [13].

Для корректного сравнения эффектов от применения гемостатических препаратов в условиях tPA- и uPA-индуцированного гиперфибринолиза активаторы плазминогена использовали в их полумаксимальных эффективных концентрациях (EC_{50}), определенных в цельной крови методом ROTEM. Примечательно, что в этих условиях значение EC_{50} для uPA в три раза ниже такового для tPA (33 и 90 МЕ/мл соответственно). Это указывает на то, что активность uPA в крови выше, чем в искусственной среде, используемой производителями активаторов плазминогена для определения их активности. Возможным объяснением более выраженной профибринолитической активности uPA в цельной крови является прямое протеолитическое действие uPA в отношении фибриногена [9], а также усиление активности введенного в кровь uPA при его связывании с эндогенным tPA, присутствующим в плазме [12]. Необходимо также отметить, что добавление к крови как tPA, так и uPA не только индуцировало лизис кровяного сгустка, но и вызывало снижение его максимальной плотности (амплитуды тэмограммы). По-видимому, данный эффект обусловлен тем, что при активации свертывания крови в присутствии активатора плазминогена формирование кровяного сгустка происходит на фоне нарастающего образования плазмينا, в результате чего лизис сгустка начинается еще до достижения им максимальной плотности.

ТКК относится к группе синтетических аналогов лизина и представляет собой более стабильную по химической структуре версию ϵ -аминокапроновой кислоты (АКК). Препараты данной группы конкурируют с фибрином за лизинсвязывающие сайты крингл-доменов плазминогена/плазмينا, образуя с ними обратимую связь. Несмотря на то что оба препарата успешно применяются в клинической практике в качестве антифибринолитиков [16, 17], эффект от их применения существенно зависит от ряда факторов. Например, установлено, что введение ТКК в течение первых 3 ч после тяжелой травмы снижает риск летального исхода, но значительно увеличивает его при более позднем введении [18]. Показано, что в концентрации более 5 мМ АКК замедляет индуцированный плазмином лизис фибрина, но в концентрации 1 мМ ускоряет его, что, по-видимому, объясняется уменьшением связывания плазмينا с С-концевыми остатками лизина фибриновой сети и улучшением его диффузии в толщу сгустка [19]. Имеются также данные о различном влиянии аналогов лизина на скорость активации плазминогена в зависимости от вида действующего активатора. Большинство авторов указывают на уменьшение скорости tPA-индуцированной активации плазминогена и фибринолиза в присутствии ТКК и АКК [20, 21], поскольку связывание плазминогена с аналогами лизина препятствует его связыванию с фибрином и тем самым нарушает образование тройного комплекса с tPA, необходимого для реализации его каталитической функции. Показано также, что АКК может связывать и сам tPA, препятствуя его взаимодействию с фибрином [22].

Напротив, в присутствии uPA аналоги лизина вызывают увеличение скорости активации плазминогена, поскольку при взаимодействии с этими препаратами молекулы плазминогена стабилизируются в «открытой» конформации [21, 23, 24]. Несмотря на это в присутствии аналогов лизина отмечается угнетение uPA-индуцированного лизиса фибрина [21, 23, 25]. И вместе с тем в модели черепно-мозговой травмы на мышцах недавно было показано, что введение ТКК на фоне повышения уровня uPA в цереброспинальной жидкости приводит к увеличению объема внутричерепного кровоизлияния, что указывает на профибринолитическое действие данного активатора плазминогена [26].

Вышеизложенное свидетельствует о необходимости дальнейшего уточнения механизмов действия синтетических аналогов лизина в условиях tPA- и uPA-индуцированного гиперфибринолиза. В данном исследовании мы показали, что добавление к крови ТКК способствует увеличению плотности кровяного сгустка в условиях tPA-индуцированного гиперфибринолиза и оказывает выраженный антифибринолитический эффект в присутствии как tPA, так и uPA, что согласуется с результатами экспериментов *in vitro* [27], а также клиническими наблюдениями [3, 7]. Наиболее вероятным

объяснением обнаруженного нами эффекта является то, что плазмин, образующийся из связанного с ТКК плазминогена, оставаясь связанным с данным препаратом, не может реализовать свое фибринолитическое действие вне зависимости от действующего активатора плазминогена [21, 28]. Поскольку в использованной нами экспериментальной модели формирование кровяного сгустка происходило на фоне образования плазмينا, добавление к крови ТКК и связывание с ней значительной части плазмина приводило не только к отдалению времени начала лизиса, но и к увеличению максимальной плотности кровяного сгустка.

FXIII (протеин-глутамин- γ -глутамилтрансфераза) под влиянием тромбина переходит в активную форму (XIIIa) и катализирует образование изопептидных связей («сшивок») между остатками глутаминовой кислоты и лизина γ -узлов и α C-областей соседних молекул фибрина, что приводит к образованию его олиго- и полимеров. Увеличение концентрации FXIII способствует уменьшению размера пор фибринового сгустка, формированию более тонких нитей фибрина и увеличению плотности фибриновой сети [29]. Кроме того, FXIIIa обеспечивает ковалентное связывание с фибрином ряда антифибринолитических факторов, включая α 2-антиплазмин, ингибитор активатора плазминогена-2, активируемый тромбином ингибитор фибринолиза, компонент C3 комплемента [30]. Дефицит FXIII связан с большей частотой послеоперационных кровотечений. Введение FXIII перед началом операции уменьшает объем периперационной кровопотери [31].

В то же время сведения о применении данного препарата у пациентов с гиперфибринолизом весьма малочисленны, а данные о его влиянии на формирование и устойчивость сгустка к лизису противоречивы. В ранних работах было показано, что в «чистых» фибринолитических средах FXIII в физиологической концентрации не оказывает существенного влияния на скорость лизиса фибрина [32], но снижает ее при использовании в более высоких концентрациях [33]. Позднее было установлено, что добавление FXIII в цельную кровь также вызывает угнетение tPA-индуцированного гиперфибринолиза [27]. Влияние FXIII на формирование и лизис кровяного сгустка в условиях uPA-индуцированного фибринолиза остается наименее изученным. В данной работе мы показали, что добавление к крови FXIII в условиях как tPA-, так и uPA-индуцированного гиперфибринолиза способствует увеличению плотности кровяного сгустка и повышает его фибринолитическую устойчивость, что выражается в более позднем начале и меньшей скорости лизиса. Полученные результаты свидетельствуют о возможной эффективности концентрата FXIII в качестве гемостатика в условиях гиперфибринолиза независимо от действующего активатора плазминогена.

При больших кровотечениях концентрация фибриногена первой достигает критически низких значений

по сравнению с другими факторами свертывания крови, что во многом определяет прогноз пациента [34]. Концентраты фибриногена успешно используются для экстренной коррекции гемостатического потенциала крови при различных геморрагических состояниях [35]. Увеличение уровня фибриногена в плазме обеспечивает формирование более плотной фибриновой сети, состоящей из более тонких и разветвленных нитей фибрина и отличающейся меньшим размером пор, что в совокупности обеспечивает более высокую фибринолитическую устойчивость сгустка [36]. В данной работе мы показали, что в условиях tPA-индуцированного гиперфибринолиза увеличение концентрации фибриногена обеспечивало повышение плотности и фибринолитической устойчивости кровяного сгустка. Принципиально иной, профибринолитический эффект концентрата фибриногена мы обнаружили при индукции гиперфибринолиза с помощью uPA. Причем данный эффект наблюдался при добавлении к крови фибриногена разных производителей — как препарата Haemocompletan P («CSL Behring»), так и раствора фибриногена («Sigma-Aldrich»). Это свидетельствует о том, что обнаруженный эффект концентрата фибриногена не зависит от способа приготовления и не связан с наличием в использованных растворах определенных вспомогательных веществ или компонентов плазмы. Данный эффект воспроизводился как в тесте EXTEM, так и в тестах INTEM и NATEM, что указывает на то, что профибринолитическое действие фибриногена не зависит от способа активации системы свертывания крови. Более того, профибринолитический эффект фибриногена, выявленный в цельной крови, воспроизводился также в ОТП и в плазме без клеточных микрочастиц. В целом вышеизложенное свидетельствует о том, что профибринолитический эффект фибриногена в условиях uPA-индуцированного гиперфибринолиза является не лабораторным артефактом, а истинным феноменом, не требующим участия форменных элементов крови для его реализации.

Механизм профибринолитического действия концентрата фибриногена в присутствии uPA требует специального изучения. Возможно, обнаруженный нами феномен связан с выраженной фибринолитической активностью uPA. Показано, что под влиянием данного активатора от молекулы фибриногена отщепляется сначала фибринопептид В, а затем С-концевые участки α - и β -цепей [9]. С одной стороны, это делает фибриноген неподходящим субстратом для тромбина и тем самым замедляет образование фибрина, а с другой, вероятно, приводит к изменению конформации молекул фибриногена и экспонированию скрытых до этого остатков лизина [9, 37]. Мы полагаем, что это влечет за собой связывание плазминогена с экспонированными остатками лизина и его стабилизацию в «открытой» конформации, что в свою очередь приводит

к увеличению скорости его активации под действием uPA. Чем больше фибриногена содержится в крови, тем больше остатков лизина экспонируется в результате uPA-индуцированного фибринолиза и тем больше плазминогена затем активируется под влиянием uPA. Таким образом, увеличение концентрации фибриногена в присутствии uPA, по-видимому, приводит к увеличению образования плазмина и, как следствие, усилению фибринолиза и гиперфибринолизу.

Наше исследование имеет некоторые ограничения. Использованная в работе модель гиперфибринолиза *in vitro* не позволяет оценить влияние эндотелия сосудистой стенки и гемодинамики на формирование и лизис кровяного сгустка, что требует осторожности при экстраполяции полученных данных на клиническую ситуацию. Поскольку гиперфибринолиз индуцировали в крови, полученной от здоровых доноров, данная модель не учитывает модифицирующее действие других факторов, характерных для той формы патологии, с которой связан гиперфибринолиз. Несмотря на то что гемостатические препараты были использованы в конечных концентрациях, близких к тем, которые наблюдаются в крови пациентов при внутривенном введении, эффект от применения этих препаратов во многом зависит от дозы.

Таким образом, с помощью метода ротационной тромбоэластометрии мы показали, что в условиях гиперфибринолиза эффект от применения гемостатических препаратов может существенно различаться в зависимости от вида действующего активатора плазминогена. В случае tPA-индуцированного гиперфибринолиза и ТКК, и концентрат FXIII, и концентрат фибриногена способствуют увеличению плотности кровяного сгустка и оказывают отчетливый антифибринолитический эффект. В случае uPA-индуцированного гиперфибринолиза ТКК и концентрат FXIII вызывают аналогичный эффект, а концентрат фибриногена вызывает противоположный — профибринолитический эффект. Полученные данные указывают на необходимость анализа механизмов индукции гиперфибринолиза при выборе средств для коррекции гемостатического потенциала крови у пациентов и могут служить ориентиром при планировании клинических исследований.

Литература

1. Kolev K, Longstaff C. Bleeding related to disturbed fibrinolysis. *Br J Haematol* 2016; 175:12–23.
2. Davenport RA, Guerreiro M, Frith D et al. Activated protein C drives the hyperfibrinolysis of acute traumatic coagulopathy. *Anesthesiology* 2017; 126:115–127.
3. Kojima T, Gando S, Morimoto Y et al. Systematic elucidation of effects of tranexamic acid on fibrinolysis and bleeding during and after cardiopulmonary bypass surgery. *Thromb Res* 2001; 104:301–307.
4. Saner FH, Gieseler RK, Akiz H et al. Delicate balance of bleeding and thrombosis in end-stage liver disease and liver transplantation. *Digestion* 2013; 88:135–144.
5. Huang D, Yang Y, Sun J et al. Annexin A2-S100A10 heterotetramer is upregulated by PML/RAR α fusion protein and promotes plasminogen-dependent fibrinolysis and matrix invasion in acute promyelocytic leukemia. *Front Med* 2017; 11:410–422.
6. Uchiba M, Imamura T, Hata H et al. Excessive fibrinolysis in AL-amyloidosis is induced by urokinase-type plasminogen activator from bone marrow plasma cells. *Amyloid* 2009; 16:89–93.
7. Prokopchuk-Gauk O, Brose K. Tranexamic acid to treat life-threatening hemorrhage in prostate cancer associated disseminated intravascular coagulation with excessive fibrinolysis. *Cureus* 2015; 7:e428.
8. Pawlak K, Buraczewska-Buczko A, Pawlak D et al. Hyperfibrinolysis, uPA/suPAR system, kynurenines, and the prevalence of cardiovascular disease in patients with chronic renal failure on conservative treatment. *Am J Med Sci* 2010; 339:5–9.
9. Weitz JI, Leslie B. Urokinase has direct catalytic activity against fibrinogen and renders it less clottable by thrombin. *J Clin Invest* 1990; 86:203–212.
10. Биткова Е. Е., Тимербаев В. Х., Хватов В. Б. и др. Влияние отечественных препаратов — ингибиторов фибринолиза на агрегантное состояние крови и объем операционной кровопотери у кардиохирургических больных. *Анестезиология и реаниматология* 2014; 2:59–64.
11. Буланов А. Ю., Прасолов Н. В. Средства фармацевтического гемостаза в современной клинической практике. *Тольяттинский медицинский консилиум* 2013; 3–4:25–29.
12. Shenkman B, Livnat T, Budnik I et al. Plasma tissue-type plasminogen activator increases fibrinolytic activity of exogenous urokinase-type plasminogen activator. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012; 23:729–733.
13. Gall I, Brohi K, Davenport R. Diagnosis and treatment of hyperfibrinolysis in trauma (a European perspective). *Semin Thromb Hemost* 2017; 43:224–234.
14. Буланов А. Ю. Роль тромбоэластографии в трансфузионной терапии посттравматической коагулопатии. *Трансфузиология* 2011; 12:47–55.
15. Ройтман Е. В. «Проблема гемостаза» в лабораторной диагностике. *Поликлиника* 2016; 1–3:29–36.
16. Жибурт Е. Б. Менеджмент крови пациента при критическом кровотечении. *Эффективная фармакотерапия* 2014; 6:20–27.
17. Чарная М. А., Дементьева И. И. Аминокaproновая или транексамовая кислоты в кардиохирургии: что? где? когда? Обзор литературы. Часть 1. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия* 2016; 9:72–77.
18. Roberts I, Edwards P, Prieto D et al. Tranexamic acid in bleeding trauma patients: an exploration of benefits and harms. *Trials* 2017; 18:48.
19. Varju I, Tenekedjiev K, Keresztes Z et al. Fractal kinetic behavior of plasmin on the surface of fibrin meshwork. *Biochemistry* 2014; 53:6348–6356.
20. Krishnamurti C, Vukelja SJ, Alving BM. Inhibitory effects of lysine analogues on t-PA induced whole blood clot lysis. *Thromb Res* 1994; 73:419–430.
21. Silva MMCG, Thelwell C, Williams SC et al. Regulation of fibrinolysis by C-terminal lysines operates through plasminogen and plasmin but not tissue-type plasminogen activator. *J Thromb Haemost* 2012; 10:2354–2360.
22. Stewart RJ, Fredenburgh JC, Weitz JI. Characterization of the interactions of plasminogen and tissue and vampire bat plasminogen activators with fibrinogen, fibrin, and the complex of D-dimer noncovalently linked to fragment E. *JBC* 1998; 273:18292–18299.

23. Takada A, Makino Y, Takada Y. Effects of tranexamic acid on fibrinolysis, fibrinogenolysis and amidolysis. *Thromb Res* 1986; 42:39–47.
24. Takada A, Sugawara Y, Takada Y. Enhancement of the activation of Glu-plasminogen by urokinase in the simultaneous presence of tranexamic acid or fibrin. *Haemostasis* 1989; 19:26–31.
25. Stief TW. In vitro simulation of thrombolysis inhibition. *Clin Appl Thromb Hemost* 2008; 14:234–237.
26. Hijazi N, Abu Fanne R, Abramovitch R et al. Endogenous plasminogen activators mediate progressive intracerebral hemorrhage after traumatic brain injury in mice. *Blood* 2015; 125:2558–2567.
27. Cushing MM, Fitzgerald MM, Harris RM et al. Influence of cryoprecipitate, factor XIII, and fibrinogen concentrate on hyperfibrinolysis. *Transfusion* 2017; 57:2502–2510.
28. Aisina RB, Mukhametova LI. Structure and function of plasminogen/plasmin system. *Russ J Bioorg Chem* 2014; 40:590–605.
29. Hethershaw EL, Cilia La Corte AL, Duval C et al. The effect of blood coagulation factor XIII on fibrin clot structure and fibrinolysis. *J Thromb Haemost* 2014; 12:197–205.
30. Rijken DC, Uitte de Willige S. Inhibition of fibrinolysis by coagulation factor XIII. *Biomed Res Int* 2017; 2017:1209676.
31. Solomon C, Korte W, Fries D et al. Safety of factor XIII concentrate: analysis of more than 20 years of pharmacovigilance data. *Transfus Med Hemother* 2016; 43:365–373.
32. Gladner JA, Nossal R. Effects of crosslinking on the rigidity and proteolytic susceptibility of human fibrin clots. *Thromb Res* 1983; 30:273–288.
33. Francis CW, Marder VJ. Increased resistance to plasminic degradation of fibrin with highly crosslinked alpha-polymer chains formed at high factor XIII concentrations. *Blood* 1988; 71:1361–1365.
34. Жибурт Е. Б. Менеджмент крови пациента при критическом кровотечении и массивной трансфузии. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова* 2013; 8:71–77.
35. Галстян Г. М., Берковский А. Л., Журавлев В. В. и др. Нужны ли в России препараты фибриногена? *Анестезиология и реаниматология* 2014; 3:49–59.
36. Ryan EA, Mockros LF, Weisel JW et al. Structural origins of fibrin clot rheology. *Biophys J* 1999; 77:2813–2826.
37. Lijnen HR, Van Hoef B, Collen D. Influence of cyanogen-bromide-digested fibrinogen on the kinetics of plasminogen activation by urokinase. *Eur J Biochem* 1984; 144:541–544.

ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ МУТАЦИИ ГЕНА *JAK2* СРЕДИ ДОНОРОВ КРОВИ

Prevalence of mutations in *JAK2* among blood donors

Ольховский И. А.^{1, 2}, Филина Н. Г.^{3, 5}, Горбенко А. С.¹, Столяр М. А.^{1, 2, 4}, Колотвина Т. Б.³, Субботина Т. Н.^{1, 4}

Olkhovskiy I. A.^{1, 2}, Filina N. G.^{3, 5}, Gorbenko A. S.¹, Stolyar M. A.^{1, 2, 4}, Kolotvina T. B.³, Subbotina T. N.^{1, 4}

¹ Красноярский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения России, Красноярск, Россия

² ФГБУН «Красноярский научный центр» СО РАН, Красноярск, Россия

³ КГКУЗ «Красноярский краевой центр крови № 1», Красноярск, Россия

⁴ ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия

⁵ ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения России, Красноярск, Россия

¹ Krasnoyarsk branch of the National Research Center of Hematology, Krasnoyarsk, Russian Federation

² Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

³ Krasnoyarsk Regional Blood Center № 1, Krasnoyarsk, Russian Federation

⁴ Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

⁵ Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Представлены результаты тестирования 1231 пробы крови, взятой у 1150 доноров, на соматическую мутацию V617F в гене *JAK2*. Исследование проводили с помощью метода аллельспецифической полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) в объединенных образцах венозной крови. Мутацию выявили в 8 (0,65%) пробах у 5 мужчин в возрасте от 31 до 52 лет. Величина аллельной нагрузки составляла от 0,07 до 2,6%. Стаж донорства от 7,5 до 13 лет с числом донаций от 16 до 90 имели 4 из 5 носителей мутации. Гематологические сдвиги, характерные для истинной полицитемии, послужили причиной отклонения от донации 1 мужчины с мутацией V617F гена *JAK2*. Способность мутантного клона к образованию независимых от эритропоэтина колоний *in vitro* и образованию экстрамедуллярных очагов кроветворения ставит вопрос о безопасности гемотрансфузий и трансплантации костного мозга от доноров, несущих данную мутацию. Вопрос влияния частоты кроводач на риск возникновения соматической мутации в гене *JAK2* требует дополнительного изучения.

Ключевые слова: безопасность гемотрансфузий; мутация V617F гена *JAK2*; молекулярно-генетический скрининг

Для цитирования: Ольховский И. А., Филина Н. Г., Горбенко А. С., Столяр М. А., Колотвина Т. Б., Субботина Т. Н. **Частота обнаружения**

We present the results of testing 1231 venous blood samples from 1150 blood donors for V617F somatic mutation in the *JAK2* gene. The tests were performed using allele-specific real-time polymerase chain reaction in pooled venous blood samples. The mutation was found in 8 (0.65%) samples from 5 men aged 31–52 years. The allelic load of the mutant gene was 0.07–2.6%. Four of the five mutation carriers had been donors for 7.5–13 years and had made 16 to 90 donations each. Only one of the five men had developed hematological changes characteristic of polycythemia that caused to refrain him from donations. Ability of the mutant clones to form the erythropoietin-independent colonies *in vitro* and generate foci of extramedullary proliferation raises the concern about safety of blood transfusions and bone marrow transplantations from donors carrying the *JAK2* V617F mutation. Whether the frequency of blood donations increases the risk of somatic mutations in *JAK2* is a question that requires further studies.

Keywords: transfusion safety; *JAK2*; molecular-genetic screening

For citation: Olkhovskiy I. A., Filina N. G., Gorbenko A. S., Stolyar M. A., Kolotvina T. B., Subbotina T. N. **Prevalence of mutations in *JAK2* among blood donors.** Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya) 2018; 63(1):65–70 (in Russian) doi:<http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.49..1..006>

мутации гена *JAK2* среди доноров крови. Гематология и трансфузиология 2018; 63(1):65–70

doi:<http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.49.1.006>

Для корреспонденции: Ольховский Игорь Алексеевич, к. м. н., доцент, директор Красноярского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения России, ст. н. с. ФГБУН «Красноярский научный центр» Сибирского отделения РАН, Красноярск, Россия

Электронная почта: krashemcenter@mail.ru

Финансирование. Настоящее исследование проведено в рамках бюджетных программ НИР ФГБУН КНЦ СО РАН и СФУ. Дополнительная частичная финансовая поддержка была получена от региональной общественной организации РОО «Красноярская краевая ассоциация медицинской лабораторий диагностики».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.03.17

Принята к печати 16.05.18

For correspondence: Olkhovskiy Igor A., MD, PhD, associate professor, director of Krasnoyarsk Branch of the National Research Center for Hematology, senior researcher of the Krasnoyarsk Scientific Center of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

E-mail: krashemcenter@mail.ru

Information about authors:

Olkhovskiy I. A., <http://orcid.org/0000-0003-2311-2219>;

Gorbenko A. S., <http://orcid.org/0000-0001-8756-2660>;

Stolyar M. A., <http://orcid.org/0000-0002-8037-9844>;

Philina N. G., <http://orcid.org/0000-0003-2791-709X>;

Kolotvina T. B., <http://orcid.org/0000-0002-5456-996X>;

Subbotina T. N., <http://0000-0001-7790-5033>.

Financial disclosure. The study was supported financially by the Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences and by the Siberian Federal University. Additional financing was received from the Krasnoyarsk Regional Association of Medical Diagnostic Laboratories.

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

Received 30 Mar 2017

Accepted 16 May 2018

Введение

Соматическая мутация V617F в гене янускиназы 2 (*JAK2*) приводит к активации *JAK-STAT*-сигнального пути независимо от его физиологической рецепторной регуляции [1]. Обусловленная мутацией пролиферативная активность миелоидного ростка кроветворения вовлечена в патогенез хронических Ph-негативных миелоидных опухолей и одного из вариантов миелодиспластического синдрома. В соответствии с клиническими рекомендациями ВОЗ [2], определение мутации V617F *JAK2* признано одним из основных критериев диагностики этих заболеваний. Вместе с тем распространенность данной мутации (0,3–1,2%) среди населения разных стран [3–5] значительно превышает официально регистрируемую заболеваемость хроническими миелоидными опухолями (0,002–0,02%) [6].

Носительство мутации V617F *JAK2* сопровождается повышенной агрегацией тромбоцитов, независимой от количества форменных элементов крови [7], и увеличивает риск артериальных и венозных тромбозов [8]. Тромбозы сосудов головного мозга в 3,8–6,6% случаев возникают на фоне мутации V617F *JAK2* [9, 10]. Носительство данной мутации обуславливает около 16% случаев развития тромбозов висцеральных вен кишечника и до 40% случаев синдрома Бадда–Киари [11, 12].

Поскольку указанные тромботические события часто отмечаются на фоне нормальной картины крови или являются первыми клиническими проявлениями гематологического заболевания, предполагается,

что у большинства пациентов с мутацией V617F *JAK2* миелоидная неоплазия имеет латентную форму или скрыта под маской иного диагноза. Также обсуждается вопрос целесообразности скрининга на выявление мутации V617F *JAK2* среди пациентов с негематологическими заболеваниями [13] и коронарной патологией [14].

Учитывая, что до 1% населения в зависимости от возрастной группы могут быть носителями мутации без явных клинических и лабораторных проявлений миелолипролиферативного заболевания [3–5, 13–16], а способность мутантного клона клеток к образованию независимых от присутствия эритропоэтина колоний *in vitro* и экстрамедуллярных очагов кроветворения хорошо известна, актуальным становится вопрос безопасности трансфузий крови и трансплантации костного мозга от доноров при наличии у них данной онкогенной и тромбогенной мутации. Между тем целенаправленным исследованием вопросов распространенности мутации V617F *JAK2* среди доноров крови и безопасности трансфузии реципиентам препаратов крови с трансформированными клетками посвящено всего несколько публикаций [17–22].

Цель работы — оценить распространенность соматической мутации V617F *JAK2* среди доноров крови г. Красноярска.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования были использованы анонимные образцы венозной крови (n = 1231), взятые

у 1150 доноров крови в период с 24 ноября по 28 декабря 2015 г. в КГКУЗ «Красноярский краевой центр крови № 1». Возраст доноров от 18 до 67 лет (медиана 39 лет).

Пробы крови отбирали из стандартных вакутейнеров с ЭДТА после гематологического исследования образцов крови на анализаторе Sysmex XT-4000i (Япония). Выполняли процедуру объединения образцов, обеспечивающую равное соотношение ядросодержащих клеток в каждом объединенном образце (пуле). Пул включал по 7 отдельных образцов крови доноров. Остающиеся образцы замораживали и хранили при -20°C до окончания тестирования пулов. По результатам исследования пулов в дальнейшем проводили тестирование индивидуальных проб.

ДНК из лейкоцитов цельной крови выделяли с использованием набора ДНК-сорб-В (ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии»). Мутацию V617F гена *JAK2* выявляли методом аллельспецифической полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Использовали диагностическую тест-систему, разработанную в лаборатории Красноярского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр» (ныне «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии») Министерства здравоохранения России с пределом аналитической чувствительности 0,06% [23]. Доноров крови, в чьих пробах были выявлены мутации, ретроспективно идентифицировали по лабораторному номеру проб и по базе данных определяли повторность их кроводач за исследуемый период времени.

Результаты

Среди всех исследованных проб крови доноров было обнаружено 8 (0,65%) проб с мутацией V617F *JAK2* (табл. 1).

Мутацию выявили только в пробах крови доноров мужского пола, что может быть связано с тем, что мужчин среди включенных в исследование доноров было вдвое больше, чем женщин. Величина аллельной нагрузки составляла от 0,07 до 2,58%. Последующее сопоставление результатов тестирования позволило установить, что из 8 проб крови, давших положительный результат, 3 представляли собой повторно обследованные пробы одного донора (А), регулярно сдающего плазму крови. Характеристика доноров с выявленной

Таблица 1. Выявляемость мутации V617F *JAK2* в пробах крови доноров в Красноярске

Обследованные	Количество проб крови	Возраст доноров, лет (медиана, диапазон)	Пол, М/Ж
Общее число	1231	39 (18–67)	805/426
С мутацией <i>JAK2</i>	8	39 (31–53)	8/0

мутацией представлена в табл. 2, данные гематологического анализа их проб венозной крови — в табл. 3. Обращает на себя внимание отсутствие у 4 из 5 мужчин-доноров каких-либо изменений, позволяющих заподозрить наличие гематологического заболевания. У одного донора с аллельной нагрузкой мутации 0,1% при гематологическом тестировании выявлено повышение концентрации эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и лейкоцитов, что послужило основанием для его отвода от донорства. Этот мужчина пришел на повторную донацию через 8 мес после первой сдачи свежезамороженной плазмы (СЗП). Результаты анализа его крови при первом обращении также были в пределах референсных значений. Остальные 4 донора с мутацией V617F *JAK2* имеют стаж донаций от 7,5 до 13 лет и их общее число от 13 до 90.

Обсуждение

Регулярное донорство определяет тенденцию снижения риска и смерти от ряда солидных опухолей [20]. Этот факт, вероятно, также связан с более систематическим углубленным обследованием доноров в сравнении с остальным населением.

Неоднократно высказывающиеся опасения, что частые кроводачи способствуют развитию клонального гематологического заболевания — истинной полицитемии (ИП), не были подтверждены на большой статистической выборке из 1,4 млн доноров скандинавской базы данных (Scandinavian Donations and Transfusions) [21].

Диагноз ИП как одного из вариантов хронических миелопролиферативных опухолей является противопоказанием к донорству. Однако хотя ИП в 95% случаев характеризуется присутствием «драйверной» мутации V617F *JAK2* [2], ее наличие далеко не всегда ведет к развитию клинической картины онкогематологического заболевания. Sidon et al. [17] впервые обнаружили высокую долю носителей мутации V617F *JAK2* — 5 (10%) из 52 регулярно сдающих кровь здоровых доноров, не имеющих отклонений в результатах рутинных анализов крови. Максимальное приведенное в литературе значение распространенности мутации среди часто сдающих кровь доноров в Ираке, имеющих повышенный гематокрит, достигало 20 (21%) носителей из 94 обследованных [22]. Между тем в итальянском исследовании [18] в выборке из 84 доноров крови с повышенным гематокритом и средней частотой донаций около 2 раз в год был обнаружен только 1 (1%) мужчина с мутацией V617F *JAK2*. В этой же работе не было выявлено ни одного случая носительства мутации среди 79 доноров с нормальным значением гематокрита. Результаты анализа базы данных доноров Дании (Capital Region of Denmark) показали, что у 4 из 46 отобранных доноров с повышенными значениями гемоглобина и гематокрита был впоследствии подтвержден клинический диагноз ИП [19]. При этом у 3 доноров была

Таблица 2. Характеристика доноров с мутацией V617F JAK2

Данные о донорах	Донор							
	А	А	А	Б	В	Г	Д	Е
Год рождения	1976			1984	1975	1980	1963	1976
Стаж донорства, лет	12			10	13	7,5	0,7	12,5
Количество предшествующих донаций	88	89	90	13	16	24	1	65
Дата исследованной кроводачи	24.11	09.12	23.12	17.12	21.12	11.12	22.12	02.12
Препарат крови на карантинизации	СЗП	СЗП	СЗП	СЗП	СЗП	СЗП	Отвод	СЗП
Выдано в лечебную сеть	—	—	—	Эритроцитная взвесь	Эритроцитная взвесь	Эритроцитная взвесь	—	—

Таблица 3. Результаты развернутого анализа крови и аллельной нагрузки V617F JAK2 в пробах доноров и сравнение со значениями выборки (медиана, диапазон) всех доноров-мужчин, обследованных за выбранный период

Показатель	Донор								
	А	А	А	Б	В	Г	Д	Е	Остальные доноры
Аллельная нагрузка, %	2,6	2,2	1,8	1,26	0,5	0,4	0,1	0,07	0
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	5,39	5,39	5,48	5,65	5,17	5,05	5,75	5,24	5,2 (4,1–6,5)
Гемоглобин, г/л	151	153	154	162	156	154	174 (+)	151	150 (111–178)
Тромбоциты, $\times 10^9/л$	235	245	233	284	220	285	242	310	237 (97–527)
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	5	5,1	4,5	7,8	6,6	9,6	16,1 (+)	8,2	6,7 (3,2–12,9)

выявлена мутация в гене *JAK2* (у 2 доноров — мутация V617F *JAK2*, у одного — мутация в 12-м экзоне данного гена). У всех доноров с выявленной мутацией отмечена более высокая частота донаций.

В нашей работе мы обнаружили всего 5 носителей мутации V617F *JAK2*, что составило около 0,44% от включенных в данное исследование 1150 доноров, в том числе 2 (2,4%) носителя из 82 доноров с повторными кроводачами за выбранный период исследования. Максимальное значение нагрузки мутантного аллеля наблюдалось у донора А, чаще всех сдающего кровь. При этом у всех, кроме одного донора, выявленных носителей мутации показатели гемограммы не выходили за пределы референсных значений. Сопоставляя наши результаты с данными литературы, следует отметить, что в отличие от исследователей из Италии [16] и Дании [17] мы не проводили предварительный отбор доноров с повышенными значениями гематокрита или гемоглобина. Очевидно, авторы указанных работ изначально исключили из тестирования пробы доноров с возможным наличием мутации, но не имеющих гематологических проявлений ИП. Вероятно, реальная распространенность мутаций гена *JAK2* среди доноров гораздо выше, чем частота проявления сдвигов в их гемограмме. Учитывая, что донор А с наиболее выраженной аллельной нагрузкой относится к числу часто сдающих кровь, можно предположить, что регулярная стимуляция эритропоэза является одним из ведущих

патогенетических стимулов возникновения и поддержки трансформированного клона V617F *JAK2*-положительных клеток.

Возникновение мутаций V617F *JAK2* описано в условиях *in vitro* в частично дифференцированных клетках эритроидных колоний при интенсивной стимуляции эритропоэтином [24]. В пользу данного предположения свидетельствует трехкратное увеличение частоты выявления мутации у доноров, повторно сдавших кровь в выбранном временном диапазоне, в сравнении с уровнем распространенности бессимптомных носителей V617F *JAK2* на территории Красноярского края (0,7%) [13]. Хотя патогенетическое значение частых кроводач косвенно подтверждается данными литературы [17–19, 22], вопрос влияния частоты донаций как на вероятность появления в периферической крови клеток с мутацией V617F *JAK2*, так и на заболеваемость хроническими миелопролиферативными новообразованиями требует проведения отдельного исследования.

Также остается открытым вопрос самостоятельного диагностического значения лабораторно выявляемых низких аллельных нагрузок мутации V617F *JAK2* у пациентов без симптомов хронической миелоидной неоплазии. В отличие от результатов исследования пациентов с церебральными и висцеральными тромбозами [8–13], в работах, посвященных оценке риска скрытого носительства мутации V617F *JAK2*, не было

выявлено ее самостоятельной роли в увеличении частоты тромбозов других локализаций [11] и у пациентов с коронарным синдромом [14]. Однако следует принять во внимание, что мутации в гене *JAK2* не только определяют уровень пролиферации миелоидного ростка костного мозга, но и изменяют функциональную активность циркулирующих зрелых клеток. Мутация в гене *JAK2* повышает агрегацию тромбоцитов [7], увеличивает адгезивность эритроцитов [25], активность нейтрофилов и моноцитов [26–28], опосредуя дисфункцию эндотелиальных клеток и хроническое воспаление сосудистой стенки.

Другой аспект выявления соматической онкогенной мутации у доноров связан с оценкой риска трансфузионной безопасности реципиента. Лица с явной клинической картиной онкогематологического заболевания, безусловно, будут отстранены от донорства. Однако риск передачи трансформированного клона от донора с латентным носительством мутации реципиенту с иммуносупрессией может представлять реальную угрозу. В нашем исследовании все доноры с выявленной мутацией вряд ли могли быть источником переноса онкогенных стволовых клеток, поскольку их кровь была использована для приготовления плазмы и эритроцитарной взвеси, в которых практически отсутствуют лимфоцитарные клетки. Тем не менее недавно описанный случай [29] развития острого миелобластного лейкоза после трансплантации стволовых клеток пуповинной крови, содержащих всего 0,6% клеток с мутацией V617F *JAK2*, подчеркивает актуальность включения генетического исследования онкогенных соматических мутаций в тесты, гарантирующие безопасность трансфузий и трансплантации.

Использование разработанной нами технологии тестирования объединенных образцов крови методом высокочувствительной аллельспецифической ПЦР-РВ [23] значительно снижает стоимость исследований и может быть предложено для скринингового тестирования донорской крови.

Таким образом, впервые на территории Российской Федерации было проведено исследование доноров крови на носительство соматической онкогенной мутации V617F *JAK2* методом аллельспецифической ПЦР-РВ в объединенных образцах крови. Полученные данные свидетельствуют о высокой частоте (0,44%) выявления носителей мутации V617F *JAK2* среди обследованного контингента. Включение данного теста в лабораторные исследования может способствовать выявлению среди доноров крови лиц с повышенным тромбогенным риском, а также раннему выявлению латентной стадии миелопролиферативных заболеваний [13]. Вопросы возможного риска переноса клеток мутантного клона реципиентам, а также возможная роль частых донаций как фактора возникновения соматической мутации V617F *JAK2* требуют дополнительного изучения.

Литература

- Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V et al. JAK2 mutation 1849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Philadelphia chromosome-negative CML, and megakaryocytic leukemia. *Blood* 2005; 106:3370–3373.
- Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008; 22:14–22.
- Xu X, Zhang Q, Luo J et al. JAK2V617F: prevalence in a large Chinese hospital population. *Blood* 2007; 109:339–342.
- Orloff K, Tierney B. Community Health Screening Report, 2010. Доступно в интернете по адресу: <http://www.atsdr.cdc.gov/HAC/pha/CommunityHealthScreeninginPA2010/CommunityHealthScreeningReport.pdf> (по состоянию на 25 июня 2016 г.).
- Nielsen C, Bojesen SE, Nordestgaard BG et al. JAK2 V617F somatic mutation in the general population: myeloproliferative neoplasm development and progression rate. *Haematologica* 2014; 99:1448–1455.
- Titmarsh GJ, Duncombe AS, McMullin MF et al. How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol* 2014; 89:581–587.
- Ольховский И. А., Столяр М. А. Особенности агрегационной активности тромбоцитов у пациентов с мутацией в гене *JAK2*: гендерные отличия и эффект аспирина. *Гематология и трансфузиология* 2014; 59:11–14.
- Schwarz J, International Hematology Expert Meeting 2014 Hermagor/Austria. Доступно в интернете по адресу: <http://xn--80aaajeum3a.xn--p1ai/pdf/Myeloproliferative.pdf> (по состоянию на 25 июня 2016 г.).
- Dentali F, Ageno W, Rumi E et al. Cerebral venous thrombosis and myeloproliferative neoplasms: results from two large databases. *Thromb Res* 2014; 134:41–43.
- Passamonti SM, Biguzzi E, Cazzola M et al. The JAK2 V617F mutation in patients with cerebral venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2012; 10:998–1003.
- Xavier SG, Gadelha T, Rezende SM et al. JAK2V617F mutation in patients with thrombosis: to screen or not to screen? *Int J Lab Hematol* 2011; 33:117–124.
- Smalberg JH, Arends LR, Valla DC et al. Myeloproliferative neoplasms in Budd–Chiari syndrome and portal vein thrombosis: a meta-analysis. *Blood* 2012; 120:4921–4928.
- Ольховский И. А., Карапетян Г. Э., Горбенко А. С. и др. Выявляемость пациентов с онкогенной соматической мутацией янускиназы-2 (V617F *JAK2*) в рамках программ диспансерного и профилактического осмотров. *Клиническая лабораторная диагностика* 2016; 61:275–278.
- Muendlein A, Gasser K, Kinz E et al. Evaluation of the prevalence and prospective clinical impact of the JAK2 V617F mutation in coronary patients. *Am J Hematol* 2014; 89:295–301.
- Hinds DA, Barnholt KE, Mesa RA et al. Germ line variants predispose to both JAK2 V617F clonal hematopoiesis and myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2016; 128:1121–1128.
- Vassiliou GS. JAK2 V617F clonal disorders: fate or chance? *Blood* 2016; 128:1032–1033.
- Sidon P, El Housni H, Dessars B et al. The JAK2V617F mutation is detectable at very low level in peripheral blood of healthy donors. *Leukemia* 2006; 20:1622.

18. Tagariello G, Di Gaetano R, Sartori R et al. The JAK2V617F tyrosine kinase mutation in blood donors with upper-limit haematocrit levels. *Blood Transfusion* 2009; 7:111–116.
19. Magnussen K, Hasselbalch H, Ullum H et al. Characterization of blood donors with high haemoglobin concentration. *Vox Sang* 2013; 104:110–114.
20. Edgren G, Reilly M, Hjalgrim H et al. Donation frequency, iron loss, and risk of cancer among blood donors. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100:572–579.
21. Edgren G, Nyren O, Hultcrantz M et al. Blood donation and risk of polycythemia vera. *Transfusion* 2016; 56:1622–1627.
22. Khudhair MA. Detection of JAK2V617F mutation and estimation of serum erythropoietin among blood donors with high hematocrit. University of Baghdad, 2014. Доступно в интернете по адресу <http://www.comed.uobaghdad.edu.iq/uploads/Thesis%202015/May%20Ahmed%20Khudhair.pdf> (по состоянию на 25 мая 2016 г.).
23. Горбенко А. С., Столяр М. А., Субботина Т. Н. и др. Разработка метода определения аллельной нагрузки соматической мутации V617F в гене JAK2 (янускиназы 2) в пулах проб венозной крови. *Лабораторная служба* 2016; 1:19–25.
24. Krichevsky S, Prus E, Perlman R et al. The JAK2V617F mutation in normal individuals takes place in differentiating cells. *Blood Cells Mol Dis* 2017; 63:45–51.
25. Nemer W, De Grandis M, Brusson M. Abnormal adhesion of red blood cells in polycythemia vera: a prothrombotic effect? *Thromb Res* 2014; 133:S107–111.
26. Kubota Y, Tanaka T, Ohnishi H et al. Constitutively activated phosphatidylinositol 3-kinase primes platelets from patients with chronic myelogenous leukemia for thrombopoietin-induced aggregation. *Leukemia* 2004; 18:1127–1137.
27. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A et al. Leukocyte-platelet interaction in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol* 2005; 33:523–530.
28. Falanga A, Marchetti M. Thrombotic disease in the myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012:571–581.
29. Hirsch P, Mamez AC, Belhocine R et al. Clonal history of a cord blood donor cell leukemia with prenatal somatic JAK2 V617F mutation. *Leukemia* 2016; 30:1756–1759.

ПРОБЛЕМА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОНТАМИНАЦИИ РЕИНФУЗАТА ПРИ УДАЛЕНИИ ЮНОШЕСКИХ АНГИОФИБРОМ ОСНОВАНИЯ ЧЕРЕПА

The problem of bacterial contamination of reinfused blood spilled during surgery for juvenile nasal angiofibroma

Нерсисян М. В., Лубнин А. Ю., Сазыкина С. Ю., Капитанов Д. Н., Мошкин А. В., Александрова И. А.

Nersesyan M. V., Lubnin A. Yu., Sazykina S. Yu., Kapitanov D. N., Moshkin A. V., Aleksandrova I. A.

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н. Н. Бурденко» Министерства здравоохранения России, Москва, Россия

Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Moscow, Russian Federation

Значительная по объему операционная кровопотеря является относительно частым осложнением при хирургическом удалении юношеских ангиофибром основания черепа (ЮАОЧ), для компенсации которой часто используется аппаратная реинфузия аутоэритроцитов, полученная из раневой крови. Однако высокая частота встречаемости воспалительных изменений в околоносовых пазухах носа у пациентов с ЮАОЧ ставит вопрос о возможной бактериальной контаминации реинфузата. В связи с этим мы провели бактериологическое исследование проб крови, полученной на разных этапах обработки в аппарате для возврата аутологичной крови Cell Saver, в ходе 12 операций у 11 пациентов с ЮАОЧ, а также содержимого околоносовых пазух у 7 пациентов. Бактериальная контаминация была подтверждена последующим ростом гемокультур в 11 из 12 случаев. Ни у одного из пациентов в послеоперационном периоде не было отмечено признаков генерализации инфекции и сепсиса.

Ключевые слова: юношеские ангиофибромы основания черепа; аппаратная реинфузия эритроцитов; бактериальная контаминация реинфузата; бактериемия

Для цитирования: Нерсисян М. В., Лубнин А. Ю., Сазыкина С. Ю., Капитанов Д. Н., Мошкин А. В., Александрова И. А. *Проблема бактериальной контаминации реинфузата при удалении юношеских ангиофибром основания черепа*. Гематология и трансфузиология 2018; 63(1):71–77

doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.96..1..007>

The juvenile nasal angiofibroma (JNA) surgeries are very often complicated by massive intraoperative blood loss. In order to compensate it the intraoperative blood reinfusion of autologous erythrocytes from operative field by cell-saver is very often used. But the high probability of chronic inflammation of blocked sinuses in patients with JNA raised the question of possible bacterial contamination of reinfused blood. In this context we have carried out the bacterial tests of blood samples of different steps' cell-saver recycling in 11 patients with JNA during 12 surgeries and analyzed the bacterial status of sinuses in 7 of them. The bacterial contamination was confirmed by the following growth of hemoculture in 11 out of 12 observations. None of our patients was diagnosed with symptoms of generalization of contamination or sepsis in the postoperative period.

Keywords: juvenile nasal angiofibroma – JNA; reinfusion; cell-saver; bacterial contamination; bacteremia

For citation: Nersesyan M. V., Lubnin A. Yu., Sazykina S. Yu., Kapitanov D. N., Moshkin A. V., Aleksandrova I. A. *The problem of bacterial contamination of reinfused blood spilled during surgery for juvenile nasal angiofibroma*. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfusiologiya) 2018; 63 (1):71–77 (in Russian)

doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.96..1..007>

For correspondence: Lubnin Andrey Yu., MD, PhD, DSc., Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Moscow, 125047, Russian Federation

E-mail: Lubnin@nsi.ru

Для корреспонденции: Лубнин Андрей Юрьевич, д. м. н., профессор, заведующий отделением анестезиологии и реанимации ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н. Н. Бурденко» Министерства здравоохранения России, 125047, г. Москва, Россия
Электронная почта: Lubnin@nsi.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 03.04.18

Принята к печати 16.05.18

Information about authors:

Nersesyan M. V., <http://orcid.org/0000-0003-2719-5031>;

Lubnin A. Yu., <http://orcid.org/0000-0003-2595-5877>;

Sazykina S. Yu., <http://orcid.org/0000-0002-3074-0486>;

Kapitanov D. N., <http://orcid.org/0000-0003-3004-2140>;

Moshkin A. V., <http://orcid.org/0000-0002-9965-4578>;

Alexandrova I. A., <http://orcid.org/0000-0001-5640-9743>.

Financial disclosure. The study had no sponsorship.

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

Received 03 Apr 2018

Accepted 16 May 2018

Введение

Аппаратная реинфузия (АР) излившейся в ходе хирургической операции крови в настоящее время рассматривается как эффективная кровесберегающая технология, позволяющая если не полностью отказаться от трансфузии донорских компонентов крови, то существенно сократить трансфузионную нагрузку на оперируемого больного [1]. Это единственная из всех кровесберегающих методик, чья эффективность только возрастает по мере увеличения объема операционной кровопотери. Как и любой из методик, ей присущ ряд осложнений и нежелательных эффектов, в качестве одного из которых может рассматриваться возможная бактериальная контаминация реинфузата.

Хирургические операции при юношеских ангиофиброзах основания черепа (ЮАОЧ) являются одними из наиболее сложных в современной ЛОР-хирургии, а при распространенном процессе с инвазией опухоли в полость черепа — и нейрохирургии [2–8]. Массивная операционная кровопотеря является одним из основных факторов, осложняющих хирургические вмешательства при ЮАОЧ, и применение АР в этой ситуации представляется оправданным [2, 4, 9].

Учитывая относительно высокую частоту воспалительных процессов в придаточных пазухах носа у больных с ЮАОЧ, нам показалось интересным оценить риск возможной бактериальной контаминации реинфузата в этой клинической ситуации.

Цель работы — оценить риск бактериальной контаминации при проведении АР во время хирургических вмешательств при ЮАОЧ.

Материалы и методы

В группу исследования были включены 11 пациентов с ЮАОЧ, последовательно оперированных в НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н. Н. Бурденко эндоскопическим трансназальным доступом (один пациент был оперирован дважды в связи с рецидивом заболевания). Все пациенты — мальчики и юноши в возрасте от 9 до 20 лет (в среднем $14,5 \pm 4,5$ года).

Клиническая симптоматика при поступлении включала в себя затруднение или отсутствие носового дыхания (у 10 больных); носовые кровотечения (у 4 больных); деформацию лицевого скелета (у 3 больных); признаки воспалительного процесса в придаточных пазухах носа до операции зафиксированы во всех 12 случаях. Стадия развития ЮАОЧ была оценена по классификации Snyderman et al. [8] на основании клинико-рентгенологической оценки: IV стадия — у 7 больных; VM стадия — у 5 больных.

Семь из 11 больных поступили в НМИЦ нейрохирургии после ранее проведенного лечения в других лечебных учреждениях страны. Это лечение включало в себя хирургическое удаление ЮАОЧ (как правило, парциальное) открытым или эндоскопическим доступом (у 7 больных, причем у 4 из них неоднократно, в том числе 6 больным была проведена предоперационная эмболизация сосудов опухоли перед этими операциями). Перевязку наружной сонной артерии и ее ветвей, химиотерапию и лучевую терапию у больных не проводили. Ни в одном из наблюдений клинических признаков иммунодепрессии не отмечено. Постгеморрагическая анемия как следствие рецидивирующих носовых кровотечений до операции наблюдалась у 3 больных.

Предоперационная подготовка у всех больных включала в себя полный комплекс клинико-лабораторного обследования и 12-часовой период голодания перед операцией. Медикаментозную премедикацию не использовали, так как все пациенты находились в ясном сознании и были адекватно настроены на предстоящее вмешательство.

У 11 пациентов в 12 случаях (у одного пациента дважды) в качестве первого этапа хирургического лечения была проведена процедура эндоваскулярной эмболизации сосудов ЮАОЧ, которую выполняли в условиях аналго-седации и местной анестезии в эндоваскулярной операционной. Эту манипуляцию проводили, как правило, за день до основной операции, реже — непосредственно в день операции.

В операционной после катетеризации одной из периферических вен пациентам проводили индукцию анестезии внутривенным (в/в) введением мидазолама в дозе 2,5–5 мг, пропофола в дозе 200 мг и фентанила в дозе 0,2 мг. Миорелаксация достигалась в/в введением рокурония в дозе 50 мг, с последующим дополнительным введением по ходу операции в случае необходимости. Интубацию трахеи производили по общепринятой методике армированной трубкой соответствующего диаметра. Искусственную вентиляцию легких в ходе операции проводили в режиме нормовентиляции (PaCO₂ 37–38 мм рт. ст.) с помощью респиратора Servoventilator-900 C («Siemens», Германия) по полуоткрытому контуру кислородно-воздушной смесью (FiO₂ 0,3).

Интраоперационный мониторинг включал в себя следующие модальности: ЭКГ в трех отведениях; АД в начале неинвазивно, а после катетеризации левой лучевой артерии (при негативных результатах фотоплетизмографического теста) — прямым методом; капнография; пульсовая оксиметрия; температура тела в подмышечной впадине. Мониторинг глубины анестезии осуществляли с помощью BIS-технологии (специальный модуль мониторинга глубины анестезии анестезиологического монитора). Расположение сенсора BIS-монитора соответствовало рекомендациям производителя — лобные области и левая скуловая. Мониторинг всех физиологических показателей осуществляли с помощью стандартного анестезиологического монитора MC-90 («Philips», Нидерланды).

В качестве дополнительных венозных доступов, учитывая риск возможной массивной операционной кровопотери, катетеризировали одну из периферических вен голени (катетеры 18–20 G) и правую внутреннюю яремную вену многопросветным центральным венозным катетером. Чаще всего использовали 3-просветный катетер Certofix («B. Braun», Германия) — 16, 18 и 18 G, но при неудачных результатах эмболизации, по экспертной оценке эндоваскулярного нейрохирурга, использовали специальный 3-просветный перфузионный катетер той же фирмы (16, 16 и 14 G).

Мочевой катетер устанавливали после индукции анестезии для контроля диуреза и расчета объема инфузионной терапии. Температурный баланс поддерживали в пределах нормотермии с помощью устройства для обогрева пациента Warm Touch («Covidien», Евросоюз).

Всем пациентам в начале операции на этапе стабилизации анестезии для целей нейровегетативной стабилизации и создания «гипотензивного» фона в/в вводили клофелин в дозе 0,1 мг. Ингибирование фибринолиза с целью снижения объема операционной кровопотери достигалось в/в введением транексама, 1 г, или амбена, 100 мг.

У 8 пациентов в рамках программы кровесбережения в начале операции после индукции анестезии

была проведена острая изоводемическая гемодилюция по общепринятой методике: из центральной и одной из периферических вен эксфузировали 800–1200 мл крови пациента с одновременной в/в инфузией растворов гемодилютантов в том же объеме (кристаллоиды — ионостерил, стерофундин или 0,9% раствор натрия хлорида; коллоиды — гелофузин) в соответствующих объемах.

Для проведения аппаратной реинфузии отмытых из излившейся крови эритроцитов использовали систему SATS («Fresenius», Германия). Кардиотомный резервуар системы и двойную отсосную линию устанавливали в начале операции. В качестве стабилизатора излившейся крови использовали 0,9% раствор натрия хлорида с добавлением 10 000 ед гепарина на 400 мл раствора, скорость подачи которого в систему регулировали в зависимости от темпов операционной кровопотери.

Обработку собранной крови начинали при накоплении в кардиотомном резервуаре не менее 500 мл содержимого и продолжающейся кровопотере. Обработку собранной крови проводили в режиме High Quality Wash с шестью циклами отмытки 0,9% раствором хлорида натрия. Отмытый и концентрированный аутоэритроконцентрат с гематокритом 66% собирали в специальный пакет, затем его разводили наполовину стерильным 0,9% раствором хлорида натрия и возвращали пациенту через систему со специально включенным туда лейкоцитарным фильтром (BIO-rad, «Fresenius», Германия), по мере клинической необходимости.

Лабораторные показатели крови контролировали в следующем объеме и на следующих этапах лечения: общий клинический анализ крови, включая гемоглобин и гематокрит (Hb, Ht), количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, — после изоводемической гемодилюции, при необходимости — на высоте кровопотери, в раннем послеоперационном периоде (п/о); показатели системы гемостаза — активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), уровень фибриногена, международное нормализованное отношение (МНО) — в начале операции, а при необходимости — на высоте кровопотери, в раннем п/о периоде; биохимический анализ крови (электролиты, глюкоза, креатинин, печеночные ферменты) — в п/о периоде. Все исследования проводили в пробах венозной крови, забираемых в вакутейнеры, на анализаторах (Dimension, «Siemens», Xpand, США; Mythic 22 AL, «Орфей», Швейцария; ACL 9000, «Werfen», Швейцария) в лаборатории биохимии НМИЦ нейрохирургии.

Микробиологические исследования образцов крови проводили на бактериологическом анализаторе Vactec-FX («Beckton Dickinson», США) в лаборатории микробиологии НМИЦ нейрохирургии. Пробы крови забирали из: 1 — кардиотомного резервуара перед началом обработки на селл-сейвере; 2 — емкости для

эритроконцентрата в конце сбора; 3 — системы для реинфузии после прохождения лейкоцитарного фильтра перед трансфузией пациенту. Все образцы крови оценивали на наличие бактериального роста с видовой идентификацией выросших микроорганизмов и оценкой роста в течение 10 суток после операции.

Полученные числовые значения, нуждающиеся в сравнении, были подвергнуты статистической обработке с применением стандартных методов вариационной статистики.

Результаты и обсуждение

Результаты микробиологического исследования показали, что в 11 из 123 серий проб крови на всех этапах исследования, кроме первого, были обнаружены бактерии, что позволило в дальнейшем провести их идентификацию. Спектр выделенных микроорганизмов представлен в табл. 1. Эти микроорганизмы не являются нормальными компонентами крови и, возможно, представляют потенциальную опасность в отношении последующих воспалительных осложнений. Откуда они могли появиться в реинфузате? У 7 из 12 пациентов мы также взяли материал для микробиологического исследования из придаточных пазух носа. Возбудители в этих исследованиях оказались идентичными. Это может свидетельствовать о том, что источником

бактериальной контаминации реинфузата является микрофлора околоносовых пазух. ЮАОЧ, по мере роста, нарушает нормальные условия для аэрации и естественной санации околоносовых пазух, приводя к скоплению в них секрета с последующим инфицированием.

В этом нет ничего удивительного. Хирургия ЮАОЧ сильно изменилась за последнее десятилетие, настолько, что некоторые авторы склонны рассматривать ситуацию как смену парадигмы лечения данной патологии [7–13]. Эндоскопические технологии и эмболизация сосудов ЮАОЧ весьма существенно изменили подходы к ее лечению [2–4, 10, 13–17]. Опухоли, ранее считавшимися неоперабельными или требовавшими открытых травматичных хирургических вмешательств, стали эффективно удаляться эндоскопически, через носовые ходы. В равной степени и эмболизация сосудов ЮАОЧ (как предоперационная эндоваскулярная, так и интраоперационная тканевая) позволила коренным образом изменить ситуацию с объемом операционной кровопотери [10, 14, 17–19]. Если раньше, в «доэмболизационную» эру, удаление ЮАОЧ часто сопровождалось массивной и даже сверхмассивной операционной кровопотерей (до двух должных объемов циркулирующей крови и более), со всеми вытекающими последствиями, вплоть до летального исхода,

Таблица 1. Микробный спектр реинфузата

Больные	Мазки			
	Из придаточной пазухи	Из кардиотомного резервуара	После обработки на селл-сейвере	После прохождения лейкоцитарного фильтра
Больной А. (№ 1)	Стерильно (10 сут)	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. agalactiae</i>
Больной М. (№ 2)	<i>S. epidermidis</i> + <i>Streptococcus spp.</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i> + <i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus spp.</i>	<i>S. epidermidis</i>
Больной С. (№ 3)	<i>Streptococcus sanguinis</i> + <i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus sanguinis</i>
Больной Л. (№ 4)	—	<i>C. braakii</i>	<i>C. braakii</i> + <i>S. aureus</i>	<i>C. braakii</i> + <i>S. aureus</i>
Больной И. (№ 5)	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus spp.</i>	<i>S. aureus</i> + <i>S. agalactiae</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Pediococcus pentosaceus</i>
Больной Р. (№ 6)	—	<i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Больной И. (№ 7)	—	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i> + <i>Streptococcus pluranimalium</i>	—
Больной П. (№ 8-1)	—	<i>S. epidermidis</i> + <i>Gemella morbillorum</i>	<i>S. epidermidis</i> + <i>Gemella morbillorum</i>	<i>S. epidermidis</i> + <i>Gemella morbillorum</i>
Больной П. (№ 8-2)	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> + <i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus warneri</i> + <i>Streptococcus alactolyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>
Больной Е. (№ 9)	—	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i>
Больной К. (№ 10)	—	Стерильно (10 сут)	—	—
Больной Е. (№ 11)	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus spp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus spp.</i>
Больной К. (№ 12)	<i>S. epidermidis</i> + <i>Streptococcus spp.</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus spp.</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus spp.</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus spp.</i>

C. braakii — *Citrobacter braakii*; *S. agalactiae* — *Streptococcus agalactiae*; *S. aureus* — *Staphylococcus aureus*; *S. epidermidis* — *Staphylococcus epidermidis*.

то после внедрения эмболизации сосудов ЮАОЧ объем кровопотери снизился до 300—500 мл [4, 10, 15].

Однако проведение предоперационной суперселективной эндоваскулярной эмболизации, которая признается в настоящее время наиболее эффективной и безопасной, оказывается не всегда возможным. Это обусловлено васкуляризацией опухоли из системы внутренней сонной артерии (ВСА) при большой распространенности процесса и в особенности при интракраниальной инвазии, что связано с высоким риском ишемических церебральных осложнений [20]. Хотя и здесь предпринимались отдельные попытки временного выключения кровотока по ВСА с помощью ее окклюзии баллоном [18]. Другая относительно частая причина невозможности проведения эффективной предоперационной эмболизации является ятрогенной. Достаточно долгое время было распространено ошибочное мнение, что открытая перевязка наружной сонной артерии позволяет эффективно уменьшить кровоток в опухоли. Ошибочность такого подхода убедительно доказана: быстро развивающаяся реваскуляризация происходит из системы ВСА, а выключение наружной сонной артерии делает проведение последующей эндоваскулярной эмболизации технически невозможным. В этой ситуации риск массивной операционной кровопотери вновь становится реальным, что заставляет прибегать к комплексу кровесберегающих методик, который включает в себя в том числе и аппаратную реинфузию эритроцитов.

Феномен бактериальной контаминации различных донорских компонентов крови, но в особенности реинфузируемой крови, известен давно, причем риск именно бактериальной контаминации трансфузионных сред многократно превосходит риск инфицирования другими патогенами (вирусы, простейшие, прионы и т. д.) [21—25]. При использовании неаппаратных методов реинфузии (кровь из плевральной или брюшной полостей, не подвергнутая обработке на Cell Saver) этот феномен очевиден. Но и при использовании аппаратной реинфузии в различных областях хирургии эта проблема стоит также достаточно остро. В двух ограниченных исследованиях у 11 и 30 кардиохирургических пациентов Ishida et al. [26, 27] обнаружили бактериальную контаминацию реинфузата более чем в 80% случаев, причем в подавляющем количестве наблюдений это были стафилококки из воздуха операционной. Интраоперационное применение антибиотиков снижало контаминацию стафилококками, но не другими микроорганизмами. Несмотря на это системных проявлений инфекции не было отмечено ни у одного из пациентов [26, 27]. Следовательно, даже такая относительно «чистая» область хирургии, как кардиохирургия, при использовании аппаратной реинфузии не лишена риска бактериальной контаминации реинфузата. И тем удивительнее результаты метаанализа эффективности интраоперационного применения Cell

Saver в кардиохирургии, которое не выявило статистически значимых различий по послеоперационным инфекционным осложнениям в группах аппаратной реинфузии аутокрови и применения донорской крови [28]. Результаты более раннего исследования Bland et al. [29] еще более настораживают: 30 (96,8%) из 31 образца крови оказались культуропозитивными при бактериологическом исследовании.

Feltracco et al. [30] провели подробное бактериологическое обследование 38 больных в ходе ортотопической трансплантации печени. Первые образцы крови забирали для посева сразу же после установки центрального венозного катетера (ЦВК), при этом два из них дали положительные результаты. Из 38 проб крови, взятых из реинфузата и использованных для последующего бактериологического исследования, 26 оказались контаминированными, причем в 19 (68,4%) из этих 26 проб были обнаружены стафилококки (73%) и только в 3 — грибы рода *Candida*. Авторы проанализировали образцы крови всех пациентов, взятые на первые и третьи сутки после операции. Ни в одной из проб не было получено бактериального роста, даже у тех 2 пациентов, у которых наблюдался рост в посевах проб крови, взятых сразу же после постановки ЦВК. Отсутствие серьезных бактериальных осложнений в послеоперационном периоде у пациентов авторы объяснили профилактической терапией антибиотиками широкого спектра и противогрибковыми препаратами и, возможно, относительно небольшим количеством бактерий в 1 мл реинфузата. Возможно, это и так, но каких-либо серьезных инфекционных осложнений ни у кого из больных в этом исследовании в послеоперационном периоде не было.

Kudo et al. [31] опубликовали результаты цитологического и бактериологического исследований реинфузируемой крови у 37 нейрохирургических больных. Основанием для аппаратной реинфузии была кровопотеря более 1000 мл. И снова результаты впечатляют: в 14 (46,7%) из 30 проб был отмечен рост бактериальных культур, и в основном опять стафилококков. Но при этом у больных отсутствовали какие-либо серьезные инфекционные осложнения.

Интерес представляют и результаты метаанализа, проведенного английскими авторами еще в 1996 г. [32]. Сравнивая частоту послеоперационных инфекционных осложнений у больных, у которых для компенсации операционной кровопотери использовали донорскую или реинфузируемую аутокровь, авторы обнаружили, что риск послеоперационных инфекционных осложнений был выше в группе больных, получивших донорскую кровь.

Недавно авторами из Кейптауна была опубликована работа с небольшим числом наблюдений (10 больных), посвященная использованию аппаратной реинфузии при удалении ЮАОЧ и бактериологическому контролю реинфузата. Средний объем операционной

кровопотери составил 1530 мл (от 500 до 4000 мл) при среднем объеме реинфузии, равном 875 мл (от 200 до 2600 мл). Рост бактерий в образцах крови был обнаружен у всех больных, однако системная воспалительная реакция с тахикардией, повышением температуры и транзиторной бактериемией была отмечена в послеоперационном периоде только у 2 больных, и она быстро регрессировала на фоне проводимой антибактериальной терапии [33]. Как указывают авторы, именно у этих 2 больных по каким-то техническим причинам не был использован лейкоцитарный фильтр при реинфузии аутоэритроцитов. Вопрос об эффективности применения лейкоцитарных фильтров для устранения бактериальной контаминации компонентов крови остается не до конца изученным и понятным, хотя есть единичные положительные публикации и на эту тему [34]. Теоретически сложно себе это представить, но, если учесть сложность и многофакторность воздействия лейкоцитарных фильтров на пропускаемые через них компоненты крови, включая электрохимические градиенты, возможность такого эффекта полностью исключить нельзя. В НМИЦ нейрохирургии в каждом случае ретрансфузии излившейся крови после аппаратной обработки обязательно используются лейкоцитарные фильтры, и возможно, что наряду с назначением антибиотиков широкого спектра это помогло избежать серьезных инфекционных осложнений в послеоперационном периоде в серии наших наблюдений.

Рассматривая использование компонентов донорской крови, можно констатировать, что принципиально все донорские компоненты крови подвержены риску бактериальной контаминации. Самыми опасными в этом отношении признаны тромбоциты. Риск инфицирования при их применении из-за хранения при комнатной температуре в десятки раз превышает риск при использовании других компонентов крови [35–37].

Нельзя исключить и феномен транзиторной бактериемии. Появление в крови бактерий, которые не являются ее нормальными компонентами, — частое явление. Описано развитие транзиторной бактериемии после чистки зубов, при минимальных процедурах, связанных с повреждением слизистых или кожи, после акта дефекации, особенно если он протекает с натуживанием [38–40], но при этом никто не заболевает серьезно при условии сохранного иммунитета. К этому феномену следует относиться настороженно, но ни в коем случае не идентифицировать его с такой серьезной проблемой, как сепсис и системная воспалительная реакция.

Выводы

1. Массивная операционная кровопотеря, несмотря на прогресс хирургии ЮАОЧ (эндоскопия, предоперационная эмболизация), остается серьезной клинической проблемой, требующей применения комплекса современных кровесберегающих методик.

2. Аппаратная реинфузия отмытых из раневой крови аутоэритроцитов представляет собой особую кровесберегающую технологию, которая должна использоваться при удалении ЮАОЧ.

3. Бактериальная контаминация реинфузата является распространенным клиническим феноменом при аппаратной реинфузии в различных областях хирургии, в том числе при удалении ЮАОЧ. Однако бактериемия при этом не сопровождается признаками генерализации инфекции или сепсиса и, вероятно, носит транзиторный характер.

Литература

1. Лубнин А. Ю., Громова В. В., Ханзен Э. Реинфузия крови в хирургии. — Тверь: Триада, 2013.
2. Гольбин Д. А., Черкаев В. А., Голанов А. И. и др. Тактика лечения распространенных краниофациальных ювенильных ангиофибром. Онкохирургия 2012; 4:5–14.
3. Нерсисян М. В., Капитанов Д. Н., Шелеско Е. В., Зинкевич Д. Н. Дифференцированный подход к диагностике и лечению юношеских ангиофибром основания черепа. Техника эндоскопических операций. Журнал оториноларингологии и респираторной патологии (Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae) 2017; 23:17–34.
4. Leong SC. A systematic review of surgical outcomes for advanced juvenile nasopharyngeal angiofibroma with intracranial involvement. Laryngoscope 2013; 123:1125–1131. doi:10.1002/lary.23760.
5. Lund VJ, Stammberger H, Nicolai P et al. European position paper on endoscopic management of tumors of the nose, paranasal sinuses and skull base. Rhinol Suppl 2010; 22:1–143.
6. Nersesyan M, Kapitanov D, Lopatin A et al. Our experience in endoscopic management of relapsed juvenile nasal angiofibroma. Eur Arch Otolaryngol 2009; 266:1076–7. doi:10.1007/s00405-009-0987-7.
7. Rowan NR, Zwagerman ME, Heft-Neal PA et al. Juvenile nasal angiofibromas: A comparison of modern staging systems in an endoscopic era. J Neurol Surg 2017; 78:63–67. doi:10.1055/s-0036-1584903.
8. Snyderman CH, Pant H, Carrau RL et al. A new endoscopic staging system for angiofibromas. Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg 2010; 136:588–594. doi:10.1001/archoto.2010.83.
9. Lopez F, Triantafyllou A, Snyderman CH et al. Nasal juvenile angiofibroma: Current perspectives with emphasis on management. Head Neck 2017; 39:1033–1045. doi:10.1002/hed.24696.
10. Dahl JP, Zopf DA, Parikh SR. Do open and endoscopic resection approaches to juvenile angiofibroma results in similar blood loss and recurrence rates? Laryngoscope 2015; 125:2436–2437. doi:10.1002/lary.25471.
11. Lato MA, Hamid WU, Jallu AS et al. Nasopharyngeal angiofibroma: Paradigm shift in management. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg 2017; 69:47–51. doi:10.1007/s12070-016-1049-2.
12. Cherekaev VA, Golbin DA, Kapitanov DN et al. Advanced craniofacial juvenile nasopharyngeal angiofibroma. Description of surgical series cases report, and review of the literature. Acta Neurochir (Wien) 2011; 153:499–508. doi:10.1007/s00701-010-0922-0.
13. Renkonen S, Hagstrom J, Vuola J et al. The changing surgical management of juvenile nasopharyngeal angiofibroma. Eur Arch Otolaryngol 2011; 268:599–607. doi:10.1007/s00405-010-1383-z.

14. Boghani Z, Husain Q, Kammuri W et al. Juvenile nasopharyngeal angiofibroma: A systematic review and comparison of endoscopic, endoscopic-assisted and open resection in 1047 cases. *Laryngoscope* 2013; 123:859–869. doi:10.1002/lary.23843.
15. Fyrmpas G, Konstantinidis I, Constantinidis J. Endoscopic treatment of juvenile nasopharyngeal angiofibromas: our experience and review of the literature. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012; 269:523–529. doi:10.1007/s00405-011-1708-6.
16. Garofalo P, Pia F, Policarpo M et al. Juvenile nasopharyngeal angiofibroma: comparison between endoscopic and open operative approaches. *J Craniofac Surg* 2015; 26:918–921. doi:10.1097/SCS.0000000000001693.
17. Khouier N, Nicolas N, Rohayem Z et al. Exclusive endoscopic resection of juvenile nasopharyngeal angiofibroma: A systematic review of the literature. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2014; 150:350–358. doi:10.1177/0194599813516605.
18. Santos-Franco JA, Lee A, Campos-Navarro LA et al. Bilateral non-supraselective embolization with particles under transient occlusion of the internal carotid artery in the management of juvenile nasopharyngeal angiofibroma: technical note. *Vasc Endovasc Surg* 2012; 46:559–564. doi:10.1177/153854412456436.
19. Thanbahuy P, Borsik M, Herman P et al. Direct intratumoral embolization of juvenile angiofibroma. *Am J Otolaryngol* 1994; 15:429–435.
20. Арустамян С. Р., Лубнин А. Ю. Эмболизация сосудов при опухолях головного мозга. *Вопросы нейрохирургии* 2000; 64:30–34.
21. Dopcik-Smith ND, Hay SN, Brecher ME. Bacterial contamination of blood products: factors, options, and insights. *J Clin Apher* 2001; 16:192–201.
22. Morel P, Leconte des Floris MF, Bardiaux L et al. Transfusion du sang et risk bacterial. *Transfus Clin Biol* 2000; 7:15–23.
23. Reading FC, Brecher ME. Transfusion-related bacterial sepsis. *Curr Opin Hematol* 2001; 8:380–386.
24. Sugai Y, Sugai K, Fuse A. Current status of bacterial contamination of autologous blood for transfusion. *Transfus Apher Sci* 2001; 24:255–259.
25. Wagner SJ. Transfusion-transmitted bacterial infection: risk, sources, and interventions. *Vox Sang* 2004; 86:157–163.
26. Ishida T, Nakano K, Nakatani H et al. Is open heart surgery clean: bacteriologic analysis of salvaged blood. *Kyobu Geka* 2001; 54:207–210.
27. Ishida T, Nakano S, Nakatani H et al. Bacterial contamination of salvaged blood in open heart surgery: is that an airborne contamination or a normal skin flora contamination? *Kyobu Geka* 2001; 54:753–757.
28. Wang G, Bainbridge D, Pharm JM et al. The efficacy of an intraoperative cell-saver during cardiac surgery: A meta-analysis of randomized trials. *Anesth Analg* 2009; 109:320–323. doi:10.1213/ane.0b013e3181aa084c.
29. Bland LA, Villarino ME, Arduino MJ et al. Bacteriologic and endotoxin analysis of salvaged blood used in autologous transfusions during cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 103:582–588.
30. Filtracco P, Michioletto S, Barbieri S et al. Microbiologic contamination of intraoperative blood salvaged during liver transplantation. *Transplant Proc* 2007; 39:1889–1991. doi:10.1016/j.transproceed.2007.05.005.
31. Kudo H, Fujita H, Hanada Y et al. Cytological and bacteriological studies of intraoperative autologous blood in neurosurgery. *Surg Neurol* 2004; 62:195–199. doi:10.1016/j.surneu.2003.10.044.
32. Duffu G, Neal KR. Differences in post-operative infection rates between patients receiving autologous and allogenic blood transfusion: a meta-analysis of published randomized and nonrandomized studies. *Transfus Med* 1996; 6:325–328.
33. Wasl H, McGuire JL, Lubbe D. Avoiding allogenic blood transfusion in endoscopic angiofibroma surgery. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2016; 45:25–30. doi:10.1186/s40463-016-0135-5.
34. Waters J, Tuohy M, Hobson D et al. Bacterial reduction by cell-saver salvage washing and leukocyte depletion filtration. *Anesthesiology* 2003; 99:652–655.
35. Hewitt P. Bacterial contamination // In: Murphy MF, Pamphilon DH, eds. *Practical Transfusion Medicine*. — London: Blackwell Sci, 2001; pp. 169–174.
36. Petz L. D. The surgeon and the transfusion service: Essentials of compatibility testing, surgical blood ordering, emergency blood needs, and adverse reactions // In: Spiess BD, Counts RB, Gould SA, eds. *Perioperative Transfusion Medicine*. — Baltimore: Williams Wilkins, 1998; pp. 45–59.
37. Warner MA. Infectious risk of transfusion // In: Spiess BD, Counts RB, Gould SA, eds. *Perioperative Transfusion Medicine*. — Baltimore: Williams Wilkins, 1998; pp. 98–110.
38. Baram N, Megged O, Weiser G. Occult bacteremia: Should we look for the needle in the haystack? *Isr Med Assoc J* 2016; 18:649–651.
39. Larsen T, Fiehn NE. Dental biofilm infections — an update. *APMIS* 2017; 125:376–384. doi:10.1111/apm.12688.
40. Smith D. A., Nehring S. M. *Bacteremia*. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls publishing, 2017:1–3.

ПРИМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАТОВ ПРОТРОМБИНОВОГО КОМПЛЕКСА ПО УТВЕРЖДЕННЫМ И НЕУТВЕРЖДЕННЫМ ПОКАЗАНИЯМ: НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ СТАРЫХ ПРЕПАРАТОВ

Label and off-label applications of prothrombin complex concentrates. New perspectives of old drugs

Галстян Г. М.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России, Москва, Россия

Galstyan G. M.

National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

Концентраты протромбинового комплекса (КПК), содержащие витамин К-зависимые факторы, были разработаны для реверсии действия антагонистов витаминов. Однако в последние годы КПК все чаще применяются по другим показаниям. Роль настоящего обзора — осветить применение КПК для лечения кровотечений при реверсии действия прямых оральных антикоагулянтов, при оперативных вмешательствах, травме, заболеваниях печени. Обсуждается также безопасность КПК.

Ключевые слова: концентраты протромбинового комплекса; факторы свертывания крови; антикоагулянты, реверсия действия антикоагулянтов; острое кровотечение

Для цитирования: Галстян Г. М. *Применение концентратов протромбинового комплекса по утвержденным и неутвержденным показаниям: новые перспективы старых препаратов.* Гематология и трансфузиология 2018; 63(1):78–91
doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.30..1..008>

Для корреспонденции: Галстян Геннадий Мартинович, доктор мед. наук, заведующий научно-клиническим отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Министерства здравоохранения России, 125167, г. Москва, Россия. E-mail: gengalst@gmail.com

Финансирование. Финансовая поддержка отсутствует.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 12.05.18

Принята к печати 16.05.18

The prothrombin complex concentrates (PCCs), containing therapeutic doses of vitamin K-dependent coagulation factors, were licensed for reversal of vitamin K antagonist therapy. However, recently clinicians sought to use PCCs for any number of off-label indications. The goal of this review is to explore practical issues regarding PCCs. Specifically, aims are to examine the role of PCCs in vitamin K antagonist reversal, review its potential use in the treatment of hemorrhage due to direct oral anticoagulants, and explore potential uses in liver disease, trauma-associated bleeding, etc. Safety and other practical considerations of PCCs will also be discussed.

Keywords: prothrombin complex concentrates; blood coagulation factors; anticoagulants; anticoagulant reversal; emergency bleeding

For citation: Galstyan G. M. *Label and off-label applications of prothrombin complex concentrates. New perspectives of old drugs.* Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfusiologya) 2018; 63 (1):78–91 (in Russian)
doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.30..1..008>

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

Information about author: Galstyan G.M., <http://orcid.org/0000-0001-8818-8949>.

Acknowledgments. Financial support is not available.

Disclosures. All authors have not disclosed potential conflict of interest regarding the content of this paper.

Received 12 May 2018

Accepted 16 May 2018

Концентраты протромбинового комплекса (КПК) были разработаны во второй половине XX века для лечения гемофилии В. Гемофилия В — врожденное заболевание, характеризующееся дефицитом фактора IX (FIX) [1]. Поскольку получить очищенный FIX в то время было технологически сложно, были разработаны КПК, которые, помимо FIX, содержали другие факторы протромбинового комплекса, при этом доза КПК указывалась по содержанию в нем FIX в международных единицах. В настоящее время для лечения гемофилии В КПК не используют, так как существуют концентраты плазматического или рекомбинантного FIX. Однако КПК не только не вышли из арсенала терапевтических средств для лечения нарушений гемостаза, но и нашли новые области применения.

КПК получают из плазмы с помощью ионообменной хроматографии [2]. Вирусная безопасность КПК достигается отбором доноров, скринингом индивидуальных донорских образцов и пулов плазмы на выявление маркеров инфекции, а также использованием при производстве методов инактивации/удаления вирусов. Принимаемые меры эффективны в отношении оболочечных вирусов, таких как ВИЧ-1/2, вирусов гепатитов В и С и безоболочечного вируса гепатита А, однако могут быть недостаточно эффективны в отношении некоторых безоболочечных вирусов (например, парвовируса В19) [3].

Поскольку КПК содержат факторы свертывания, одной из важных проблем при их использовании является их тромбогенность. Тромбогенность КПК обусловлена наличием в них активированных факторов свертывания, прокоагулянтных фосфолипидов, зимогенов, содержанием факторов свертывания с различными периодами полужизни [2, 4, 5].

Препаратом КПК, содержащим активированные факторы свертывания, является FEIBA (Factor Eight Inhibitor Bypass Activity). Этот препарат обладает активностью, шунтирующей ингибитор к FVIII. Ведущая роль в механизме его действия отводится содержащимся в нем, наряду с неактивированными факторами свертывания, активированным факторам свертывания: FII/FIIa 650/0,5 МЕ, FVII/FVIIa 450/750 МЕ и FXa. Препарат FEIBA имеет узкий спектр применения и предназначен только для лечения и профилактики кровотечений у больных ингибиторной формой гемофилии [6].

Другая причина тромбогенности КПК — это перегрузка зимогенами, т. е. неактивными формами факторов свертывания. Среди них ведущая роль принадлежит протромбину. При высокой концентрации тканевого фактора протромбин является основным детерминантом генерации тромбина [4].

В экспериментах на кроликах [7] показано, что тромбогенность КПК может быть обусловлена контаминацией КПК прокоагулянтными фосфолипидами,

которые попадают в препарат из плазмы в процессе приготовления. Получение КПК из плазмы, свободной от тромбоцитов, а также обработка растворителем и детергентом полностью устраняют прокоагулянтные фосфолипиды из конечного продукта.

На тромбогенность КПК влияет режим введения. Длительное время считалось, что быстрая инфузия препарата повышает риск тромботических осложнений [7], поэтому была рекомендована скорость введения раствора КПК, не превышающая 1 мл/мин. Превышать ее рекомендовалось только в случаях угрожающего жизни кровотечения, причем только при введении первой дозы КПК. В настоящее время большинство производителей КПК рекомендуют скорость введения КПК от 2 до 4 мл/мин. Однако, как показали Rabinger et al. [8], даже при большей скорости введения КПК (2–40 мл/мин) тромбогенность не возросла. Скорость инфузии не влияла на содержание D-димера, фрагментов активации протромбина 1 + 2, тромбин-антитромбиновых комплексов, а также международного нормализованного отношения (МНО) через 30 мин после окончания инфузии [8].

Тромбогенность повышается при повторных введениях больших доз КПК [5]. Факторы, входящие в состав КПК, имеют разный период полужизни: FII — 60 ч, FX — 30 ч, FIX — 20 ч и FVII — 6 ч [4]. При повторных введениях происходит накопление факторов с более длительным периодом полужизни (FII и FX), что создает протромбогенное состояние. Поэтому накопление факторов необходимо учитывать при необходимости повторных введений КПК.

В современных КПК содержание FII снижено по сравнению с другими факторами. Уменьшает тромбогенность КПК и добавление к ним антикоагулянтов. Добавление в состав КПК гепарина и антитромбина позволяет полностью нейтрализовать потенциальный тромбогенный эффект, вызываемый генерацией FIXa и FXa [5]. Если к КПК добавить только гепарин или только антитромбин, то коагуляционная активность нейтрализуется лишь частично [9]. Действие гепарина, как было показано с помощью тромбоэластографии (ТЭГ), нейтрализуется при добавлении к пробе протамина сульфата [10]. Более того, при введении больших доз КПК влияние антикоагулянтов на системный гемостаз может оказаться даже клинически значимым. Как видно из табл. 1, количество гепарина во флаконах КПК, содержащих 500–600 МЕ FIX, колеблется от 300 до 10 МЕ на флакон. Наличие гепарина в составе КПК следует учитывать, так как такие препараты противопоказаны больным с гепарин-индуцированной тромбоцитопенией. Помимо гепарина и антитромбина для снижения тромбогенности в КПК добавляются и другие антикоагулянты (протеин С, протеин S, протеин Z).

Добавление антикоагулянтов позволяет скомпенсировать повышенное содержание факторов свертывания

вания и уменьшить риск тромбообразования. При введении КПК 15 здоровым добровольцам отмечено одновременное повышение как содержания факторов свертывания, так и концентрации протеинов С и S, но при этом не было признаков тромбозов, а концентрация D-димера оставалась неизменной [15]. Сравнение двух КПК, Kaskadil® («LFB», Франция) и Octaplex® («Octapharma»), содержащих одни и те же факторы свертывания (FII, FVII, FIX, FX, протеины С и S, гепарин), показало, что добавление их *in vitro* к плазме 15 больных, получавших оральные антикоагулянты, дозозависимо повышало эндогенный тромбиновый потенциал в образцах плазмы, причем препарат Kaskadil® повышал его в большей степени, чем препарат Octaplex® [16]. Эти различия объясняются большим содержанием протеина С в препарате Octaplex® (27,5 МЕ/мл) по сравнению с препаратом Kaskadil®, в котором были выявлены лишь следы протеина С. При лабораторном сравнении способности ингибировать тромбин у семи КПК различных производителей (Beriplex P/N, «CSL Behring»; Octaplex, «Octapharma»; S-TIM 4, «Baxter»; PPSB, «CAF-DCF»; Uman Complex, «Kedrion»; Kaskadil, «LFB» и Cofact, «Sanquin») было показано, что она выше всего у КПК Beriplex P/N (66 МЕ/мл) и S-TIM 4 (61 МЕ/мл). У остальных КПК этот показатель был значительно ниже: Kaskadil — 14,5 МЕ/мл, Uman Complex — 8,5 МЕ/мл, PPSB — 3,6 МЕ/мл, Octaplex — 1,8 МЕ/мл. Разная способность ингибировать тромбин объясняется различиями в содержании антикоагулянтов (протеина С, протеина S, протеина Z, антитромбина, гепарина) [11].

Сравнение трехфакторных (3F-КПК) и четырехфакторных (4F-КПК) КПК. 3F-КПК содержат факторы свертывания FII, FIX, FX, в то время как 4F-КПК, кроме трех этих факторов, содержат также FVII и антикоагулянты [2]. 3F-КПК дешевле, чем 4F-КПК [17],

поэтому возникает закономерный вопрос: нужно ли использовать 4F-КПК, если будут эффективны 3F-КПК, не будут ли 4F-КПК более тромбогенны, чем 3F-КПК? Эффективность и безопасность 3F-КПК и 4F-КПК сравнивается в целом ряде работ.

Терапия 3F-КПК была эффективна и безопасна у больных с внутримозговыми кровоизлияниями, ассоциированными с приемом антагонистов витамина К [18]. В группе из 46 больных уже через 30 мин после введения КПК в дозе 35–50 ЕД/кг МНО снизилось с 3,5 до 1,3, при этом не наблюдалось тромботических осложнений. Авторы считают, что нет необходимости использовать 4F-КПК, поскольку добавление FVII не повышало эффективности КПК [18].

Этим данным противоречат эксперименты Herzog et al. [19]. Для сравнения эффективности 3F-КПК и 4F-КПК при реверсии действия кумаринов они давали крысам 2,5 мг/кг фенпрокумона, а затем через 15,75 ч вводили животным однократно 0,9% раствор натрия хлорида, 3F-КПК либо 4F-КПК. Прием кумарина вызывал у крыс удлинение времени кровотечения с 823 до 1800 с, протромбинового времени — с 8,9 до 29,9 с, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) — с 14,5 до 25,5 с. Введение 4F-КПК сокращало время кровотечения до 676 с, протромбиновое время — до 15,1 с, в то время как введение 3F-КПК приводило лишь к незначительному укорочению времени кровотечения до 1398 с и протромбинового времени до 23,8 с. Авторы считают, что для реверсии действия кумаринов предпочтительнее использовать 4F-КПК, чем 3F-КПК.

В клиническом исследовании [17] 134 больным с кровотечениями, вызванными приемом варфарина, вводили либо 3F-КПК ($n = 77$), либо 4F-КПК ($n = 57$) с целью достичь МНО $\leq 1,3$. Доза 3F-КПК составляла $24,6 \pm 9,3$ МЕ/кг, доза 4F-КПК — $36,3 \pm 12,8$ МЕ/кг ($p < 0,001$). В группе 3F-КПК МНО исходно было

Таблица 1. Содержание факторов свертывания и антикоагулянтов в 1 мл готового раствора препарата КПК [11–16]

Показатель	Prothromplex 600, «Baxter»	Beriplex, «CSL Behring»	Kaskadil, «LFB»	Octaplex, «Octapharma»	Cofact, «Sanquin»
FII, МЕ/мл	30	31	37	38	14–35
FVII, МЕ/мл	25	16	10	24	7–20
FIX, МЕ/мл	30	29	25	25	25
FX, МЕ/мл	30	41	40	30	14–35
Протеин С, МЕ/мл	≥ 20	35	Следы, 4,8–32	31	—
Протеин S, МЕ/мл	—	25	19	32	—
Протеин Z, МЕ/мл	—	36	—	—	—
Антитромбин, МЕ/мл	0,75–1,5	0,6–1,5	Следы	—	Менее 0,6
Гепарин					
МЕ/1 МЕ FIX	Менее 0,5	0,02–0,07	0,2	0,5	Нет
1 МЕ в 1 мл раствора	Менее 15	0,52–2	5	12,5	

ниже ($3,61 \pm 2,3$), чем в группе 4F-КПК ($6,87 \pm 2,3$; $p < 0,001$). После введения 4F-КПК чаще наблюдалась нормализация МНО, чем после 3F-КПК (84,2 и 51,9% соответственно; $p = 0,0001$).

В ретроспективном исследовании Mohan et al. [20] оценивали эффективность 3F-КПК и 4F-КПК у 187 больных с увеличенным по различным причинам МНО: у 128 больных после приема варфарина и у 61 больного независимо от приема варфарина (заболевания печени, кровотечения и т. д.). Целью лечения было уменьшение МНО до 1,3. Оба препарата уменьшали МНО как при варфарин-ассоциированной коагулопатии, так и при коагулопатии, не связанной с приемом варфарина, но введение 4F-КПК приводило к меньшим значениям МНО, чем введение 3F-КПК, хотя в работе не проведены данные статистического сравнения этих изменений.

В другом клиническом исследовании [21] для реверсии действия варфарина 81 больной получил 3F-КПК в малых дозах (25 МЕ/кг) либо в больших дозах (50 МЕ/кг), результаты сравнивали с больными, которые получили только свежезамороженную плазму (СЗП). Переливание в среднем 3,6 дозы СЗП (диапазон от 2 до 8 доз) приводило к снижению МНО с 9,4 (диапазон от 5,1 до 9,4) до 2,3 (диапазон от 1,2 до 5,0). Введение 3F-КПК приводило к снижению МНО как при малых дозах КПК (от начального МНО 9,0 [5,2–15] до МНО 4,6 [1,4–15]), так и при больших дозах КПК (от начального МНО 8,6 [5,3–15] до МНО 4,7 [1,4–15]), но полная коррекция МНО ($< 1,5$) достигалась только после дополнительного переливания СЗП, содержащей FVII. Данные этого исследования свидетельствуют о важности FVII для коррекции МНО. Имеется обратная связь между содержанием FVII и МНО, но она носит нелинейный характер. У больных с МНО более 4–5 концентрация FVII не превышает 5–10% [22]. В отличие от других факторов свертывания, для обеспечения адекватного гемостаза требуется лишь 10–15% FVII. Поэтому для коррекции гемостаза 3F-КПК рекомендуется использовать только у больных с относительно низким МНО (ниже 4), у больных же с высоким МНО следует отдавать предпочтение 4F-КПК [23]. В случаях, когда имеются только 3F-КПК, рекомендуется добавлять к терапии СЗП как источник FVII [24].

В то же время следует принимать во внимание, что FVII имеет короткий период полужизни (5 ч) по сравнению с другими витамин К зависимыми факторами, период полужизни которых составляет от 15 до 65 ч [25]. Увеличение МНО — важный маркер варфарин-ассоциированной коагулопатии. МНО отражает активность FVII и факторов общего пути — FII и FX. Реагенты, используемые для теста МНО, наиболее чувствительны к FVII, потому наличие или отсутствие этого фактора отражается на МНО, в то время как FII и FX на значения МНО влияют в меньшей степени, а FIX вообще не влияет. Поэтому использование во многих работах для

оценки эффекта КПК только величины МНО может объективно не отражать действие препаратов. На самом деле объективную оценку можно дать лишь по прекращению кровотечения и улучшению исходов лечения, что не всегда коррелирует с величиной МНО [17].

В Российской Федерации в настоящее время зарегистрированы как 4F-КПК — Octaplex («Octapharma»), Prothromplex 600 («Shire») и Coaplex («CSL-Behring»), так и 3F-КПК — Uman Complex («Kedrion»).

Дозирование КПК

Индивидуальный подбор доз КПК приводит к более быстрой и эффективной коррекции нарушений гемостаза и экономически выгоден [13, 26]. В проспективном контролируемом рандомизированном исследовании [13] больные, в зависимости от метода выбора дозы КПК, были разделены на две группы. Первая группа (47 больных) независимо от исходного МНО получала стандартную дозу 500 МЕ 4F-КПК (препарат Cofact®, Нидерланды), вторая группа (46 больных) — тот же препарат, но в дозе, индивидуально рассчитанной по разнице между исходным и целевым (1,5–2,1) МНО и массе тела. Группы не различались по исходному МНО, массе тела, возрасту больных. Через 15 мин после введения КПК целевое МНО было достигнуто у 89% больных с индивидуально рассчитанной дозой и лишь у 43% получивших стандартную дозу [13].

Существуют различные схемы назначения КПК при дефиците витамин К зависимых факторов.

I. *С помощью протромбина по Квику*. Протромбиновый индекс и активность протромбина по Квику могут совпадать друг с другом в области нормальных значений, однако расходятся в зоне низких значений. Формула расчета дозы КПК (в МЕ) с использованием протромбина по Квику [27]:

$$(\text{ПК}_{\text{целевой}} - \text{ПК}_{\text{исходный}}) \times \text{масса тела (в кг)},$$

где ПК — протромбин по Квику, в %.

Например, если у больного с массой тела 70 кг и значением протромбина по Квику 15% необходимо достичь значения протромбина по Квику 50%, доза КПК составит:

$$(50\% - 15\%) \times 70 \text{ кг} = 2450 \text{ МЕ}.$$

II. *Расчет дозы можно провести по МНО, пересчитанному в процент протромбинового комплекса* (табл. 2). «Процентный» метод основан на допущении [28], что 1 мл нормальной плазмы содержит 1 ед каждого из факторов свертывания и что уровень протромбинового комплекса, выраженный в % от нормальной плазмы, соответствует среднему уровню витамин К зависимых факторов свертывания [28].

Для расчета дозы КПК целевое и имеющееся у больного МНО пересчитывается в % протромбинового комплекса (ПК), и доза препарата рассчитывается по формуле:

$$(PK_{\text{целевой}} - PK_{\text{исходный}}) \times \text{масса тела (в кг)},$$

где PK — протромбиновый комплекс, в %.

Например, если у больного с массой тела 80 кг МНО составляет 7 и надо достичь МНО, равного 1,5, то доза КПК составит:

$$(40\% - 5\%) \times 80 \text{ кг} = 2800 \text{ МЕ}.$$

III. Метод расчета дозы КПК с учетом исходного МНО и массы тела больного. При таком подходе полная реверсия действия варфарина достигается в 83% случаев [29]. В большинстве случаев, независимо от величины МНО, купировать геморрагический синдром помогает доза 30 МЕ/кг [29]. У пожилых больных часто бывает достаточной доза 500 МЕ КПК [29].

IV. Расчет дозы КПК с помощью метода тромбоэластометрии. Действие КПК можно контролировать с помощью «прикроватных методов диагностики» (Point of Care), в частности ТЭГ и тромбоэластометрии (ТЭМ). Показаниями к введению КПК при ТЭГ могут быть удлинение времени R, периода K и уменьшение угла альфа [26, 30]. ТЭГ может выполняться без активаторов, с активацией одновременно по внутреннему и внешнему пути (RapidTEG), активацией по внутреннему пути (KaolinTEG) и каолином с гепариной [30]. В РОТЭМ, в отличие от ТЭГ, помимо активации по внутреннему пути (INTEM) отдельно можно выполнить исследование с активацией по внешнему пути с использованием тканевого фактора. Это позволяет не только установить показания к введению КПК, но и рассчитать дозу КПК [31]. Подобно протромбиновому времени, параметр Clotting Time (CT) в тесте EXTEM отражает коагуляцию после активации тканевым фактором, хотя EXTEM_{CT} не эквивалентен протромбиновому времени. У больных с травмой найдена слабая корреляция ($r = 0,53$) между CT и протромбиновым временем [26]. Время реакции (R), эквивалент CT на каолин-активированной ТЭГ, плохо коррелирует с протромбиновым временем. При оценке эффектов КПК также следует ориентировать-

Таблица 2. Соотношение между МНО и величиной протромбинового комплекса в плазме больного [28]

МНО	Протромбиновый комплекс как % от нормальной плазмы
Выше 5	5
4,0–4,9	10
2,6–3,2	15
2,2–2,5	20
1,9–2,1	25
1,7–1,8	30
1,4–1,6	40
1,0	100

ся прежде всего на СТ. КПК усиливают генерацию тромбина, мало влияя на плотность сгустка, поэтому при их введении укорачивается СТ и мало меняется MCF [32].

Расчет дозы КПК по РОТЭМ может осуществляться разными методами. Tanaka et al. [31] предлагают рассчитывать дозу по следующему алгоритму:

$$\text{EXTEM}_{\text{CT}} = 81 - 100 \text{ с} - \text{доза КПК } 7,5 \text{ МЕ/кг};$$

$$\text{EXTEM}_{\text{CT}} = 101 - 120 \text{ с} - \text{доза КПК } 15 \text{ МЕ/кг};$$

$$\text{EXTEM}_{\text{CT}} \geq 120 \text{ с} - \text{доза КПК } 22,5 \text{ МЕ/кг}.$$

По другим данным [33], при EXTEM_{CT} более 90 с рекомендуется вводить 20–25 МЕ/кг КПК, при EXTEM_{CT} более 100 с и наличии кровотечения — 35–40 МЕ/кг. В случае сохраняющегося кровотечения и если EXTEM_{CT} не сократилось до менее 80 с, рекомендуется повторное введение 20–25 МЕ/кг КПК.

В одноцентровом исследовании у кардиохирургических больных введение 4F-КПК для коррекции нарушений гемостаза по данным РОТЭМ ассоциировалось с меньшим использованием аллогенных компонентов крови и уменьшением случаев тромбоэмболических осложнений по сравнению с историческим контролем [33]. Авторам не удалось показать улучшение исходов лечения, однако сравнение проводили с историческим контролем, в котором было меньше экстренных случаев и менее сложные процедуры, чем в исследуемой группе.

В ретроспективном исследовании [34] сравнили результаты трансфузионной терапии при травме у 601 больного, получившего СЗП (медиана 6 доз), и 80 больных, которым по данным РОТЭМ вводили концентрат фибриногена (медиана 6 г) и КПК (медиана 1200 МЕ). Показанием к введению КПК было удлинение EXTEM_{CT} до более 1,5 нормы. В группе СЗП эритроциты не были перелиты только 3% больных, в то время как использование РОТЭМ позволило избежать трансфузии эритроцитов у 29% больных (группа фибриноген-КПК); $p < 0,001$. Избежать переливания концентрата тромбоцитов удалось у 56% в группе СЗП и у 91% больных в группе фибриноген-КПК, где ориентировались на РОТЭМ ($p < 0,001$).

Таким образом, гемостатическая терапия КПК и концентратом фибриногена, проводимая под контролем РОТЭМ, позволяет уменьшить количество переливаемых компонентов крови.

Показания к применению и эффективность КПК в различных ситуациях

За более чем полвека КПК прошли путь от препаратов, предназначенных для лечения только гемофилии В, до средств для лечения различных нарушений

гемостаза. Основное лицензированное показание к назначению КПК — это реверсия действия антагонистов витамина К, однако в последние годы появилось множество сообщений о применении КПК для профилактики и лечения геморрагического синдрома различной этиологии, не связанного с применением антагонистов витамина К. И хотя в ряде случаев такое применение остается пока вне утвержденных показаний (off-label), оно открывает как бы «второе дыхание» для этой группы препаратов.

Реверсия действия антагонистов витамина К. При реверсии действия оральных антикоагулянтов после введения 4F-КПК (Octaplex®) повышение содержания FII, FVII, FIX, FX и уменьшение МНО через 10 мин достигалось у 93% больных [14]. После введения 4F-КПК при геморрагическом синдроме у больных, получавших оральные антикоагулянты, хороший клинический эффект был получен в 98% случаев [8]. В другом исследовании [35] при реверсии действия оральных антикоагулянтов (антагонистов витамина К) после введения 4F-КПК коррекция МНО и уровня четырех факторов свертывания была достигнута в течение 20 мин у 79% больных. Достигнутая после введения КПК концентрация факторов свертывания сохранялась в течение 4–6 ч. Через 24 ч содержание FVII снизилось почти в 2 раза, содержание FII, FIX, FX снижалось медленнее [35].

В рандомизированном исследовании Boulis et al. [36] сравнили эффективность СЗП ($n = 5$) и СЗП в сочетании с КПК ($n = 8$) при варфарин-ассоциированных внутричерепных кровоизлияниях. Чтобы избежать волеической перегрузки при переливании СЗП, все больные получали фуросемид. При применении СЗП в сочетании с КПК коррекция МНО достигалась почти в 3 раза быстрее, при этом различий в неврологических исходах между группами больных не выявлено. Однако группы больных в этом исследовании были небольшими (8 и 5 человек соответственно), а целью работы было в основном исследование скорости реверсии действия варфарина, а не сравнение влияния СЗП и КПК на исход неврологического заболевания.

Makris et al. [37] сопоставили эффективность применения СЗП и КПК для лечения угрожающего жизни геморрагического синдрома (кровоизлияния в головной или спинной мозг, желудочно-кишечные кровотечения, внутрибрюшные кровотечения и др.), возникшего на фоне приема варфарина у 41 больного. При этом 29 больных получили КПК в дозе 20–30 МЕ/кг, 12 больных — СЗП в дозе 800 мл. В обеих группах больным вводили также витамин К₁ в дозе 1–5 мг. У 12 больных, получавших СЗП, МНО так и не достигло целевых значений, т. е. сохранялась гипокоагуляция, в то время как после введения КПК у 28 из 29 больных МНО полностью нормализовалось. Авторы объяснили полученные результаты низким содер-

жением FIX у больных, получавших СЗП, по сравнению с таковым у получавших КПК (19 и 68,5 ЕД/дл соответственно). Более того, даже уменьшение МНО после переливания СЗП не свидетельствует о полной коррекции гипокоагуляции, так как показатель МНО малочувствителен к изменениям FIX. Поэтому авторы считают, что при МНО более 5, т. е. при уровне, когда концентрация FIX очень низка, применение СЗП для коррекции коагулопатии у больных с передозировкой антикоагулянтов нецелесообразно.

Таким образом, КПК более эффективны для реверсии действия варфарина, чем переливание СЗП (категория доказательности III). Преимуществами КПК по сравнению с СЗП также являются: вирусная безопасность, большая (в 25 раз) концентрация факторов свертывания, малый объем вводимой жидкости, быстрое приготовление раствора для инфузии, возможность хранения при комнатной температуре, введение без предварительного оттаивания и без учета группы крови.

КПК при паренхиматозных заболеваниях печени. При паренхиматозных заболеваниях печени (цирроз печени, вирусный гепатит, алкоголизм, опухоли печени, амилоидоз печени, болезнь Гоше и т. д.) коагулопатия часто сочетается с расширением вен пищевода и желудка, кровотечениями. При заболеваниях печени нарушается синтез витамин К зависимых факторов свертывания крови, одновременно возникает дефицит FV, фибриногена, природных антикоагулянтов, в частности анти-тромбина III, протеина С [38]. В КПК не содержится FV, фибриноген, а содержание антикоагулянтов недостаточно для компенсации их дефицита при патологии печени [38]. Поэтому при заболеваниях печени при геморрагическом синдроме используют криопреципитат, СЗП. КПК применяют в случаях угрозы объемной перегрузки и недостаточной эффективности переливаний СЗП, в экстренных ситуациях [39, 40].

В открытом рандомизированном проспективном многоцентровом исследовании [41] изучали действие КПК у пациентов с заболеваниями печени, у которых в результате коагулопатии (протромбин по Квику < 50%) развилось кровотечение (из язвы желудка, варикозных вен и т. д.). У пациентов, которые получили 4F-КПК в средней дозе 25,7 МЕ/кг, протромбин по Квику повысился с 39 до 65%, содержание в плазме маркеров активации свертывания (FVIIa, фрагменты протромбина 1 + 2, тромбин-антитромбиновые комплексы) также повысилось, но при этом не было клинических признаков тромбозов. Клиническая эффективность (остановка кровотечения) наблюдалась у 76% больных после первой дозы КПК, 5 пациентам понадобилось введение второй дозы КПК.

В ретроспективном нерандомизированном неконтролируемом наблюдательном открытом многоцентровом исследовании оценили применение препарата Octaplex («Octapharma») для коррекции МНО у 192 больных с заболеваниями печени [42]. Отмечено

значительное уменьшение МНО, однако уменьшение частоты кровотечений или улучшение выживаемости в этом исследовании не оценивали.

Таким образом, несмотря на некоторые ограничения, у больных с заболеваниями печени, которым по каким-либо причинам не может быть перелита СЗП в достаточном количестве (объемная перегрузка) или у которых есть признаки приобретенного дефицита витамин К-зависимых факторов, могут быть применены КПК. Рекомендуется минимальная доза КПК 25 МЕ/кг, при этом разовая доза не должна превышать 2500 МЕ. Больным, у которых кровотечение при заболеваниях печени протекает с дефицитом факторов свертывания, отсутствующих в 4F-КПК (фибриноген, FV), вместе с КПК должны назначаться компоненты крови (криопреципитат, СЗП) [43].

КПК в кардиохирургии. При кардиохирургических операциях с использованием аппарата искусственного кровообращения (АИК) и гипотермии в течение 2 ч при 25 °С отмечается уменьшение концентраций FII, FVII, FIX и FX на 32—48% [44]. У больных после кардиохирургических операций активность FII снижалась на 50% от нормы с одновременным уменьшением содержания антитромбина III [45]. Другими факторами возникновения коагулопатии у кардиохирургических больных являются ток крови в экстракорпоральном контуре, активация воспалительного каскада вследствие взаимодействия компонентов крови с поверхностью контура, дилуция факторов свертывания вследствие заполнения контура первичным объемом [30]. В экспериментах на морских свинках через 1 ч после отключения от АИК подопытные свинки получали изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл/кг или 40 МЕ/кг 4F-КПК. Введение КПК приводило даже к избыточной коррекции сниженных концентраций витамин К зависимых факторов свертывания, при этом тромботических осложнений не наблюдалось [44].

В ретроспективных исследованиях описано использование КПК для коррекции геморрагического синдрома, опосредованного приемом варфарина, после АИК, ориентируясь на МНО [12]. Введение 4F-КПК позволило выполнить кардиохирургические операции (аортокоронарное шунтирование, замена митрального, аортального клапанов сердца, хирургические вмешательства на грудном и брюшном отделах аорты) у 16 больных, не получавших до операции варфарин, с кровотечением, которое не останавливалось после переливания компонентов крови. Дозы КПК варьировали от 500 до 4000 МЕ, но большинство (83,3%) больных получили не более 1500 МЕ. После введения КПК частичный или полный гемостаз был достигнут у 78% больных, уменьшилась потребность в трансфузиях эритроцитов (на 64%), СЗП (на 23%), концентратов тромбоцитов (на 22%), криопреципитата (на 70%) [12].

В рандомизированном проспективном исследовании [46], в которое были включены 40 хирургических

больных, применение для коррекции МНО 4F-КПК было более эффективным, чем СЗП, и не сопровождалось перегрузкой объемом [47]. В ретроспективном исследовании у больных, перенесших тромбэктомия легочной артерии, через 12 ч после операции кровопотеря была больше у получавших СЗП, чем у получавших КПК (медиана 650 мл, межквартильный интервал [МКИ] 325—1075 мл, по сравнению с 277 мл, 175—608 мл; $p = 0,008$), при этом не было различий в исходах операции.

В ретроспективном исследовании [48] КПК был применен в раннем послеоперационном периоде у 60 кардиохирургических больных с непрекращающимся кровотечением, которое сохранялось, несмотря на трансфузии СЗП, криопреципитата и концентратов тромбоцитов. КПК этим больным назначали при МНО выше 1,4, АЧТВ более 70 с и исключении остаточного действия гепарина. Лишь 7 больных (11%) принимали до операции варфарин. Введение КПК в средней дозе 545 МЕ привело к уменьшению темпа кровопотери в среднем с 253 до 144 мл/ч. Число доз переливаемых эритроцитов уменьшилось с 3,4 до 1,5, СЗП — с 6,5 до 2,5, концентратов тромбоцитов — с 6 до 2,5. АЧТВ снизилось с 74 до 49 с, при этом МНО почти не изменилось (1,67 и 1,34 соответственно). Серьезных тромботических осложнений не было [48].

В крупном исследовании из Канады [49] изучили применение 4F-КПК (Octaplex, «Octapharma») у кардиохирургических больных. У 4959 (78,5%) из 6314 больных не потребовалось вводить ни СЗП, ни КПК, 1152 больных (18,2%) получили трансфузии СЗП и 204 (3,2%) получили КПК. Состояние больных, получавших КПК, исходно было более тяжелым, у них чаще выявлялись сопутствующие заболевания, шок, почечная недостаточность, левожелудочковая недостаточность. Больные в группе СЗП получили в среднем 6 доз СЗП (от 2 до 9), больные в группе КПК получили в среднем 2000 МЕ КПК (от 1000 до 2000 МЕ). В группе КПК реже, чем в группе СЗП, отмечались случаи массивных трансфузий (15,4 и 23,9% соответственно; $p = 0,005$) и рефрактерных кровотечений (10,3 и 18,8%; $p = 0,006$). Использование КПК по сравнению с СЗП позволяло избежать переливания эритроцитов (отношение шансов 2,4, 95% ДИ 1,2—4,8).

При трансплантации сердца [50] реверсия действия варфарина у больных с помощью 4F-КПК ($n = 32$) по сравнению с больными, которые не получали КПК ($n = 42$), приводила к сокращению использования СЗП (6 доз по сравнению с 1,31 дозы), криопреципитата (10 и 7,5 дозы соответственно), эритроцитов (2 и 5 доз), меньшей длительности операции (548 и 618 мин). Авторы делают вывод, что замена СЗП на КПК при кардиохирургических операциях укорачивает продолжительность операции и уменьшает использование компонентов крови.

Таким образом, использование КПК для коррекции нарушений гемостаза в кардиохирургии оказывает кровесберегающий эффект [49].

Имеется ограниченное количество данных о применении КПК при хирургических кровотечениях и травме, не связанных с приемом антикоагулянтов [39]. Европейское общество анестезиологов рекомендует проводить целенаправленную терапию концентратами факторов (КПК или фибриногеном), что может уменьшить затраты на трансфузии при травме, кардиохирургических операциях и трансплантации печени [51]. Согласно рекомендациям Американского общества анестезиологов, КПК рекомендуют вводить при кровотечениях, сопровождающихся увеличенным МНО [52]. Согласно Европейским рекомендациям по травме [53], введение КПК у больных с кровотечениями должно проводиться под контролем РОТЭМ.

Имеются экспериментальные данные об эффективности КПК при *дильуционной коагулопатии*, которая нередко возникает во время лечения кровопотери. В опытах на морских свинках гемодилюция, вызванная путем кровопускания и инфузии гидроксиэтилкрахмала, приводила к снижению содержания всех факторов свертывания крови на 25–45% (в среднем на 35%) по сравнению с исходными значениями, а также к изменению ТЭГ [54, 55]. В группе животных, которым вводили КПК (35 МЕ/кг) и фибриноген (200 мг/кг), по данным ТЭГ и коагулограммы показатели нормализовались, выжили все животные, в то время как в контрольной группе показатели ТЭГ и коагулограммы оказались сниженными, умерли 80% животных [55]. В аналогичном исследовании на кроликах [56] гемодилюция гидроксиэтилкрахмалом привела к снижению содержания FII до 23%, FVII — до 32%, FIX — до 28%, FX — до 22% от исходного уровня. В этих условиях введение 4F-КПК в дозе 35 МЕ/кг привело к нормализации протромбинового времени, возрастанию уровня протромбина до значений выше чем до гемодилюции, значительному уменьшению времени достижения гемостаза и объема кровопотери из разреза по сравнению с контрольной группой [56]. После инъекции 25 МЕ/кг 4-КПК уровни всех факторов повысились, составив от исходного показателя: FII — 89%, FVII — 75%, FIX — 38%, FX — 181%; в контрольной группе животных, получивших вместо КПК изотонический раствор натрия хлорида, показатели факторов свертывания в плазме существенно не изменились. Более того, в эксперименте по дильуционной коагулопатии трансфузия СЗП в стандартной (15 мл/кг) или высокой (40 мл/кг) дозе мало влияла на содержание в плазме животных витамин К зависимых факторов свертывания, в то время как введение КПК в дозе 25 МЕ/кг быстро нормализовало их содержание [57]. После инфузии СЗП в дозе 15 мл/кг гемостаз достигался у 38% животных, в дозе 40 мл/кг — у 75%, а после введения КПК в дозе

25 МЕ/кг — у 100% животных с дильуционной коагулопатией [57].

В клинических условиях у больных после гемодилюции на 32% (снижение гематокрита с $0,42 \pm 0,028$ до $0,29 \pm 0,028$), вызванной кровопотерей и замещением гидроксиэтилкрахмалом 130/04, отмечено снижение содержания FII, FVII, FVIII, FIX, FX, FXIII на 44, 31, 39, 28, 39 и 43% соответственно. Добавление к образцам плазмы этих больных *ex vivo* расчетных доз КПК приводило к укорочению времени коагуляции на ТЭГ [58].

В клиническом исследовании «Pro BE» [39] 4F-КПК вводили до процедуры, для профилактики кровотечения (группа профилактики) и лечения коагулопатии (группа лечения). Из 445 больных, включенных в исследование, 40 были отнесены в группу профилактики (только КПК — 16, КПК + СЗП — 5, только СЗП — 19) и 405 — в группу лечения. Дозы КПК составляли от 500 до 5000 МЕ. В группе КПК лечение было эффективным в 93% случаев (95% ДИ 89,1–95,9%), в группе КПК + СЗП — в 78,9% (95% ДИ 70,8–85,6%) и в группе СЗП — в 86,3% случаев (95% ДИ 76,2–93,2%).

В исследовании Mendarte et al. [59] 4F-КПК назначали 102 больным с кровотечениями (желудочно-кишечные кровотечения, внутричерепные кровоизлияния, оперативные вмешательства и т. д.). У 39% больных кровотечение развилось на фоне приема оральных антикоагулянтов, у остальных дефицит факторов свертывания и увеличение МНО (в среднем до 2,6) возникли без приема антикоагулянтов. Введение КПК в средней дозе 2720 МЕ позволило укоротить МНО и остановить кровотечение у большинства больных. При этом не отмечено тромботических осложнений. Авторы рассматривают КПК как альтернативу СЗП.

В ретроспективное исследование Schochl et al. [34] были включены больные с массивной травматической кровопотерей, которая потребовала переливания более 5 доз концентрата эритроцитов в течение 24 ч. Гемостатическую терапию назначали по данным РОТЭМ. В исследование был включен 131 больной; 128 больных в качестве препарата первой линии получили концентрат фибриногена, а 98 из них затем — КПК. Трое больных, ранее принимавших кумарин, сразу получили КПК. Дополнительно 12 больным переливали СЗП и 29 — концентрат тромбоцитов. Зарегистрированная смертность при такой тактике терапии оказалась почти в 2 раза ниже ожидаемой.

В другом исследовании [27] оценивали эффективность 4F-КПК для лечения хирургического кровотечения у 38 больных, не принимавших ранее оральные антикоагулянты. Показаниями к назначению КПК были угрожающее жизни кровотечение (объем кровопотери более 150 мл/мин) и МНО выше 1,1. Средняя доза КПК составила 2000 МЕ (максимальная 12 000 МЕ у больного с огнестрельным ранением и брюшинным кровотечением). После введения КПК отмечены уменьшение МНО, остановка кровотечения

у 36% больных при хирургическом кровотечении и у 96% больных при диффузной кровоточивости [27].

В исследование Jehan et al. [60] включали всех больных с травмой и МНО $\geq 1,5$, которые не принимали оральных антикоагулянтов. Пациентов разделили на две группы: группа СЗП + 4F-КПК ($n = 120$) и группа, получавшая только СЗП ($n = 80$). Применение 4F-КПК + СЗП по сравнению с только СЗП было связано с более быстрой коррекцией МНО (373 и 955 мин соответственно; $p = 0,001$), меньшим количеством переливаемых эритроцитов (7 и 9 доз; $p = 0,04$), СЗП (5 и 7 доз; $p = 0,03$), но, главное, с более низкой смертностью (25 и 33% соответственно; $p = 0,04$). Авторы делают вывод, что 4F-КПК должен быть компонентом терапии вместе с СЗП в случае кровотечений при травме.

Аналогичное исследование проводилось у 183 больных с коагулопатией (МНО 1,5 и более), которым потребовалось экстренное хирургическое вмешательство [61]. В зависимости от проводимого лечения больные были разделены на три группы: КПК — 20 больных (11%), СЗП — 119 больных (65%) и СЗП + КПК — 44 больных (24%). Доза 4F-КПК была одинакова в обеих группах (2539 и 3232 МЕ; $p = 0,09$). В группе КПК коррекция нарушений гемостаза была начата значительно быстрее, чем в группе КПК + СЗП и в группе СЗП. Количество перелитых доз СЗП и эритроцитов в группе СЗП было больше, чем в остальных двух группах.

Отдельные авторы рассматривают КПК в качестве альтернативы СЗП при массивном кровотечении. Однако небольшое число проведенных исследований не дает оснований считать подобное утверждение убедительным. Кроме того, во всех этих исследованиях больные наряду с КПК получали компоненты крови, также в немалой степени влияющие на гемостаз (СЗП, тромбоциты, криопреципитат).

КПК и прямые оральные антикоагулянты

Новой областью применения КПК стало их использование для реверсии эффекта прямых оральных антикоагулянтов (ПОАК), которые включают прямые ингибиторы тромбина (дабигатран) и ингибиторы FXa (т. е. ривароксабан, апиксабан, эдоксабан) [30]. По данным Норвежского национального регистра [62], у больных с фибрилляцией предсердий частота больших и клинически значимых геморрагических осложнений при приеме дабигатрана составляла 5,14%, при приеме ривароксабана — 8,48%, апиксабана — 4,18%. По данным когортного исследования [63], включавшего 44 057 больных, принимавших оральные антикоагулянты, частота больших геморрагических осложнений составила при приеме дабигатрана 2,8 на 100 человек в год, апиксабана — 3,3, ривароксабана — 5 [63].

В исследовании на добровольцах, принимавших по 20 мг 4 дня ривароксабан, сравнили влияние 3F-КПК с 4F-КПК на протромбиновое время, генерацию тромбина, АЧТВ и анти-FXa активность [64]. Добровольцы получали 50 МЕ/кг 3F-КПК ($n = 12$) или 4F-КПК ($n = 10$) или 0,9% раствор натрия хлорида ($n = 12$). В тесте генерации тромбина при введении 3F-КПК был получен лучший ответ, чем при введении 4F-КПК, что объясняется большей концентрацией FII в 3F-КПК.

В японском одноцентровом исследовании SAMURAI-NVAF [65] большие геморрагические осложнения возникли у 10 больных, принимавших ПОАК (7 больных — ривароксабан, 2 — апиксабан, 1 — дабигатран): в 8 случаях кровоизлияние в мозг, в 1 случае субдуральная гематома, в 1 случае — желудочно-кишечное кровотечение. Введение малых доз КПК (16 МЕ/кг) снизило МНО с 1,41 до 1,09, но у 5 больных отмечено увеличение внутримозговой гематомы, а 4 больным потребовалась хирургическая эвакуация гематомы. Таким образом, эффективность КПК в прекращении кровотечения, вызванного ПОАК, осталась неясной.

В другом исследовании 50 МЕ/кг 4F-КПК вводили здоровым людям, получившим ривароксабан ($n = 6$) или дабигатран ($n = 6$). Нормализация генерации тромбина отмечена у тех, кто получал ривароксабан, но не у тех, кто получал дабигатран. Это соответствует исследованиям *in vitro*, в которых при помощи ТЭГ было показано, что КПК не способны обращать вспять влияние дабигатрана на гемостаз у здоровых добровольцев [67]. Механизм действия КПК при лечении коагулопатии, вызванной приемом прямых ингибиторов FXa, обусловлен повышением продукции протромбиназы, что приводит к большей генерации тромбина [30]. Прямые ингибиторы тромбина подавляют образование фибрина, что объясняет неэффективность КПК при их реверсии [30]. В тесте генерации тромбина действие КПК при реверсии эффектов ривароксабана у больных с геморрагическими осложнениями проявлялось увеличением на 68% эндогенного тромбинового потенциала, возрастанием S_{max} на 54%, а также увеличением протромбина по Квику на 28% и АЧТВ на 7% [68].

В исследовании Schulman et al. [69], проведенном в 9 клиниках Канады, фиксированную дозу 4F-КПК, равную 2000 МЕ, вводили 66 больным с кровотечениями, развившимся в результате приема ривароксабана или апиксабана. Высокая эффективность была зарегистрирована в 65% случаев, умеренная — в 20%, и низкая эффективность или отсутствие эффекта — в 15% случаев.

Эти данные близки к результатам аналогичной работы [70], в которой 4F-КПК вводили 84 больным для лечения геморрагического синдрома, вызванного приемом ривароксабана или апиксабана. У большинства — 59 больных (70,2%) — он проявлялся внутричерепными кровоизлияниями, у 15 больных (15,5%) — желудочно-

кишечными кровотечениями. Примерная доза КПК составляла 25 МЕ/кг. Больным с массой тела менее 65 кг вводили 1500 МЕ КПК, больным с массой тела более 65 кг — 2000 МЕ КПК. Повторное введение осуществляли, если после первой дозы КПК кровотечение не останавливалось. Лечение КПК оказалось эффективным у 55 больных (69,1%). Наиболее часто коррекция гемостаза с помощью КПК оказывалась неэффективной у больных с внутричерепными кровоизлияниями.

В то же время имеется клиническое описание двух пожилых больных, 85 и 77 лет [71], у которых в результате приема аписабана развились массивные внутримозговые кровоизлияния и субдуральные гематомы, которые были успешно устранены консервативно посредством введения 4F-КПК в дозе 25 МЕ/кг.

Эффективность 4F-КПК и транексамовой кислоты для реверсии действия ривароксабана сравнивали у 147 здоровых добровольцев, которые принимали ривароксабан в дозе 20 мг/сут в течение 3 дней, а затем были рандомизированы на группу получавших 4F-КПК (50 МЕ/кг), группу получавших транексамовую кислоту в дозе 1 г и группу получавших 0,9% раствор натрия хлорида. По сравнению с хлоридом натрия только 4F-КПК приводил к укорочению протромбинового времени и увеличению эндогенного тромбинового потенциала, транексамовая же кислота не оказывала действия на нарушения гемостаза, вызванные ривароксабаном [72].

В настоящее время на разных этапах клинического внедрения находятся специфические антидоты к ПОАК. Идаруцизумаб представляет собой моноклональное антитело, быстро и необратимо связывающее дабигатран. Андексанет альфа представляет собой рекомбинантную модифицированную молекулу FXa, который связывает и блокирует действие ингибиторов FXa (ривароксабана, аписабана, эдоксабана). Однако идаруцизумаб еще не получил широкого распространения, а андексанет альфа находится на стадии клинических испытаний. Поэтому КПК являются доступной альтернативой реверсии действия ПОАК.

Тромбоэмболические осложнения при лечении КПК

Современные КПК отличаются низкой тромбогенностью [17]. При анализе случаев введения КПК в 2002—2010 гг. у 160 больных, получавших варфарин для купирования геморрагического синдрома или при выполнении экстренных оперативных вмешательств, выявили 6 случаев (3,8%) тромбоэмболических осложнений: инсульт ($n = 3$), инфаркт миокарда ($n = 1$), тромбоз глубоких вен ($n = 1$), инфаркт селезенки ($n = 1$) [73]. Частота тромботических осложнений одинакова при применении 3F-КПК и 4F-КПК и составила в течение 7 дней после применения КПК 2,6 и 3,5% соответственно [17].

Сравнение применения вне утвержденных показаний КПК и рекомбинантного активированного фактора VIIa (rFVIIa)

Не секрет, что показания к применению вне утвержденных показаний для КПК и rFVIIa во многом схожи. Оба препарата используют в качестве «терапии спасения» при массивных кровотечениях, которые не удается остановить переливанием компонентов крови, хирургическим путем. Работа Sohaby [74] так остроумно и называется: «Коагуляционные факторы для контроля кровотечения при травме — СЗП, КПК или счастливая семерка?» Какой препарат выбрать и в каких ситуациях?

В исследовании турецких авторов [75] сравнили эффективность применения активированного 4F-КПК (25 больных, доза 50—100 МЕ/кг) и rFVIIa (10 больных, доза 60—120 мкг/кг) у детей с кровотечением или коагулопатией, которые подвергались хирургическим вмешательствам или инвазивным процедурам. После введения обоих препаратов достигалось укорочение протромбинового времени, АЧТВ. Нормализация нарушений гемостаза или остановка кровотечения были достигнуты у 7 из 10 детей (70%), получивших rFVIIa, и у 18 из 25 детей (72%), получивших FEIBA, т. е. оба препарата оказались одинаково эффективны. Однако введение активированного КПК детям без ингибитора к FVIII нельзя признать безопасным.

В другом исследовании [76] сравнили эффективность реверсии действия варфарина rFVIIa в малых дозах (1000 или 1200 мкг) и 3F-КПК в дозе 20 МЕ/кг. Целью являлось достижение значений МНО 1,5 и менее. Всего было проанализировано 74 введения 3F-КПК и 32 введения rFVIIa. Целевое значение МНО после введения rFVIIa достигалось у большей части больных, чем после введения 3F-КПК (71,9 и 33,8% соответственно; $p = 0,001$). В целом МНО было меньше после введения rFVIIa, чем после введения 3F-КПК (1,25 и 1,75 соответственно; $p < 0,05$). Таким образом, малые дозы rFVIIa более эффективны, чем 3F-КПК, для реверсии действия варфарина.

Однако, как уже упоминалось выше, по своей эффективности при реверсии действия варфарина 4F-КПК отличаются от 3F-КПК. Поэтому в исследовании Dickneite [77] у крыс, которые получили кумарин (фенпрокумон) в дозе 2,5 мг/кг, сравнивали эффективность 4F-КПК в дозе 50 МЕ/кг и rFVIIa в дозе 100 мкг/кг, при этом контрольная группа крыс получила 0,9% раствор натрия хлорида (4,88 мл/кг). В группе, получившей хлорид натрия, через 48 ч АЧТВ, протромбиновое время и кровопотеря увеличились соответственно в 8, 51 и 30 раз. Реверсия действия фенпрокумона с помощью 4F-КПК привела к нормализации АЧТВ, кровопотери и протромбинового времени, а также укорочению времени кровотечения. После введения rFVIIa протромбиновое время укорачивалось, но оставалось на 54 с длиннее, чем после 4F-КПК. В отличие от

4F-КПК, rFVIIa значимо не влиял на АЧТВ, кровопотерю и время кровотечения. Таким образом, 4F-КПК оказался значительно эффективнее, чем rFVIIa, при реверсии действия кумаринов.

В ретроспективном исследовании [78] сравнили эффективность 3F-КПК и rFVIIa у кардиохирургических больных в отношении остановки кровотечения после операций с использованием АИК. В общей сложности 50 больным ввели 3F-КПК в дозе 2120 МЕ (медиана 26,1 МЕ/кг, МКИ 18,9–30,9 МЕ/кг) и 100 больным ввели rFVIIa в дозе 2 мг (медиана 29,4 мкг/кг, МКИ 22,6–46 мкг/кг). По сравнению с rFVIIa в группе 3F-КПК переливали меньше эритроцитов (на 12%), тромбоцитов (на 22%) и СЗП (на 76%); поступление по торакальному дренажу составило 690 мл в группе 3F-КПК и 1200 мл в группе rFVIIa. Смертность между группами статистически значимо не различалась (10 и 14% соответственно). Стоимость факторов свертывания в группе 3F-КПК составила 2930 \$, а в группе rFVIIa — 5212 \$, общая стоимость лечения — 8962 и 16442 \$ соответственно.

4F-КПК и rFVIIa для лечения кровотечения во время оперативных вмешательств у кардиохирургических больных сравнивали в исследовании Mehinger et al. [79]. Больные получали 4F-КПК (средняя доза 26,5 МЕ/кг) или rFVIIa (средняя доза 66,2 мкг/кг), решение о введении концентратов факторов принимал хирург. Между группами не было различий в величине кровопотери, поступлении отделяемого по дренажам в течение первых 24 ч после операции, частоте реэксplorации, но в группе 4F-КПК, по сравнению с rFVIIa, меньше использовали СЗП (2,4 и 4,2 дозы соответственно; $p = 0,016$) и был мень-

ше срок пребывания в стационаре (11,7 и 15 сут; $p = 0,048$). Частота тромбоэмболических осложнений в группах не различалась. Авторы делают вывод, что при кардиохирургических операциях 4F-КПК столь же эффективен, как и rFVIIa, в отношении лечения кровотечений.

В ретроспективном исследовании сравнивали эффективность 3F-КПК и rFVIIa при остановке кровотечения у больных с черепно-мозговой травмой [80]. Шестьдесят четыре больных получили 3F-КПК в дозе 25 МЕ/кг, 21 больной — rFVIIa в дозе 90 мкг/кг. Лишь 14% больных в группе rFVIIa и 44% в группе КПК получали варфарин до травмы, решение о применении факторов свертывания принимали врачи. Оба препарата эффективно нормализовали МНО, не было значимых различий между больными, получавшими КПК и rFVIIa, в длительности пребывания в отделении интенсивной терапии (6 и 6,4 сут соответственно), длительности пребывания в стационаре (8,3 и 9,6 сут), частоте краниотомии (28 и 10%), неврологическом статусе по шкале комы Глазго при выписке (12,8 и 13,09 балла). Однако смертность была ниже в группе КПК, чем в группе rFVIIa (47 и 67% соответственно; $p = 0,03$). Стоимость лечения у получавших КПК была значительно меньше, чем у получавших rFVIIa (1007 и 5757 \$ соответственно; $p = 0,01$). В результате с 2007 по 2010 г. в данном стационаре стали меньше использовать rFVIIa и больше — КПК. Авторы делают вывод о большей эффективности КПК, чем rFVIIa, для лечения коагулопатии при черепно-мозговой травме.

Таким образом, в разных условиях разные концентраты факторов обладают разной эффективностью при

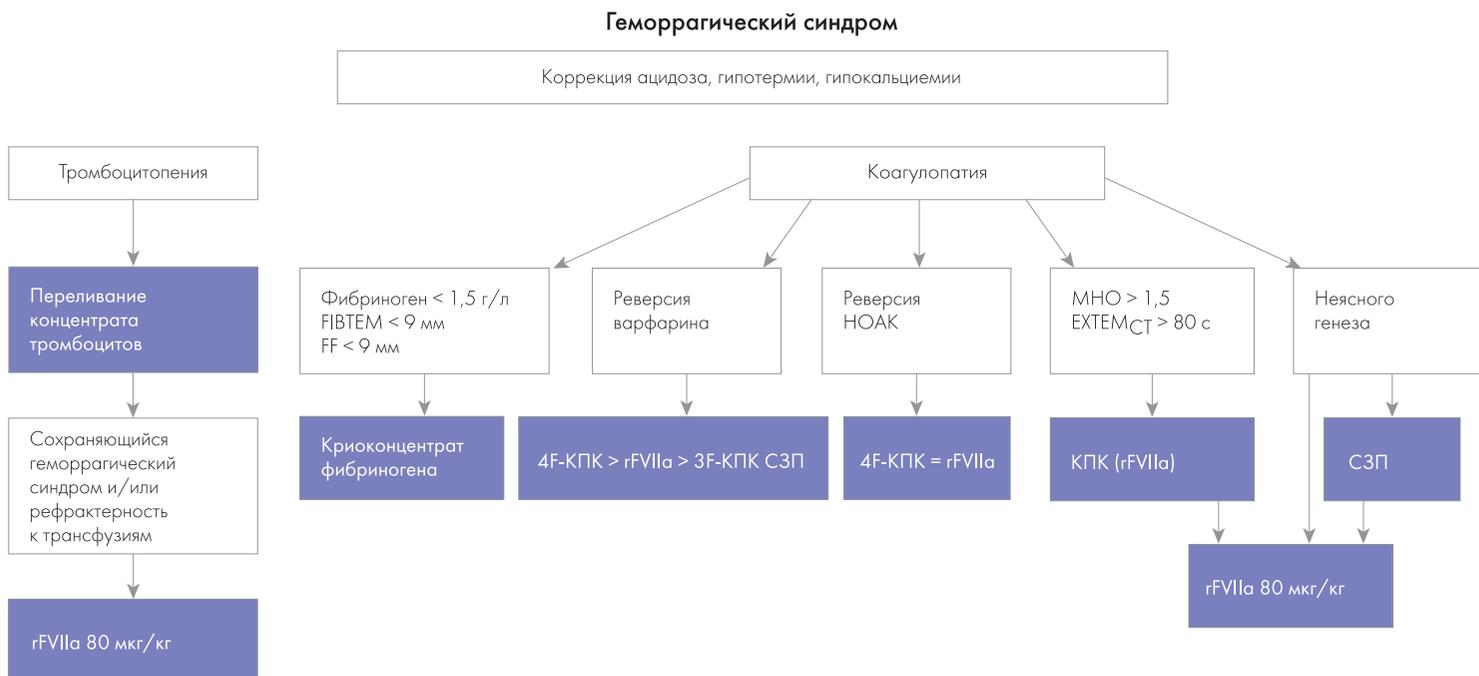


Рисунок 1. Алгоритм выбора концентрата факторов свертывания в зависимости от причины геморрагического синдрома.

лечении нарушений гемостаза, в то же время в одних и тех же клинических ситуациях с близкой эффективностью могут использоваться либо КПК, либо rFVIIa. Потому можно предложить следующий алгоритм выбора того или иного концентрата факторов свертывания (рис. 1).

Заключение

В последние годы КПК стали все чаще применяться по off-label показаниям в периоперативном периоде для лечения диффузной коагулопатии без установленного источника кровотечения. Доказательства их безопасности и эффективности основываются преимущественно на ретроспективных и обсервационных исследованиях и историческом контроле. Коррекция гипофибриногемии, тромбоцитопении, гипокальциемии до введения КПК является обязательным условием их эффективного действия. Показания к применению КПК должны основываться на клинической оценке геморрагического синдрома, данных лабораторного обследования и интегральных методов прикроватного мониторинга. Необходимы дополнительные рандомизированные контролируемые исследования, которые позволили бы оценить эффективность и безопасность off-label применения КПК.

Литература

1. Андреев Ю. Н. Многоликая гемофилия. — М.: НьюДиамед, 2006.
2. Hellstern P. Production and composition of prothrombin complex concentrates: correlation between composition and therapeutic efficiency. *Thromb Res* 1999; 95:S7—12.
3. Seitz R, Dodt J. Virus safety of prothrombin complex concentrates and FIX concentrates. *Thromb Res* 1999; 95:S19—23.
4. Sorensen B, Spahn DR, Innerhofer P et al. Clinical review: Prothrombin complex concentrates — evaluation of safety and thrombogenicity. *Crit Care* 2011; 15:201. doi: 10.1186/cc9311.
5. Kohler M. Thrombogenicity of prothrombin complex concentrates. *Thromb Res* 1999; 95:S13—17.
6. Negrier C, Gomperts E, Oldenburg J. The history of FEIBA: a lifetime of success in the treatment of haemophilia complicated by an inhibitor. *Haemophilia* 2006; 12:4—13.
7. Giles AR, Nesheim ME, Hoogendoorn H et al. The coagulant-active phospholipid content is a major determinant of in vivo thrombogenicity of prothrombin complex (factor IX) concentrates in rabbits. *Blood* 1982; 59:401—407.
8. Pabinger I, Brenner B, Kalina U et al. Prothrombin complex concentrate (Beriplex® P/N) for emergency anticoagulation reversal: a prospective multinational clinical trial. *J Thromb Haemost* 2008; 6:622—631. doi:10.1111/j.1538-7836.2008.02904.x.
9. White GC, Roberts HR, Kingdon HS et al. Prothrombin complex concentrates: potentially thrombogenic materials and clues to the mechanism of thrombosis in vivo. *Blood* 1977; 49:159—170.
10. Колосова И. В., Галстян Г. М., Орел Е. Б. и др. Терапия геморрагического синдрома, вызванного дефицитом витамин К-зависимых факторов свертывания крови. *Гематология и трансфузиология* 2012; 57:22—30.
11. Kalina U, Bickhard H, Schulte S. Biochemical comparison of seven commercially available prothrombin complex concentrates. *Int J Clin Pract* 2008; 62:1614—1622.
12. Bruce D, Nokes TJ. Prothrombin complex concentrate (Beriplex P/N) in severe bleeding: experience in a large tertiary hospital. *Crit Care* 2008; 12(4): R105. doi:10.1186/cc6987.
13. Van Aart L, Eijkhout HW, Kamphuis JS et al. Individualized dosing regimen for prothrombin complex concentrate more effective than standard treatment in the reversal of oral anticoagulant therapy: an open, prospective randomized controlled trial. *Thromb Res* 2006; 118:313—320. doi: 10.1016/j.thromres.2005.08.005.
14. Riess HB, Meier-Hellmann A, Motsch J et al. Prothrombin complex concentrate (Octaplex®) in patients requiring immediate reversal of oral anticoagulation. *Thromb Res* 2007; 121:9—16. doi:10.1016/j.thromres.2007.02.009.
15. Ostermann H, Haertel S, Knaub S et al. Pharmacokinetics of Beriplex P/N prothrombin complex concentrate in healthy volunteers. *Thromb Haemost* 2007; 98:790—797.
16. Dargaud Y, Desmurs-Clavel H, Marin S et al. Comparison of the capacities of two prothrombin complex concentrates to restore thrombin generation in plasma from orally anticoagulated patients: an in vitro study. *J Thromb Haemost* 2008; 6:962—968. doi:10.1111/j.1538-7836.2008.02964.x.
17. Holt T, Taylor S, Abraham P et al. Three- versus four-factor prothrombin complex concentrate for the reversal of warfarin-induced bleeding. *Int J Crit Illn Inj Sci* 2018; 8:36—40. doi:10.4103/IJCIIS.IJCIIS.
18. Imberti D, Barillari G, Biasioli C et al. Emergency reversal of anticoagulation with a three-factor prothrombin complex concentrate in patients with intracranial haemorrhage. *Blood Transfus* 2011; 9:148—155. doi:10.2450/2011.0065-10.
19. Herzog E, Kaspereit F, Krege W et al. Four-factor prothrombin complex concentrate (4F-PCC) is superior to three-factor prothrombin complex concentrates (3F-PCC) for reversal of coumarin anticoagulation. *Blood* 2014; 124:1472.
20. Mohan S, Howland MA, Lugassy D et al. The use of 3- and 4-factor prothrombin complex concentrate in patients with elevated INR. *J Pharm Pract* 2017; 31:262—267. doi:10.1177/0897190017707119.
21. Holland L, Warkentin TE, Refaai M et al. Suboptimal effect of a three-factor prothrombin complex concentrate (Profilnine-SD) in correcting supratherapeutic international normalized ratio due to warfarin overdose. *Transfusion* 2009; 49:1171—1177. doi:10.1111/j.1537-2995.2008.02080.x.
22. Yuan S, Ferrell C, Chandler WL. Comparing the prothrombin time INR versus the APTT to evaluate the coagulopathy of acute trauma. *Thromb Res* 2007; 120:29—37. doi:10.1016/j.thromres.2006.07.002.
23. Makris M, Van Veen JJ. Three or four factor prothrombin complex concentrate for emergency anticoagulation reversal? *Blood Transfus* 2011; 9:117—119. doi:10.2450/2011.0111-10.
24. Blacker DJ. Warfarin reversal: consensus guidelines, on behalf of the Australasian Society of Thrombosis and Haemostasis. *Med J Aust* 2005; 182:365.
25. Horton JD, Bushwick BM. Warfarin therapy: Evolving strategies in anticoagulation. *Am Fam Physician* 1999; 59:634—646.
26. Tanaka KA, Bolliger D, Vadlamudi R et al. Rotational thromboelastometry (ROTEM)-based coagulation management in cardiac surgery and major trauma. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2012; 26:1083—1093. doi: 10.1053/j.jvca.2012.06.015.

27. Schick KS, Fertmann JM, Jauch KW et al. Prothrombin complex concentrate in surgical patients: retrospective evaluation of vitamin K antagonist reversal and treatment of severe bleeding. *Crit Care* 2009; 13:R191.
28. Schulman S. Clinical practice. Care of patients receiving long-term anticoagulant therapy. *N Engl J Med* 2003; 349:675–683.
29. Hanley JP. Warfarin reversal. *J Clin Pathol* 2004; 57:1132–1139.
30. Ghadimi K, Levy JH, Welsby J. Prothrombin complex concentrates for bleeding in the perioperative setting. *Anesth Analg* 2016; 122:1287–1300. doi:10.1213/ANE.0000000000001188.
31. Tanaka KA, Mazzeffi M, Durila M. Role of prothrombin complex concentrate in perioperative coagulation therapy. *J Intensive Care* 2014; 2:60. doi: 10.1186/s40560-014-0060-5.
32. Ponschab M, Voelckel W, Pavelka M et al. Effect of coagulation factor concentrate administration on ROTEM® parameters in major trauma. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2015; 23:84. doi: 10.1186/s13049-015-0165-4.
33. Gorlinger K, Dirkmann D, Hanke AA et al. First-line therapy with coagulation factor concentrates combined with point-of-care coagulation testing is associated with decreased allogeneic blood transfusion in cardiovascular surgery: a retrospective, single-center cohort study. *Anesthesiology* 2011; 115:1179–1191. doi: 10.1097/ALN.0b013e31823497dd.
34. Schochl H, Nienaber U, Maegele M et al. Transfusion in trauma: thromboelastometry-guided coagulation factor concentrate-based therapy versus standard fresh frozen plasma-based therapy. *Crit Care* 2011; 15:R83. doi: 10.1186/cc10078.
35. Preston FE, Laidlaw ST, Sampson B et al. Rapid reversal of oral anticoagulation with warfarin by a prothrombin complex concentrate (Beriplex): efficacy and safety in 42 patients. *Br J Haematol* 2002; 116:619–624.
36. Boulis NM, Bobek MP, Schmaier A et al. Use of factor IX complex in warfarin-related intracranial hemorrhage. *Neurosurgery* 1999; 45:1113–1118.
37. Makris M, Greaves M, Phillips WS et al. Emergency oral anticoagulant reversal: the relative efficacy of infusions of fresh frozen plasma and clotting factor concentrate on correction of the coagulopathy. *Thromb Haemost* 1997; 77:477–480.
38. Bohrer H. Prothrombin complex concentrate substitution during liver transplantation. *Thromb Res* 1999; 95:S71–74.
39. Chowdary P, Tang A, Watson D et al. Retrospective review of a prothrombin complex concentrate (Beriplex P/N) for the management of perioperative bleeding unrelated to oral anticoagulation. *Clin Appl Thromb Hemost* 2018; 1076029617753537. doi: 10.1177/1076029617753537.
40. Hellstern P, Halbmayer WM, Kohler M et al. Prothrombin complex concentrates: indications, contraindications, and risks: a task force summary. *Thromb Res* 1999; 95:S3–6.
41. Lorenz R, Kienast J, Otto U et al. Efficacy and safety of a prothrombin complex concentrate with two virus-inactivation steps in patients with severe liver damage. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15:15–20.
42. Carvalho MC, Rodrigues AG, Conceicao LM et al. Prothrombin complex concentrate (Octaplex): A portuguese experience in 1152 patients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012; 23:222–228.
43. Unold D, Tormey CA. Clinical applications of 4-factor prothrombin complex concentrate: A practical pathologist's perspective. *Arch Pathol Lab Med* 2015; 139:1568–1575.
44. Kaspereit F, Hoffmann S, Pragst I et al. Prothrombin complex concentrate mitigates diffuse bleeding after cardiopulmonary bypass in a porcine model. *Br J Anaesth* 2010; 105:576–582.
45. Solomon C, Hagl C, Rahe-Meyer N. Time course of haemostatic effects of fibrinogen concentrate administration in aortic surgery. *Br J Anaesth* 2013; 110:947–956.
46. Ortman E, Besser MW, Sharples LD et al. An exploratory cohort study comparing prothrombin complex concentrate and fresh frozen plasma for the treatment of coagulopathy after complex cardiac surgery. *Anesth Analg* 2015; 121:26–33.
47. Demeyere R, Gillardin S, Arnout J et al. Comparison of fresh frozen plasma and prothrombin complex concentrate for the reversal of oral anticoagulants in patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery: a randomized study. *Vox Sang* 2010; 99:251–260.
48. Fraser TA, Corke CF, Mohajeri M et al. A retrospective audit of the use of Prothrombinex-HT for refractory bleeding following adult cardiac surgery. *Crit Care Resusc* 2006; 8:141–145.
49. Fitzgerald J, Lenihan M, Callum J et al. Use of prothrombin complex concentrate for management of coagulopathy after cardiac surgery: A propensity score matched comparison to plasma. *Br J Anaesth* 2018; 120:928–934. doi: 10.1016/j.bja.2018.02.017.
50. Sun GH, Patel V, Moreno-Duarte I et al. Intraoperative administration of 4-factor prothrombin complex concentrate reduces blood requirements in cardiac transplantation. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2018; 32:161–167.
51. Kozek-Langenecker SA, Ahmed AB, Afshari A et al. Management of severe perioperative bleeding: Guidelines from the European Society of Anaesthesiology. First update 2016. *Eur J Anaesthesiol* 2017; 34:332–395. doi: 10.1097/EJA.0000000000000630.
52. American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Blood Management. Practice guidelines for perioperative blood management: an updated report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Blood Management. *Anesthesiology* 2015; 122:241–275. doi:10.1097/ALN.0000000000000463.
53. Rossaint R, Bouillon B, Cerny V et al. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition. *Crit Care* 2016; 20:100. doi: 10.1186/s13054-016-1265-x.
54. Dickneite G, Doerr B, Kaspereit F. Characterization of the coagulation deficit in porcine dilutional coagulopathy and substitution with a prothrombin complex concentrate. *Anesth Analg* 2008; 106:1070–1077.
55. Fries D, Haas T, Klingler A et al. Efficacy of fibrinogen and prothrombin complex concentrate used to reverse dilutional coagulopathy — a porcine model. *Br J Anaesth* 2006; 97:460–467.
56. Pragst I, Kaspereit F, Dorr B et al. Prothrombin complex concentrate (Beriplex P/N) for control of bleeding after kidney trauma in a rabbit dilutional coagulopathy model. *Thromb Res* 2010; 125:272–277.
57. Dickneite G, Pragst I. Prothrombin complex concentrate vs fresh frozen plasma for reversal of dilutional coagulopathy in a porcine trauma model. *Br J Anaesth* 2009; 102:345–354.
58. Fenger-Eriksen C, Tonnesen E, Ingerslev J et al. Mechanisms of hydroxyethyl starch-induced dilutional coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2009; 7:1099–1105.
59. Mendarte L, Munne M, Rodriguez S et al. Use of human prothrombin complex concentrate in patients with acquired deficiency and active or in high-risk severe bleeding. *J Coagul Disord* 2010; 2:1–7.

60. Jehan F, Aziz H, O’Keeffe T et al. The role of 4-factor prothrombin complex concentrate (4-PCC) in coagulopathy of trauma: A propensity matched analysis. *J Trauma Acute Care Surg* 2018; doi: 10.1097/TA.0000000000001938. [Epub ahead of print]
61. Younis M, Ray-Zack M, Haddad NN et al. Prothrombin complex concentrate reversal of coagulopathy in emergency general surgery patients. *World J Surg* 2018; doi: 10.1007/s00268-018-4520-2. [Epub ahead of print]
62. Halvorsen S, Ghanima W, Fride Tvete I et al. A nationwide registry study to compare bleeding rates in patients with atrial fibrillation being prescribed oral anticoagulants. *Eur Hear J Cardiovasc Pharmacother* 2017; 3:28–36. doi: 10.1093/ehjcvp/pvw031.
63. Adeboyeje G., Sylwestrzak G, Barron JJ et al. Major bleeding risk during anticoagulation with warfarin, dabigatran, apixaban, or rivaroxaban in patients with nonvalvular atrial fibrillation. *J Manag Care Spec Pharm* 2017; 23:968–978. doi: 10.18553/jmcp.2017.23.9.968.
64. Levi M, Moore KT, Castillejos CF et al. Comparison of three-factor and four-factor prothrombin complex concentrates regarding reversal of the anticoagulant effects of rivaroxaban in healthy volunteers. *J Thromb Haemost* 2014; 12:1428–1436.
65. Yoshimura S, Sato S, Todo K et al. Prothrombin complex concentrate administration for bleeding associated with non-vitamin K antagonist oral anticoagulants: The SAMURAI-NVAF study. *J Neurol Sci* 2017; 375:1507. doi: 10.1016/j.jns.2017.01.041.
66. Eerenberg ES, Kamphuisen PW, Sijpkens MK et al. Reversal of rivaroxaban and dabigatran by prothrombin complex concentrate: A randomized, placebo-controlled, crossover study in healthy subjects. *Circulation* 2011; 124:1573–1579. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.029017.
67. Solbeck S, Meyer MA, Johansson PI et al. Monitoring of dabigatran anticoagulation and its reversal in vitro by thrombelastography. *Int J Cardiol* 2014; 176:794–799. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.07.084.
68. Schenk B, Goerke S, Beer R et al. Four-factor prothrombin complex concentrate improves thrombin generation and prothrombin time in patients with bleeding complications related to rivaroxaban: A single-center pilot trial. *Thromb J* 2018; 16:1. doi: 10.1186/s12959-017-0158-9.
69. Schulman S, Gross PL, Ritchie B et al. Prothrombin complex concentrate for major bleeding on factor Xa inhibitors: A prospective cohort study. *Thromb Haemost* 2018; doi: 10.1055/s-0038-1636541. [Epub ahead of print]
70. Majeed A, Agren A, Holmstrom M et al. Management of rivaroxaban- or apixaban-associated major bleeding with prothrombin complex concentrates: a cohort study. *Blood* 2017; 130:1706–1712.
71. Faust AC, Tran DM, Lo C et al. Managing nonoperable intracranial bleeding associated with apixaban: A series of 2 cases. *J Pharm Pract* 2018; 31:107–111.
72. Levy JH, Moore KT, Neal MD et al. Rivaroxaban reversal with prothrombin complex concentrate or tranexamic acid in healthy volunteers. *J Thromb Haemost* 2018; 16:54–64.
73. Majeed A, Eelde A, Agren A et al. Thromboembolic safety and efficacy of prothrombin complex concentrates in the emergency reversal of warfarin coagulopathy. *Thromb Res* 2012; 129:146–151.
74. Sohraby R. Coagulation factors in controlling traumatic bleeds: FFP, PCC, or lucky sevens? *CiteSeer* 2012; 1–19. Доступно в интернете по адресу: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.636.6823&rep=rep1&type=pdf> (просматривалось 4 мая 2018 г.).
75. Bayram I, Erbey F, Erdem S et al. Recombinant factor VIIa and activated prothrombin-complex concentrate administration in the management of bleeding, coagulopathy and intractable coagulopathy in pediatric patients undergoing invasive medical procedures or surgery. *Int J Hematol Oncol* 2009; 19:205–212.
76. Chapman SA, Irwin ED, Abou-Karam NM et al. Comparison of 3-factor prothrombin complex concentrate and low-dose recombinant factor VIIa for warfarin reversal. *World J Emerg Surg* 2014; 9:27. doi: 10.1186/1749-7922-9-27.
77. Dickneite G. Prothrombin complex concentrate versus recombinant factor VIIa for reversal of coumarin anticoagulation. *Thromb Res* 2007; 119:643–651.
78. Tanaka KA, Mazzeffi MA, Grube M et al. Three-factor prothrombin complex concentrate and hemostasis after high-risk cardiovascular surgery prothrombin. *Transfusion* 2013; 53:920–921.
79. Mehringer SL, Klick Z, Bain J et al. Activated factor 7 versus 4-factor prothrombin complex concentrate for critical bleeding post-cardiac surgery. *Ann Pharmacother* 2018; 52:533–537.
80. Joseph B, Hadjizacharia P, Aziz H et al. Prothrombin complex concentrate: An effective therapy in reversing the coagulopathy of traumatic brain injury. *J Trauma Acute Care Surg* 2013; 74:248–253.

ЭНДОВАСКУЛЯРНАЯ ЭМБОЛИЗАЦИЯ ПСЕВДООПУХОЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЕЙ

Endovascular embolization of pseudotumors in hemophilia patients

Гительзон Д. Г.^{1, 2}, Файбушевич А. Г.², Васильев А. Э.¹,
Гительзон Е. А.², Спиринов М. В.¹, Полеводова О. А.¹, Мишин Г. В.¹,
Карпов Е. Е.¹, Галстян Г. М.¹

¹ ФГБУ «НМИЦ гематологии» Министерства здравоохранения
России, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет Дружбы Народов»,
Москва, Россия

Gitelson D. G.^{1, 2}, Faibushevich A. G.², Vasiliev A. E.¹,
Gitelson E. A.², Spirin M. V.¹, Polevodova O. A.¹, Mishin G. V.¹,
Karpov E. E.¹, Galstyan G. M.¹

¹ National Research Center for Hematology, Moscow, Russian
Federation

² Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian
Federation

Гемофилические псевдоопухоли являются серьезным осложнением тяжелых форм гемофилии А и В. Экстирпация гемофилических псевдоопухолей часто сопровождается большой периоперационной кровопотерей. Для значительного уменьшения периоперационной кровопотери и размера гемофилической псевдоопухоли выполняется эндоваскулярная эмболизация питающих ее артерий. Эндоваскулярная эмболизация артерий представляет собой внутрисосудистое закрытие просвета сосуда разными методами. Мы использовали окклюзирующие спирали. За период с 2010 по 2016 г. в ФГБУ «НМИЦ гематологии» было выполнено шесть процедур эндоваскулярной эмболизации псевдоопухолей у больных гемофилией, три из них описаны подробно.

Ключевые слова: гемофилическая псевдоопухоль; эндоваскулярная эмболизация; гемофилия

Для цитирования: Гительзон Д. Г., Файбушевич А. Г., Васильев А. Э., Гительзон Е. А., Спиринов М. В., Полеводова О. А., Мишин Г. В., Карпов Е. Е., Галстян Г. М. **Эндоваскулярная эмболизация псевдоопухолей у больных гемофилией.** Гематология и трансфузиология 2018; 63(1):92–96
doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.29..1..009>

Для корреспонденции: Гительзон Даниил Георгиевич, врач рентгенэндоваскулярной диагностики и лечения научно-клинического отделения гематологической хирургии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Министерства здравоохранения России, 126167, г. Москва, Россия
Электронная почта: gitelson@rambler.ru

The pseudotumors are the serious complication in patients with hemophilia A and B. Surgical excision of hemophilic pseudotumor is frequently accompanied by a massive intraoperative blood loss. The endovascular embolization of the feeding arteries prior to surgery helps to minimize the blood loss and to reduce the size of pseudotumor. We performed endovascular embolization with microcoils in six hemophilia patients with pseudotumors, and describe here three of those cases.

Keywords: hemophilic pseudotumor; endovascular embolization; hemophilia

For citation: Gitelson D. G., Faibushevich A. G., Vasiliev A. E., Gitelson E. A., Spirin M. V., Polevodova O. A., Mishin G. V., Karpov E. E., Galstyan G. M. **Endovascular embolization of pseudotumors in hemophilia patients.** Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya) 2018; 63(1):92–96 (in Russian)
doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.29..1..009>

For correspondence: Gitelson Daniil G., MD, interventional radiologist, National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation
E-mail: gitelson@rambler.ru

Information about authors:

Gitelson D. G., <http://orcid.org/0000-0002-3957-3688>, Researcher ID: M-6423-2014;
Faibushevich A. G., <http://orcid.org/0000-0001-7998-3051>;
Vasiliev A. E., <http://orcid.org/0000-0001-6550-1939>, ResearcherID: I-5192-2017;
Gitelson E. A., <http://orcid.org/0000-0003-3871-5530>, ResearcherID: D-4758-2017;
Spirin M. V., <http://orcid.org/0000-0001-7048-060X>;

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 19.02.18

Принята к печати 16.05.18

Polevodova O. A., <http://orcid.org/0000-0002-7783-5861>;

Mishin G. V., <http://orcid.org/0000-0001-5111-0881>, ResearcherID: D-8100-2017;

Karpov E. E., <http://orcid.org/0000-0003-1464-8652>;

Galstyan G. M., <http://orcid.org/0000-0001-8818-8949>.

Financial disclosure. The study had no sponsorship.

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

Received 19 Feb 2018

Accepted 16 May 2018

Гемофилии А и В — заболевания, обусловленные дефицитом факторов свертывания VIII (FVIII) и IX (FIX) соответственно или выработкой антител к ним [1, 2]. Клинические проявления различаются в зависимости от тяжести заболевания. Гемофилическая псевдоопухоль — это редкое осложнение, которое наблюдается у больных тяжелой формой гемофилии. Однако встречаются случаи возникновения псевдоопухолей у больных легкой формой гемофилии [2]. Впервые гемофилическая псевдоопухоль была описана Л. Старкером в 1918 г. [3]. Псевдоопухоль возникает у 1–2% больных тяжелой формой гемофилии и часто связаны с предшествующей травмой [4]. Гемофилическая псевдоопухоль развивается из-за эпизодов кровоизлияний в местах переломов или спонтанных субпериостальных кровоизлияний [5]. Оставшаяся кровь покрывается фиброзной капсулой с макрофагами, содержащими гемосидерин. Характерен безболезненный и медленный рост. По мере роста псевдоопухоли увеличивается сдавление прилежащих тканей, что вызывает их некроз [6]. Псевдоопухоль могут нагнаиваться, быстро увеличиваться в размерах, что приводит к их самопроизвольному вскрытию с образованием фистул и массивному кровотечению [7].

В большинстве случаев псевдоопухоли локализируются в опорно-двигательной системе, однако известны случаи их локализации в брюшной полости [8]. Для визуализации псевдоопухоли используют ультразвуковое исследование (УЗИ) и компьютерную томографию (КТ). Иногда сложно отличить гемофилическую псевдоопухоль от доброкачественной или злокачественной опухоли. Отсюда и произошло название «псевдоопухоль». Однако биопсия в таких случаях строго противопоказана [9, 10]. У больных легкой формой гемофилии в редких случаях возможно самоизлечение, но большинству больных требуется оперативное лечение [1, 9]. Кровопотеря во время полного удаления гемофилической псевдоопухоли вместе с ее капсулой (экстирпация) может составлять до 7,5 л [11]. Для уменьшения кровопотери при таких операциях можно использовать предварительную эндоваскулярную эмболизацию артерий, питающих гемофи-

лическую псевдоопухоль. Эндоваскулярная эмболизация артерий представляет собой внутрисосудистое закрытие просвета сосуда различными методами [6, 12, 13]. Мы использовали окклюзирующие спирали. Эндоваскулярная эмболизация псевдоопухоли значительно уменьшает кровопотерю во время экстирпации. Экстирпацию следует выполнять в течение 2 нед после эндоваскулярной эмболизации. За это время артерии, питающие гемофилическую псевдоопухоль, не успевают реканализироваться [12, 14, 15].

За период с 2010 по 2016 г. в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Министерства здравоохранения России было выполнено шесть эндоваскулярных эмболизаций псевдоопухолей у больных гемофилией, из них о трех мы хотим рассказать подробно.

Приводим клинические наблюдения относительно больных псевдоопухолью при тяжелой форме гемофилии.

Клиническое наблюдение 1

Больной Р., 46 лет, поступил с жалобами на объемное образование в правой подвздошной области. Масса тела 79 кг. Из анамнеза известно, что с детства страдает тяжелой формой гемофилии В. В 1994 г. больной заметил появление объемного образования в правой подвздошной области, которое постепенно увеличивалось. В течение последних нескольких лет произошло значительное увеличение образования, появились боли в правой подвздошной области. По данным КТ было установлено, что это — гемофилическая псевдоопухоль размером 140 × 81 × 49 мм, которая находится в забрюшинном пространстве. Плазменная активность FIX составила 1%. Антитела к FIX не обнаружены.

Для облегчения экстирпации псевдоопухоли и уменьшения кровопотери во время операции было принято решение об эндоваскулярной эмболизации. Перед вмешательством проводили гемостатическую терапию концентратом плазматического FIX в дозе 7900 МЕ. Количество вводимого препарата определялось с использованием формулы:

$$X = M \times OУ,$$

где X — доза концентрата для однократного введения, M — масса тела больного гемофилией, OY — ожидаемый уровень (в %) коагуляционного фактора после внутривенного введения концентрата. Препарат вводили 1 раз в сутки. Активность F1X в плазме крови на момент эмболизации составила 100%. Под местной инфильтративной анестезией (20 мл 0,5% раствора новокаина) трансфemorальным доступом слева с использованием ангиографического катетера 6F последовательно катетеризированы брюшная аорта, общая и внутренняя подвздошные артерии справа. Проведена полипозиционная артериография таза и забрюшинного пространства с введением 50 мл рентгеноконтрастного раствора омнипак-350. На ангиограммах в илю-люмбальной области справа выявлялись артерии, питавшие гемофилическую псевдоопухоль. Основным источником афферентации — ветви внутренней подвздошной артерии справа: подвздошно-поясничная и крестцово-подвздошная артерии. С помощью микрокатетерной техники проведена селективная катетеризация интересующих сосудов. Далее по микрокатетеру в просвет артерий уложены окклюзирующие платиновые спирали Axium-3D (4 × 120 мм) и Helix (3 штуки; диаметр скручивания от 3 до 12 мм; длина от 20 до 150 мм). Контрольная артериография подтвердила эффективность эндоваскулярной эмболизации (рис. 1). Осложнения после вмешательства отсутствовали.

На третьи сутки после эндоваскулярной эмболизации выполнено хирургическое удаление псевдоопухоли. Во время экстирпации псевдоопухоли и в послеоперационном периоде проводили гемостатическую терапию тем же концентратом F1X таким образом, чтобы во время операции и в течение 7 дней после операции активность F1X в плазме крови поддерживалась на уровне 100%. Объем кровопотери во время операции составил 600 мл. В дальнейшем доза вводимого концентрата плазматического F1X постепенно уменьшалась так, чтобы плазменная активность F1X снизи-

лась до 80% на 8—12-е сутки. Начиная с 13—14-х суток и до заживления послеоперационной раны активность F1X в плазме поддерживали на уровне 50—60%.

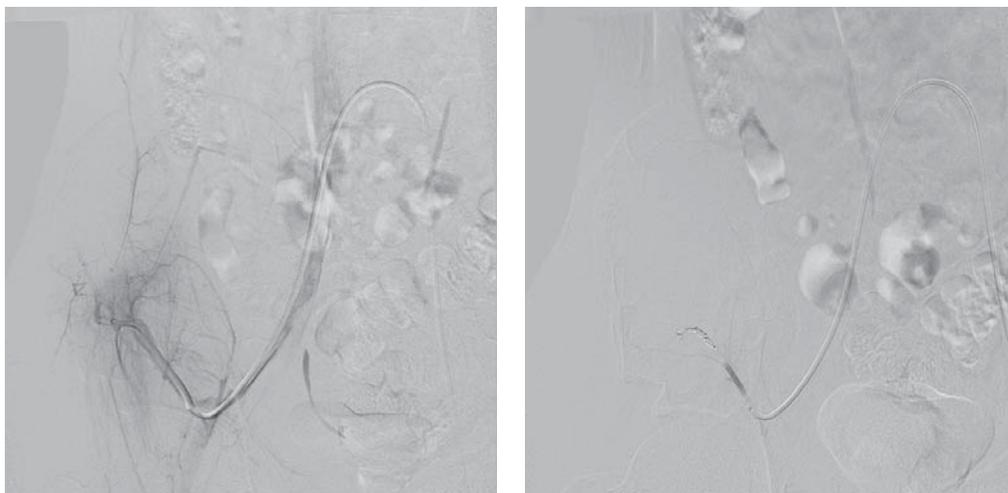
Клиническое наблюдение 2

Больной К., 24 лет, поступил с жалобами на тянущие боли и объемное образование в правой подвздошной области. Масса тела 71 кг. Из анамнеза известно, что в детском возрасте у него была диагностирована тяжёлая форма гемофилии А. После травмы в возрасте 14 лет возникла гематома забрюшинного пространства, адекватной гемостатической терапии не получал. По данным УЗИ и КТ выявлена гемофилическая псевдоопухоль размером 91 × 56 × 42 мм, прилегающая к подвздошной и крестцовым костям справа и разрушающая их. Плазменная активность FVIII составила 2%. Антитела к FVIII не обнаружены.

Для облегчения экстирпации псевдоопухоли и уменьшения кровопотери во время операции было принято решение о проведении предварительной эндоваскулярной эмболизации. Перед вмешательством проводили гемостатическую терапию концентратом плазматического FVIII в дозе 4000 МЕ. Количество вводимого препарата определялось с использованием формулы:

$$X = M \times (OY - IY) \times 0,5,$$

где X — доза концентрата для однократного введения, M — масса тела больного гемофилией, OY — ожидаемый уровень (в %) коагуляционного фактора после внутривенного применения концентрата, IY — исходный уровень (в %) коагуляционного фактора до применения концентрата. Активность FVIII в плазме крови на момент эмболизации составила 115%. Под местной инфильтративной анестезией (20 мл 0,5% раствора новокаина) трансфemorальным доступом слева с использованием ангиографического катетера 6F последовательно катетеризированы брюшная аорта, общая подвздошная артерия справа и внутренняя



А

Б

Рисунок 1. Ангиография гемофилической псевдоопухоли до эндоваскулярной эмболизации окклюзирующими спиралями (А) и после нее (Б).

подвздошная артерия справа. Проведена полипозиционная артериография таза и забрюшинного пространства с введением 100 мл рентгеноконтрастного раствора омнипак-350. На ангиограммах выявлены артерии, кровоснабжавшие гемофилическую псевдоопухоль. Основным источником афферентации — ветви наружной подвздошной и пузырной артерий справа. С использованием микрокатетерной техники проведена селективная катетеризация интересующих сосудов. Далее по микрокатетеру в просвет артерий уложены окклюзирующие платиновые спирали Axium-3D и Helix (10 штук; диаметр скручивания от 1,5 до 5 мм; длина от 20 до 150 мм). Контрольная артериография подтвердила эффективность эндоваскулярной эмболизации. Осложнения после вмешательства отсутствовали.

На вторые сутки после эндоваскулярной эмболизации выполнена экстирпация псевдоопухоли. Во время экстирпации псевдоопухоли проводили гемостатическую терапию тем же концентратом плазматического FVIII в дозе 4000 МЕ. Объем кровопотери во время операции составил 250 мл. В послеоперационном периоде больной получал концентрат плазматического FVIII по 3000 МЕ 2 раза в сутки в течение 7 дней. Далее доза была снижена до 2000 МЕ 2 раза в сутки в течение 7 дней.

Клиническое наблюдение 3

Больной С., 44 лет, страдающий тяжелой формой гемофилии А, поступил с жалобами на тянущие боли в левой подвздошной области. Масса тела 74 кг. По данным КТ выявлена забрюшинная гемофилическая псевдоопухоль размером 150 × 110 × 74 мм в левой подвздошной области. Активность FVIII в плазме крови составила 1%. Антитела к FVIII не обнаружены.

Для облегчения экстирпации псевдоопухоли и уменьшения кровопотери во время операции принято решение о проведении первым этапом эндоваскулярной эмболизации. Перед вмешательством проводили гемостатическую терапию концентратом плазматического FVIII в дозе 4000 МЕ. Активность FVIII в плазме крови на момент эмболизации составила 108%. Под местной инфильтративной анестезией (20 мл 0,5% раствора новокаина) трансфеморальным доступом справа с использованием ангиографического катетера 6F последовательно катетеризированы брюшная аорта, общая и внутренняя подвздошные артерии слева. Проведена полипозиционная артериография таза и забрюшинного пространства с введением 50 мл рентгеноконтрастного раствора омнипак-350. На ангиограммах выявлялись артерии, питающие гемофилическую псевдоопухоль. Основным источником афферентации — ветвь внутренней подвздошной артерии справа, отходящая между верхней и нижней ягодичными артериями. С использованием микрокатетерной техники проведена селективная катетеризация интересующего сосуда. Далее по микрокатетеру в просвет

артерии уложены окклюзирующие платиновые спирали Axium-3D (2 штуки, 4 × 80 мм и 7 × 200 мм). Контрольная артериография подтвердила эффективность эндоваскулярной эмболизации. Осложнения после вмешательства отсутствовали.

На вторые сутки после эндоваскулярной эмболизации выполнена экстирпация псевдоопухоли. Во время экстирпации псевдоопухоли проводилась гемостатическая терапия тем же концентратом плазматического FVIII в дозе 4000 МЕ. Объем кровопотери во время операции составил 200 мл. В послеоперационном периоде больной получал концентрат плазматического FVIII по 3000 МЕ 2 раза в сутки в течение 7 дней. Далее доза была снижена до 2000 МЕ 2 раза в сутки в течение 7 дней.

Обсуждение

Гемофилические псевдоопухоли требуют комплексного подхода к диагностике, начиная с тщательного сбора анамнеза, объективного осмотра и заканчивая проведением необходимых исследований и вмешательств. Поиск источника кровотечения, формирующего псевдоопухоль, — задача трудная, требующая хорошего знания анатомии сосудов зоны интереса. Эндоваскулярная эмболизация является эффективным способом уменьшения интраоперационной кровопотери, обеспечивающим лучший прогноз для пациента и более комфортные условия работы для операционной бригады. Экстирпацию псевдоопухоли следует выполнять в течение 2 нед после эндоваскулярной эмболизации. За это время артерии, питающие гемофилическую псевдоопухоль, не успевают rekanализироваться. Во избежание нежелательных осложнений после эндоваскулярной эмболизации необходим тщательный анализ ангиограмм с целью определения приносящей артерии для снижения риска ишемических осложнений и выбора эмболизирующего материала, обеспечивающего надежное закрытие артерий, питающих гемофилическую псевдоопухоль. Использование микрокатетерной техники позволяет провести процедуру точно и максимально эффективно. Больные гемофилическими псевдоопухольями должны наблюдаться и проходить лечение в специализированных гематологических центрах либо в многопрофильных стационарах, имеющих опыт эндоваскулярных вмешательств и хирургического лечения больных гемофилией.

Литература

1. Андреев Ю. Н. Многоликая гемофилия. — М.: Ньюдиамед, 2006.
2. Van der Bom JG, Ter Avest P, Van den Berg HM et al. Assessment of incidence of inhibitors in patients with haemophilia. *Haemophilia* 2009; 15:707–711.
3. Ogata Y, Monji M, Kai K et al. Nasal hemophilic pseudotumor in a patient with mild hemophilia A and allergic rhinitis. *Pediatr Int* 2017; 59:237–239.
4. Kerr R. Imaging of musculoskeletal complications of hemophilia. *Semin Musculoskelet Radiol* 2003; 7:127–136.

5. Stafford JM, James TT, Allen AM et al. Hemophilic pseudotumor: radiologic–pathologic correlation. *Radiographics* 2003; 23:852–856.
6. Thronson RR, Baker D, Kennedy P et al. Pseudotumor of hemophilia in the mandible of a patient with hemophilia A. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2012; 113:229–233.
7. Espandar R, Heidari P, Rodriguez-Merchan EC. Management of haemophilic pseudotumors with special emphasis on radiotherapy and arterial embolization. *Haemophilia* 2009; 15:448–457.
8. Uriza LF, Berdugo A, Partija RT et al. Pseudotumor hemofílico. Reporte de caso. *Univ Med* 2006; 48:71–74 (in Spanish).
9. Garcia-Perez R, Torres-Salmeron G, Sanchez-Bueno F et al. Intraabdominal hemophilic pseudotumor: case report. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 102:275–280.
10. Prasad RK, Siva B, Rajpal J et al. Self-healing hemophilic pseudotumor of the mandible in a 5-year-old boy, an interesting and rare finding: Case report and review. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2016; 34:82–86.
11. Anderson CL, Alvarez O, Saigal G et al. Hemophilic Pseudotumor: An Important Differential Diagnosis of an Intracranial Mass. *J Pediatr Hematol Oncol* 2015; 37:219–222.
12. Буланов А. Ю., Шулутко Е. М., Карпов Е. Е. и др. Терапия острой массивной кровопотери у больного гемофилией: клинический случай. *Тер архив* 2011; 83:70–73.
13. Rodriguez-Merchan EC, Jimenez-Yuste V. The role of selective angiographic embolization of the musculo-skeletal system in haemophilia. *Haemophilia* 2009; 15:864–868.
14. Lv M, Fan X, Su L et al. Ethanol embolization of hemophilic pseudotumor of the mandible. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2011; 34:880–882.
15. Ahuja SP, Sidonio R Jr, Raj AB et al. Successful combination therapy of a proximal haemophilic pseudotumour with surgery, radiation and embolization in a child with mild haemophilia A. *Haemophilia* 2007; 13:209–212.

ISSN 0234-5730



9 770234 573007