

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

ФГБУ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ГЕМАТОЛОГИИ
МИНЗДРАВА РОССИИ
НАЦИОНАЛЬНОЕ
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

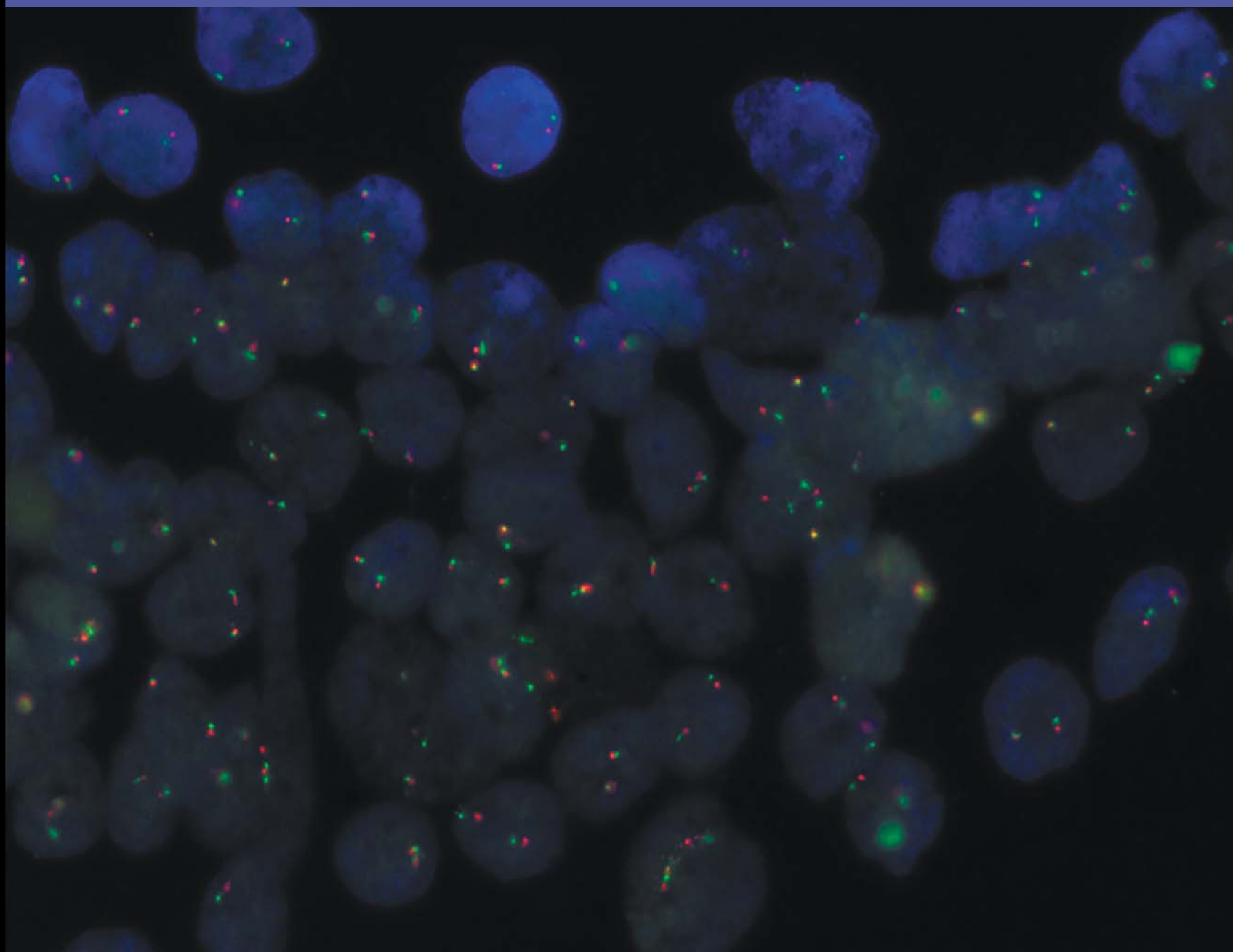
64.4. 2019

RUSSIAN JOURNAL
OF HEMATOLOGY AND
TRANSFUSIOLOGY
(GEMATOLOGIYA I TRANSFUSIOLOGIYA)

ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

64.4. 2019

RUSSIAN JOURNAL OF HEMATOLOGY AND TRANSFUSIOLOGY





НАЦИОНАЛЬНОЕ
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО



V Конгресс
Гематологов
России

V КОНГРЕСС ГЕМАТОЛОГОВ РОССИИ

16–18 АПРЕЛЯ 2020 ГОДА, МОСКВА

Глубокоуважаемые коллеги!

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ ИМЕНИ ДМИТРИЯ РОГАЧЕВА» МИНЗДРАВА РОССИИ
НАЦИОНАЛЬНОЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО
НАЦИОНАЛЬНОЕ ОБЩЕСТВО ДЕТСКИХ ГЕМАТОЛОГОВ И ОНКОЛОГОВ
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО ОНКОГЕМАТОЛОГОВ

**ПРОВОДЯТ 16–18 АПРЕЛЯ 2020 ГОДА В МОСКВЕ
V КОНГРЕСС ГЕМАТОЛОГОВ РОССИИ**

**Место проведения: Конгресс-Парк гостиницы
«Украина», г. Москва, Кутузовский пр., 2/1, стр. 1
Вся информация по Конгрессу будет размещена
на сайте Национального гематологического
общества (НГО) <https://npngo.ru>**

**На сайте НГО открыта регистрация
и подача тезисов на
V Конгресс гематологов России!**

Регистрация on-line открыта до

01.04.2020

Прием тезисов on-line открыт до

30.11.2019

Все зарегистрировавшиеся участники
будут обеспечены материалами
Конгресса. Участие в Конгрессе не
предусматривает регистрационных
взносов.

Программа секционных заседаний,
а также постерная сессия будут
формироваться на основе отбора лучших
тезисов экспертным советом Конгресса.

4.2019

RUSSIAN JOURNAL
OF HEMATOLOGY AND
TRANSFUSIOLOGY
(GEMATOLOGIYA I TRANSFUZIOLOGIYA)

ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

Журнал представлен
в международной базе данных Scopus
(Gematologiya i Transfuziologiya) и в российской базе
РИНЦ (Российский индекс научного цитирования)

Импакт-фактор (РИНЦ) — 0,898

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК)
Министерства образования и науки РФ журнал
«Гематология и трансфузиология» включен в перечень
ведущих научных рецензируемых журналов, в которых
должны быть опубликованы основные научные
результаты диссертаций на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук
и ученой степени доктора медицинских наук

УЧРЕДИТЕЛИ:

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр гематологии»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4

Некоммерческое партнерство содействия развитию
гематологии и трансплантации костного мозга
«Национальное гематологическое общество»

Периодичность издания: 4 номера в год
Префикс DOI: 10.35754

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр гематологии» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Телефоны: 89268163887, 89166812291
e-mail: o.levchenko@hjournal.ru

Научный редактор Галстян Г. М.
Корректоры Пигулевская И. С., Зелексон Л. А.
Верстка Чоренький С. И.

Дизайн Чулкова И. Г.

Формат 230x297 мм
Тираж 1500 экз.

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

Издательство: ООО «НЭИКОН ИСП»,
115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5, офис 2.4
тел./факс: +7(499)754-99-94
<https://neicon.ru/>

Объединенный каталог
«Пресса России»: индекс 41284

Подписка через интернет: www.ppressa-rf.ru
Подписка на электронную версию журнала: elibrary.ru
Журнал открыт для ознакомления на сайте
<https://www.hjournal.ru/>

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

Гематология и трансфузиология.
Russian Journal of Hematology and Transfusiology
(Gematologiya i Transfuziologiya)
2019. Т. 64. №4, 375–516

© Федеральное государственное бюджетное учре-
ждение «Национальный медицинский исследова-
тельский центр гематологии» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Контент доступен под лицензией Creative Commons
Attribution 4.0 License.

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1956 ГОДУ

Цели и задачи журнала

Обобщение научных и практических достижений в области гематологии и трансфузиологии, повышение квалификации врачей различных специальностей.

Международный журнал «Гематология и трансфузиология» публикует оригинальные и фундаментальные исследования, лекции, обзоры и клинические наблюдения, касающиеся различных разделов гематологии, гемостазиологии и трансфузиологии: физиологии и патофизиологии кроветворения, миелопоэза, иммуногематологии, состояний и заболеваний, обусловленных нарушениями функции и количества тромбоцитов, врожденных и приобретенных нарушений коагуляции и фибринолиза, тромбозов, тромбофилий, вопросов терапии антикоагулянтами и дезагрегантами, вопросов онкогематологии, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, генной терапии, экспериментальной биологии и экспериментальной терапии, эпидемиологических исследований, интенсивной терапии критических состояний, возникающих при заболеваниях системы крови, вопросов производственной трансфузиологии, а именно получения и тестирования компонентов крови, их клинического применения при различных заболеваниях.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР ЖУРНАЛА

Савченко Валерий Григорьевич

главный внештатный специалист-гематолог МЗ РФ, академик РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор
ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Галстян Геннадий Мартинович

д.м.н., заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Троицкая Вера Витальевна

к.м.н., заведующая отделением интенсивной высокоскоростной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ЗАВЕДУЮЩАЯ РЕДАКЦИЕЙ

Левченко Ольга Константиновна

к.м.н., старший научный сотрудник отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Афанасьев Борис Владимирович, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, директор НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, заведующий кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Буланов Андрей Юльевич, д.м.н., главный внештатный специалист-трансфузиолог Департамента здравоохранения г. Москвы, руководитель консультативной трансфузиологической бригады ГБУЗ «ГКБ № 52 ДЗ г. Москвы» (Москва, Россия)

Гапонова Татьяна Владимировна, к.м.н., главный внештатный специалист-трансфузиолог МЗ РФ, заместитель генерального директора по трансфузиологии — заведующая отделом трансфузиологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гудков Андрей Владимирович, д.б.н., профессор, директор Института рака Розвелла Парка (Баффало, США)

Звонков Евгений Евгеньевич, д.м.н., заведующий отделением интенсивной высокоскоростной химиотерапии лимфом ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Зозуля Надежда Ивановна, д.м.н., заведующая отделом коагулопатий ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Клясова Галина Александровна, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Ковригина Алла Михайловна, д.б.н., заведующая патологоанатомическим отделением ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Крыжановский Олег Игоревич, к.м.н., руководитель программы лечения злокачественных гематологических заболеваний онкологического центра Alta Bates Summit Medical Center (Беркли, Калифорния, США)

Купряшов Алексей Анатольевич, д.м.н., заведующий отделением переливания крови ФГБУ «НМИЦ сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ (Москва, Россия)

Масчан Алексей Александрович, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заместитель генерального директора, директор Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Менделеева Лариса Павловна, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по научной работе и инновациям, заведующая отделением высокодозной химиотерапии паралпротенимических гемобластозов ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Никитин Евгений Александрович, д.м.н., заведующий дневным стационаром гематологии, онкологии и химиотерапии ГБУЗ г. Москвы «КБ им. С.П. Боткина» ДЗ г. Москвы (Москва, Россия)

Паровичникова Елена Николаевна, д.м.н., заведующая отделом химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Семочкин Сергей Вячеславович, д.м.н., профессор кафедры онкологии и гематологии ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ (Москва, Россия)

Судариков Андрей Борисович, д.б.н., заведующий лабораторией молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Трахтман Павел Евгеньевич, д.м.н., заведующий отделением заготовки и процессинга гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Тумян Гаяне Сепуговна, д.м.н., профессор кафедры онкологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, ведущий научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ (Москва, Россия)

Чернов Вениамин Михайлович, д.м.н., член-корреспондент РАЕН, профессор, заведующий научно-консультативным отделом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Алейникова Ольга Витальевна, член-корр. НАН Беларуси, д.м.н., профессор, директор Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск, Республика Беларусь)

Аль-Ради Любовь Саттаровна, к.м.н., зам. заведующего консультативного гематологического отделения с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Байков Вадим Валентинович, д.м.н., заведующий лабораторией патоморфологии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Бигильдеев Алексей Евгеньевич, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Бидерман Белла Вениаминовна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Бондаренко Сергей Николаевич, к.м.н., руководитель отдела онкологии, гематологии и трансплантологии для подростков и взрослых Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Васильев Сергей Александрович, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник консультативного гематологического отделения с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гаврилина Ольга Александровна, к.м.н., старший научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гармаева Татьяна Цыреновна, д.м.н., заместитель генерального директора по организационно-методической работе и взаимодействию с регионами Российской Федерации, заведующий научно-организационным отделом по гематологии, трансфузиологии, донорству ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Головкина Лариса Леонидовна, д.м.н., заведующая лабораторией трансфузиологической иммуногематологии, ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Грицаев Сергей Васильевич, д.м.н., руководитель Республиканского центра трансплантации костного мозга ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА» (Санкт-Петербург, Россия)

Двирник Валентина Николаевна, к.м.н., заведующая централизованной клинко-диагностической лабораторией ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Джулакян Унан Левонович, к.м.н., ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Дроков Михаил Юрьевич, к.м.н., руководитель сектора по изучению иммунных воздействий и осложнений после трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Дубинкин Игорь Владимирович, к.б.н., ведущий специалист группы трансфузионной биотехнологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Ефимов Григорий Александрович, д.б.н., заведующий лабораторией трансплантационной иммунологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Исхаков Эльдор Джасурович, к.м.н., научный руководитель отделения гематологии НИИ гематологии и переливания крови (Ташкент, Узбекистан)

Кохно Алина Владимировна, к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Кузьмина Лариса Анатольевна, к.м.н., заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Кулагин Александр Дмитриевич, д.м.н., профессор, заместитель главного врача по гематологии, онкогематологии и ревматологии Клиники ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Куликов Сергей Михайлович, к.т.н., заведующий информационно-аналитическим отделом ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Луговская Светлана Алексеевна, д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ (Москва, Россия)

Лукина Елена Алексеевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением орфанных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Магомедова Аминат Умарасхабовна, д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Маккарти Филип, профессор онкологии и внутренней медицины Института рака (Розвелл Парк Баффало, США)

Масчан Михаил Александрович, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора, директор Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ (Москва, Россия)

Михайлова Елена Алексеевна, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Моисеева Татьяна Николаевна, к.м.н., заведующая консультативным гематологическим отделением с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Нидервайзер Дитгер, профессор медицины, руководитель отдела гематологии и онкологии университетского госпиталя (Лейпциг, Германия)

Обухова Татьяна Никифоровна, к.м.н., заведующая лабораторией кариологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Салимов Эмин Львович, д.м.н., заведующий отделом заготовки крови и ее компонентов, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) МЗ РФ (Москва, Россия)

Сметанина Наталия Сергеевна, д.м.н., профессор, заместитель директора Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Туполева Татьяна Алексеевна, д.м.н., заведующая отделом вирусологической диагностики ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Туркина Анна Григорьевна, д.м.н., профессор, заведующая научно-консультативным отделением химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Фидарова Залина Таймуразовна, к.м.н., заведующая отделением химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с дневным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Фoa Робин, д.м.н., профессор гематологии, руководитель отдела гематологии Римского университета «La Sapienza» (Рим, Италия)

Хамаганова Екатерина Георгиевна, д.б.н., заведующая лабораторией тканевого типирования, ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Хелльман Ричард, преподаватель клинической медицины в больнице Лоренс Мемориал (Нью-Лондон, США)

Хольцер Дитер, профессор медицины и гематологии университета Франкфурта, вице-президент Европейской школы гематологии и европейской и немецкой сети специалистов по лейкозам, координатор европейской рабочей группы острого лимфобластного лейкоза у взрослых (Франкфурт-на-Майне, Германия)

Цаур Григорий Анатольевич, д.м.н., заведующий лабораторией молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии ОКБ № 1 (Екатеринбург, Россия)

Шипунова Ирина Николаевна, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

The journal is presented in the international database of Scopus (Gematologiya i Transfuziologiya) and Russian database RSCI (Russian science citation index)

IF (RISC) — 0,898

Under the decision of the Higher Attestation Commission (HAC) of the Ministry of Education and Science, Russian Journal of Hematology and Transfusiology is included in the list of leading peer-reviewed scientific journals, where the main scientific results of dissertations for academic degree of Candidate of Sciences and for academic degree of Doctor of Sciences should be published.

FOUNDERS

National Research Center for Hematology of the Ministry of Health of the Russian Federation
125167, Moscow, Novyy Zhykovskiy proezd, 4

Non-profit partnership of assistance to development of hematology and bone marrow transplantation «National Society of Hematology»

Frequency: quarterly
DOI Prefix: 10.35754

ADDRESS OF EDITORIAL

125167, Moscow, Novyy Zhykovskiy proezd, 4
National Research Center for Hematology, Moscow

Phone: +7(495) 921-22-04
E-mail: hi@hijournal.ru

Science editor Galstyan G. M.
Correctors Pigulevskaya I. S., Zelekson L. A.
Layout of Chornenkiy S. I.

Design by Chulkova I. G.

Format 230x297 mm
Printed copies 1500

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

NEICON ISP Ltd, Letnikovskaya str., 4,
bldg 5, of. 2.4, Moscow, 115114, Russia
<https://neicon.ru/>

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)

Гематология и трансфузиология.
Russian Journal of Hematology and Transfusiology
(Gematologiya i Transfuziologiya)
2019. Vol. 64. No.4, 375–516

© National Research Center for Hematology, Moscow

Content is distributed
under Creative Commons Attribution 4.0 license

THE JOURNAL IS BASED IN JANUARY 1956

Aims and Scope

Hematology and Transfusiology is a peer-reviewed scholarly journal aimed at presenting scientifically and practically significant research findings in the field of hematology and transfusiology, as well as at advancing professional competencies of physicians of various specialties.

Hematology and Transfusiology is an international peer-reviewed scholarly journal aimed publishes original research papers, reviews, clinical cases and lecture notes pertaining to a broad range of problems in the fields of hematology, hemostasiology and transfusiology. Among them are the physiology and pathophysiology of hematopoiesis, myelopoiesis, immunohematology; conditions and diseases caused by impaired platelet function and number, congenital and acquired disorders of coagulation and fibrinolysis, thrombosis, thrombophilia; therapy with anticoagulants and disaggregants; problems of oncohematology, hematopoietic stem cell transplantation, gene therapy, experimental biology and experimental therapy; epidemiological studies of blood system diseases, intensive therapy of critical conditions that arise due to various blood system diseases; issues of industrial transfusion, i.e. production of plasma and blood components for treating various diseases and conditions.

EDITOR-IN-CHIEF

Valery G. Savchenko

Dr. Sci. (Med.), Prof., Chief Hematology Specialist of the Ministry of Health of the Russian Federation, RAS Academician, Head of the National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

DEPUTY CHIEF EDITOR

Gennady M. Galstyan

Dr. Sci. (Med.), Head of the Intensive Care Department of the National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

EXECUTIVE SECRETARY

Vera V. Troitskaya

Cand. Sci. (Med.), Head of the Intensive High-Dose Chemotherapy Department for patients with Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

HEAD OF THE EDITORIAL OFFICE

Olga K. Levchenko

Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the Intensive Care Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

EDITORIAL BOARD

Boris V. Afanasyev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Honoured Doctor of the Russian Federation, Head of the Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Head of the Chair of Hematology, Transfusiology and Transplantation, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Andrei Yu. Bulanov, Dr. Sci. (Med.), Chief Transfusiology Specialist of the Moscow Healthcare Department, Head of the Transfusiology Advisory Team of the City Clinical Hospital No. 52, (Moscow, Russia).

Tatyana V. Gaponova, Cand. Sci. (Med.), Chief Transfusiology Specialist of the of the Ministry of Health of the Russian Federation, Deputy Director for Transfusiology, Head of the Department of Transfusiology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Andrei V. Gudkov, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Director of the Roswell Park Comprehensive Cancer Center (Buffalo, USA).

Evgeny E. Zvonkov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of High-Dose Lymphoma Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Nadezhda I. Zozulya, Dr. Sci. (Med.), Head of the Coagulopathy Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Galina A. Klyasova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Laboratory of Clinical Bacteriology, Mycology and Antibiotic Therapy National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

Alla M. Kovrigina, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Pathology Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

Oleg I. Kryzhanovsky, Cand. Sci. (Med.), Director of Malignant Hematology Program Comprehensive Cancer Center "Alta Bates" Summit Medical Center (Berkeley, CA, USA)

Alexey A. Kupryashov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Blood Transfusion Department, A.N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery (Moscow, Russia)

Alexey A. Maschan, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the of the Russian Academy of Science, Deputy General Director Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Director of the Institute of Hematology, Immunology and Cell's Technology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Larisa P. Mendeleeva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Director for Research and Innovations, Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of paraproteinemic haematological malignancies, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Evgeny A. Nikitin, Dr. Sci. (Med.), Head of the day care Department of Hematology, Chemotherapy and Oncology, Botkin Moscow City Hospital (Moscow, Russia).

Elena N. Parovichnikova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Sergey V. Semochkin, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Chair of Oncology and Hematology, Piragov Russian National Research Medical University, (Moscow, Russia).

Andrey B. Sudarikov, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Pavel E. Trakhtman, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Transfusiology, Procurement and Processing of Hematopoietic Stem Cells, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Gayane S. Tumyan, Dr. Sci. (Med.), Prof., of the Chair of Oncology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Leading Researcher, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of oncology" (Moscow, Russia).

Veniamin M. Chernov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of the Scientific Consulting Department, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

EDITORIAL COUNCIL

Olga V. Aleinikova, Dr. Sci. (Med.), Prof., RAS Corresponding Member, National Academy of Sciences of Belarus, Head of the Belarussian Research Center for Pediatric Oncology and Hematology (Minsk, Belarus).

Lyubov S. Al-Radi, Cand. Sci. (Med.), Deputy Head of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Vadim V. Baikov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Pathology Department, Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Associate Professor, Pathology Department, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Alexey E. Bigildeev, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Bella V. Biderman, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, Federal Medical Research Center of Hematology (Moscow, Russia).

Sergey N. Bondarenko, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Oncology, Hematology and Transplantation for Adolescents and Adults, Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Sergey A. Vasiliev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Leading Researcher of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy for High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Olga A. Gavrilina, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Tatyana Ts. Garmaeva, Deputy Director for Organizational and Methodological Work and Cooperation with Regions of the Russian Federation, Head of the Scientific and Organizational Department for Hematology, Transfusiology, Donation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Larisa L. Golovkina, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory for Transfusion Immune Hematology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Sergey V. Gritsaev, Dr. Sci. (Med.), Head of the Republican Center for Bone Marrow Transplantation, Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology under the Federal Medico-Biological Agency (St. Petersburg, Russia).

Valentina N. Dvirnyk, Cand. Sci. (Med.), Head of the Centralized Clinical and Diagnostic Laboratory, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Hunan L. Julhakyan, Cand. Sci. (Med.), Scientific Secretary, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Mikhail Yu. Drovov, Cand. Sci. (Med.), Head of the Sector for the Study of Immune Effects and Complications After Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Igor V. Dubinkin, Cand. Sci. (Biol.), Leading specialist of the Transfusion Biotechnology Group, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Grigory A. Efimov, Dr. Sci. (Biol.), Head of Transplant Immunology Laboratory, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Eldor D. Iskhakov, Cand. Sci. (Med.), Scientific Director, Department of Hematology, Scientific Research Institute for Hematology and Blood Transfusion (Tashkent, Uzbekistan).

Alina V. Kokhno, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Larisa A. Kuzmina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Alexander D. Kulagin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Chief Doctor for Hematology, Oncohematology and Rheumatology, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Sergey M. Kulikov, Cand. Sci. (Engineering), Head of the Information and Analytical Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Svetlana A. Lugovskaya, Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Moscow, Russia).

Elena A. Lukina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Orphan Diseases Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Aminat U. Magomedova, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of Hematological malignancies, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Philip McCarthy, MD, Prof. of Oncology and Internal Medicine, Roswell Park Comprehensive Cancer Center (Buffalo, USA).

Mikhail A. Maschan, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy General Director, Director of the Higher School of Molecular and Experimental Medicine, Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Elena A. Mikhailova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Leading Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Tatyana N. Moiseeva, Cand. Sci. (Med.), Head of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Dietger Niederwieser, MD, Professor of Medicine, Head of the Department of Hematology and Oncology, Leipzig University Clinic (Leipzig, Germany).

Tatyana N. Obukhova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Karyology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Emin L. Salimov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Blood and its Component Banking; Prof., Department of Anesthesiology and Resuscitation, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Moscow, Russia).

Nataliya S. Smetanina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Director of the Institute of Hematology, Immunology and Cell's Technology Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Tatyana A. Tupoleva, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Virological Diagnostics, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Anna G. Turkina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Scientific Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Diseases, National Research Center for Hematology, (Moscow, Russia).

Zalina T. Fidarova, Cand. Sci. (Med.), Head of day hospital for Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Robin Foa, MD, Professor of Hematology, Head of the Department of Hematology, University of Rome "La Sapienza" (Rome, Italy)

Ekaterina G. Khamaganova, Dr. Sci. (Biology), Head of the Laboratory of Tissue Typing, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Richard M. Hellman, MD, Prof. of Hematology and Medical Oncology, Lawrence Memorial Hospital (New London, USA).

Dieter Hoelzer, MD, PhD, Prof. of Internal Medicine, University of Frankfurt; Vice-President of the European School of Hematology and the European and German Network of Specialists on Leukemia; Coordinator of the European Working Group for Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults (Frankfurt, Germany)

Grigoriy A. Tsaar, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathomorphology, Sverdlovsk Region Clinical Hospital No. 1 (Ekaterinburg, Russia)

Irina N. Shipunova, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

382–395

Гаврилина О.А., Котова Е.С., Паровичникова Е.Н.,
Троицкая В.В., Соколов А.Н., Басхаева Г.А.,
Зарубина К.И., Фидарова З.Т., Кузьмина Л.А.,
Двирник В.Н., Обухова Т.Н., Савченко В.Г.

**Применение неларабина у взрослых больных
с рефрактерным течением/рецидивом острого
Т-лимфобластного лейкоза/лимфомы:
опыт одного центра**

396–411

Спирин М.В., Галстян Г.М., Дроков М.Ю., Кузьмина Л.А.,
Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г.

**Обеспечение центрального венозного доступа
при трансплантации аллогенных гемопоэтических
стволовых клеток**

412–423

Дроков М.Ю., Дубняк Д.С., Яцык Г.А., Киреева А.А.,
Пырикова О.В., Кузьмина Л.А., Попова Н.Н.,
Васильева В.А., Масликова У.В., Паровичникова Е.Н.

**Ультразвуковое исследование толщины стенки
кишечника у больных острой реакцией «трансплантат
против хозяина» с поражением кишечника**

424–435

Петинати Н.А., Шипунова И.Н., Бигильдеев А.Е., Сац Н.В.,
Челышева Е.Ю., Шухов О.А., Петрова А.Н., Туркина А.Г.,
Дризе Н.И.

**Изменения в клетках-предшественниках стромального
микроокружения костного мозга больных хроническим
миелолейкозом в дебюте заболевания и в ходе лечения**

436–446

Меликян А.Л., Егорова Е.К., Пустовая Е.И.,
Колошейнова Т.И., Володичева Е.М., Капорская Т.С.,
Ильясов Р.К., Шелехова Т.В., Федорова Н.А., Зотова И.И.,
Сычева Т.М., Контиевский И.Н., Шестопалова И.Л.,
Кукина Н.В., Сырцева Е.Б., Тарасенко Е.В.,
Мересий О.В., Черкашенко Ж.В., Чабаяева Ю.А.,
Куликов С.М.

**Промежуточные результаты эпидемиологического
исследования идиопатической тромбоцитопенической
пурпуры у взрослых в Российской Федерации**

447–461

Звонков Е.Е., Королева Д.А., Габеева Н.Г., Гаврилина О.А.,
Федорова С.Ю., Губкин А.В., Ковригина А.М., Яцык Г.А.,
Клясова Г.А., Савенко Т.А., Савченко В.Г.

**Высокодозная химиотерапия первичной диффузной
В-крупноклеточной лимфомы центральной нервной
системы. Промежуточные результаты протокола
CNS-2015**

462–470

Левин Г.Я., Поповичева А.Н., Соснина Л.Н.,
Шереметьев Ю.А.

**Агрегация тромбоцитов и их размеры при ожоговой
болезни у детей**

CONTENTS

Original Articles

Gavrilina O.A., Kotova E.S., Parovichnikova E.N.,
Troitskaya V.V., Sokolov A.N., Baskhaeva G.A., Zarubina K.I.,
Fidarova Z.T., Kuzmina L.A., Dvirnyk V.N., Obukhova T.N.,
Savchenko V.G.

**Nelarabine treatment in adult patients with refractory/
relapsed T-cell acute lymphoblastic leukaemia/
lymphoma: experience of a single centre**

Spirin M.V., Galstyan G.M., Drokov M.Yu., Kuzmina L.A.,
Klyasova G.A., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G.

**Provision of central venous access during allogeneic
haematopoietic stem cell transplantation**

Drokov M.Yu., Dubnyak D.S., Popova N.N., Yatsyk G.A.,
Kireeva A.A., Pyrikova O.V., Kuzmina L.A., Vasilyeva V.A.,
Maslikova U.V., Parovichnikova E.N.

**Ultrasound examination of bowel wall thickness in patients
with acute intestinal graft-versus-host disease**

Petinati N.A., Shipunova I.N., Bigildeev A.E., Sats N.V.,
Chelysheva E.Yu., Shukhov O.A., Petrova A.N., Turkina A.G.,
Drize N.I.

**Changes in stromal progenitor cells derived from bone
marrow in patients with chronic myelogenous leukaemia at
the onset of the disease and during treatment**

Melikyan A.L., Egorova E.K., Pustovaya E.I., Kolosheina T.I.,
Volodicheva E.M., Kaporskaya T.S., Ilyasov R.K.,
Shelekhova T.V., Fedorova N.A., Zotova I.I., Sycheva T.M.,
Kontievsky I.N., Shestopalova I.L., Kurkina N.V., Syrtseva E.B.,
Tarasenko E.V., Meresiy O.V., Cherkashenko Zh.V.,
Chabaeva Yu.A., Kulikov S.M.

**Interim results of epidemiological study of idiopathic
thrombocytopenic purpura in adults in the Russian
Federation: intermediate results**

Zvonkov E.E., Koroleva D.A., Gabeeva N.G., Gavrilina O.A.,
Fedorova S.Yu., Gubkin A.V., Kovrigina A.M., Yatsyk G.A.,
Klyasova G.A., Savenko T.A., Savchenko V.G.

**High-dose chemotherapy for primary diffuse large B-cell
lymphoma of the central nervous system. Interim results of
the CNS-2015 protocol**

Levin G.Ya., Popovicheva A.N., Sosnina L.N.,
Sheremetev Yu.A.

**Aggregation and size of platelets in children with burn
disease**

Обзоры литературы

471–482

Колосков А.В., Мангушло А.А.
Металлопротеаза ADAMTS-13

Клинические наблюдения

483–488

Ластовка В.А., Тепаев Р.Ф., Гордеева О.Б., Гандаева Л.А.,
Басаргина Е.Н., Деревнина Ю.В., Пеньков Е.Л.
**Случай атипичного варфарин-индуцированного
некроза кожи у ребенка с врожденным пороком
сердца**

489–503

Яковлева Е.В., Коняшина Н.И., Горгидзе Л.А., Сурин В.Л.,
Пшеничникова О.С., Полеводова О.А., Спирин М.В.,
Галстян Г.М., Зозуля Н.И.
**Наследственный дефицит фактора свертывания
крови V: клинические наблюдения**

Обмен опытом

504–515

Головкина Л.Л., Каландаров Р.С., Стремоухова А.Г.,
Калмыкова О.С., Пушкина Т.Д., Сурин В.Л.,
Пшеничникова О.С., Николаева Т.Л., Оловникова Н.И.
**Дифференциация подгрупп А1 и А2 антигена А
системы АВ0: биологическая основа и серологическая
стратегия**

Review Articles

Koloskov A.V., Mangushlo A.A.
Metalloprotease ADAMTS-13

Case Reports

Lastovka V.A., Tepaev R.F., Gordeeva O. B., Gandaeva L.A.,
Basargina E.N., Derevnina Yu.V., Penkov Ye.L.
**Case of atypical warfarin-induced skin necrosis in a child
with congenital heart disease**

Yakovleva E.V., Konyashina N.I., Gorgidze L.A., Surin V.L.,
Pshenichnikova O.S., Polevodova O.A., Spirin M.V.,
Galstyan G.M., Zozulya N.I.
Congenital factor V deficiency: case reports

Exchange of Experience

Golovkina L.L., Kalandarov R.S., Stremoukhova A.G.,
Kalmykova O.S., Pushkina T.D., Surin V.L., Pshenichnikova O.S.,
Nikolaeva T.L., Olovnikova N.I.
**Differentiation of the A1 and A2 subgroups of the ABO
system: Biological background and serological strategy**

ПРИМЕНЕНИЕ НЕЛАРАБИНА У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ С РЕФРАКТЕРНЫМ ТЕЧЕНИЕМ/РЕЦИДИВОМ ОСТРОГО Т-ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА/ЛИМФОМЫ: ОПЫТ ОДНОГО ЦЕНТРА

Гаврилина О. А.*, Котова Е. С., Паровичникова Е. Н., Троицкая В. В., Соколов А. Н., Басхаева Г. А., Зарубина К. И., Фидарова З. Т., Кузьмина Л. А., Двирнык В. Н., Обухова Т. Н., Савченко В. Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Современная терапия рецидивов и резистентных форм острых Т-клеточных лимфобластных лейкозов/лимфом (Т-ОЛЛ/ЛБЛ) является малоэффективной. Использование неларабина позволяет улучшить результаты терапии у больных с рефрактерным течением/рецидивом Т-ОЛЛ/ЛБЛ.

Цель исследования — оценить эффективность и токсичность терапии неларабином в сочетании с этопозидом и циклофосфамидом у взрослых больных с рефрактерным течением/рецидивом Т-ОЛЛ/ЛБЛ.

Материалы и методы. С 2012 по 2018 гг. 10 больным в возрасте от 19 лет до 41 года с рефрактерным течением/рецидивом Т-ОЛЛ проводили терапию неларабином. Выполнены от 1 до 3 курсов химиотерапии, включавших неларабин 650 мг/м² (с 1-го по 5-й день), этопозид 100 мг/м² и циклофосфамид 440 мг/м² (с 8-го по 12-й день). Всем больным, достигшим полной ремиссии (ПР), была проведена трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Оценку токсических осложнений (миелосупрессия, нейротоксичность, частота развития инфекционных осложнений) проводили после каждого курса химиотерапии.

Результаты. ПР после 1–2 курсов химиотерапии была достигнута у 6 (60 %) из 10 больных. Всем 6 больным, достигшим ПР, была выполнена алло-ТГСК. У 3 (50 %) из 6 больных после алло-ТГСК диагностирован ранний рецидив заболевания, 1 из 6 больных умер от инфекционных осложнений при сохраняющейся ПР заболевания. Только 2 больных находятся под наблюдением в течение полутора лет после алло-ТГСК. Общая выживаемость (ОВ) составила 18 % в течение 5 лет от момента диагностики рецидива заболевания. Среди токсических осложнений у всех больных отмечали миелосупрессию и инфекционные осложнения. Нейротоксичность зарегистрирована у 3 (30 %) из 10 больных, причем у 2 из них ее отмечали после каждого курса, а у 1 — только после 3-го курса с неларабином.

Заключение. Применение неларабина для лечения резистентных форм/рецидивов Т-ОЛЛ/ЛБЛ позволяет достичь ПР заболевания в 60 % случаев и выполнить алло-ТГСК. Однако долгосрочные результаты не столь оптимистичны.

Ключевые слова: Т-лимфобластный лейкоз, Т-лимфобластная лимфома, неларабин, взрослые, нейротоксичность

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Гаврилина О.А., Котова Е.С., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Соколов А.Н., Басхаева Г.А., Зарубина К.И., Фидарова З.Т., Кузьмина Л.А., Двирнык В.Н., Обухова Т.Н., Савченко В.Г. Применение неларабина у взрослых больных с рефрактерным течением/рецидивом острого Т-лимфобластного лейкоза/лимфомы: опыт одного центра. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 382–395. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-382-395>

NELARABINE TREATMENT IN ADULT PATIENTS WITH REFRACTORY/RELAPSED T-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKAEMIA/LYMPHOMA: EXPERIENCE OF A SINGLE CENTRE

Gavrilina O. A.*, Kotova E. S., Parovichnikova E. N., Troitskaya V. V., Sokolov A. N., Baskhaeva G. A., Zarubina K. I., Fidarova Z. T., Kuzmina L. A., Obukhova T. N., Dvirnyk V. N., Savchenko V. G.

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

ABSTRACT

Introduction. Modern therapy for relapses and resistant forms of T-cell acute lymphoblastic leukaemia/lymphoma (T-ALL/LBL) shows poor efficacy. The use of nelarabine can improve the results of therapy in patients with refractory/relapsed T-ALL/LBL.

Aim. To evaluate the efficacy and toxicity of nelarabine treatment combined with etoposide and cyclophosphamide in adult patients with refractory/relapsed T-ALL/LBL.

Materials and methods. During the 2012–2018 period, 10 patients with refractory/relapsed T-ALL aged from 19 to 41 underwent nelarabine treatment. The patients received from 1 to 3 chemotherapy courses including nelarabine 650 mg/m² (days 1 to 5), etoposide 100 mg/m² and cyclophosphamide 440 mg/m² (days 8 to 12). All the patients having achieved complete remission (CR) underwent transplantation of allogeneic haematopoietic stem cells (allo-HSCT). The development of toxic sequelae (myelosuppression, neurotoxicity, incidence of infectious complications) was considered after each chemotherapy course.

Results. Out of 10 patients who received 1–2 chemotherapy courses, 6 (60 %) achieved CR. These 6 patients subsequently underwent allo-HSCT, which was followed by early relapse in 3 (50 %) of 6 patients and the death of 1 patient in persisting CR caused by infectious complications. Only 2 of 6 patients have been monitored for 1.5 years after the allo-HSCT. The five-year overall survival rate in relapsed patients came to 18 %. In terms of toxic sequelae, myelosuppression and infectious complications were observed in all patients. Neurotoxicity was noted in 3 (30 %) out of 10 patients, with two of them experiencing it after each course and one patient — only following the third course of nelarabine treatment.

Conclusion. The use of nelarabine for the treatment of refractory/relapsed T-ALL/LBL provides the opportunity to achieve CR in 60 % of cases, as well as to perform allo-HSCT. However, long-term results are not very optimistic, thus further research is required.

Keywords: T-cell acute lymphoblastic leukaemia; T-lymphoblastic lymphoma; nelarabine; adults, neurotoxicity

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Gavrilina O.A., Kotova E.S., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Sokolov A.N., Baskhaeva G.A., Zarubina K.I., Fidarova Z.T., Kuzmina L.A., Dvirnyk V.N., Obukhova T.N., Savchenko V.G. Nelarabine treatment in adult patients with refractory/relapsed T-cell acute lymphoblastic leukaemia/lymphoma: experience of a single centre. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(4):382–395 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-382-395>

Введение

Острый Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфома (Т-ОЛЛ/ЛБЛ) — это редкое опухолевое заболевание системы крови, доля которого среди всех острых лейкозов (ОЛ) у взрослых составляет 20–25 %, у детей — 10–15 % [1, 2]. Лечение Т-ОЛЛ/ЛБЛ требует длительной интенсивной системной химиотерапии, интратекального введения химиопрепаратов [3, 4]. У взрослых такой подход к лечению в 56–95 % случаев позволяет достичь полной ремиссии (ПР) заболевания [5]. Показатели пятилетней общей выживаемости (ОВ) у детей значительно лучше и составляют 90 %, а у взрослых — 56–65 % [6, 7]. Несмотря на значимые успехи лечения больных Т-ОЛЛ/ЛБЛ, у 30–40 % из них возникает рецидив заболевания.

До настоящего времени сложной задачей является лечение рефрактерных форм и рецидивов Т-ОЛЛ/ЛБЛ в связи с малой эффективностью проводимой терапии [6, 8]. Даже при выполнении интенсивных режимов химиотерапии, а также лучевой терапии [9, 10] показатели пятилетней выживаемости составляют не более 7 % [11].

Первые значимые успехи в лечении этих больных связаны с применением в клинической практике неларабина, который в 2005 г. был зарегистрирован Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (Food and Drug Administration, США) для лечения больных с рецидивом или рефрактерным течением Т-ОЛЛ/ЛБЛ [12, 13]. Неларабин — это аналог дезоксигуанозина 9-β-D арабинофуранозилгуанина (ага-G), который дезаминируется аденозинде-

заминазой с образованием активного соединения. Внутриклеточная дезоксигуанозинкиназа и дезосицитидинкиназа последовательно фосфорилируют ага-G с образованием дезоксигуанозина 9-β-D-арабинофуранозилгуанинтрифосфата (ага-GTP) [14]. После фосфорилирования ага-GTP заменяет гуанозинтрифосфат (GTP) в многочисленных биологических процессах, включая репликацию ДНК [11, 12], что приводит к ингибированию синтеза ДНК и гибели как злокачественных Т-клеток, так и других быстро делящихся клеток. В экспериментах *in vitro* было доказано, что неларабин обладает токсическим действием, причем более выраженным в отношении злокачественных Т-клеток, нежели В-клеток. С.О. Rodriguez и соавт. [15, 16] объяснили это тем, что преимущественная гибель именно Т-клеток происходит в связи с накоплением в них гуанозинтрифосфата.

Описаны различные схемы применения неларабина как в виде монотерапии, так и в сочетании с другими препаратами [17–19]. Кроме оценки эффективности различных режимов терапии с включением неларабина большое внимание уделяется токсичности этого препарата, особенно его осложнениям со стороны нервной системы, т.е. полинейропатии, мозжечковой атаксии и т.д. [20, 21] (табл. 1).

Исследовательская группа CALGB изучала эффективность применения неларабина при рецидиве/резистентном течении Т-ОЛЛ/ЛБЛ с 1998 по 2001 гг. В исследование было включено 39 больных: монотерапию неларабином проводили 20 (51 %) больным с ре-

Таблица 1. Основные характеристики, результаты лечения, оценка нейротоксичности терапии неларабином в разных исследовательских группах

Table 1. Main characteristics, results and neurotoxicity of nelarabine treatment reported by different research groups

Исследовательская группа Research group	Протокол терапии Regimen	Количество больных Number of patients	ПР CR	ОВ и БРВ OS and EFS	Нейротоксичность Neurotoxicity
GALGB DeAngelo D.J. и соавт. [17] GALGB DeAngelo D.J. et al. [17]	Неларабин 1,5 (2,2) г/м² 1, 3, 5 дни Nelarabine 1,5 (2.2) g/m ² (days 1, 3, 5)	39	12 (31 %)	28 %	38 (97 %)
НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии. Ю.Ю. Дьяконова и соавт. [19] D. Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Yu.Yu. Dyakonova et al. [19]	Неларабин 650 мг/м² (1–5 дни) + (ALL-REZ-BFM; ALL-REZ-2014/ 2016; MB -2008/2015). Nelarabine 650 mg/m ² (days 1 to 5) + (ALL-REZ-BFM, ALL-REZ-2014/ 2016, MB -2008/2015).	54	34(63 %)	28	–
The Children's Hospital of Philadel- phia, Leah A. и соавт. [18] Leah A. et al. [18]	Неларабин 650 мг/м² (1–5 дни), циклофосфамид 440 мг/м² и этопозид 100 мг/м²(8–12 дни) Nelarabine 650 mg/m ² (days 1 to 5), cy- clophosphamide 440 mg/m ² and etoposide 100 mg/m ² (days 8 to 12)	7	5(70 %)	–	6 (86 %)

Примечание. ПР — полная ремиссия; ОВ — общая выживаемость; БРВ — бессобытийная выживаемость.

Note. CR — complete remission; OS — overall survival; EFS — event-free survival.

цидивом заболевания и 19 (49 %) больным с рефрактерным течением Т-ОЛЛ/ЛБЛ. Введение препарата выполняли в 1, 3 и 5-й дни курса. У 3 больных доза вводимого препарата составила 2,2 г/м², у 36 больных — 1,5 г/м². Количество выполненных курсов неларабином различалось: у 14 больных проведен 1 курс, у 17 — 2 курса, у 5 — 3 курса, у 2 — 5 курсов и одному больному — 6 курсов. При терапии неларабином у 38 (97 %) из 39 больных были отмечены проявления нейротоксичности: периферическая сенсорная нейропатия — у 14 (37 %), периферическая моторная нейропатия — у 8 (21 %), общая слабость — у 7 (18 %), мышечная слабость — у 4 (11 %). Другие проявления, такие как гематологическая токсичность, гастроинтестинальные симптомы (тошнота, рвота, диарея), были диагностированы гораздо реже и составили 51 % (20 из 39) и 37 % (14 из 39) соответственно.

Случаев ранней летальности отмечено не было. ПР заболевания была достигнута у 31 % из 34 больных, частичная ремиссия (ЧР) — у 10 %. Медиана наблюдения за больными в ремиссии составила 20,5 недели (3,8–273,3), медиана общей выживаемости — 20 недель (13–36), ОВ в течение 1 года — 28 %. Достоверных различий между ответом на терапию неларабином в группе Т-ОЛЛ и Т-ЛБЛ получено не было (42 % против 38 %). Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) была выполнена у 7 больных: у 4 больных, находившихся в ПР заболевания, у одного больного, у которого была ПР, но не было восстановления показателей крови, и у 2 больных, у которых не было ремиссии заболевания. У 3 из 7 больных в контрольные сроки исследования (7, 11 и 18-й дни после алло-ТГСК) констатировано полное приживление трансплантата, и они были живы на сроке наблюдения 3–4 года от начала терапии неларабином. В этом исследовании было показано, что монотерапия неларабином позволяет достичь ПР заболевания у 41 % (16 из 39) больных, но при этом ОВ в течение 1 года составила только 28 %. Лучшие показатели ОВ были получены только у тех больных, которым была выполнена алло-ТГСК (срок наблюдения за 3 больными после алло-ТГСК составил 3–4 года). Представленный протокол лечения продемонстрировал как эффективность терапии неларабином, так и высокую нейротоксичность.

В дальнейшем исследовательскими группами были представлены схемы лечения с включением неларабина и других химиопрепаратов, целью которых было улучшение показателей достижения ПР и ОВ, а также — редукция дозы неларабина для снижения нейротоксичности проводимой терапии.

В детском госпитале штата Филадельфия (США) была предложена схема терапии лечения резистентных/рецидивов Т-ОЛЛ/ЛБЛ с включением неларабина: неларабин 650 мг/м² (с 1 по 5 дни), этопозид 100 мг/м²

и циклофосфамид 440 мг/м² (с 8-го по 12-й день) [18]. В исследование были включены 7 больных в возрасте от 2 до 19 лет: 6 девочек и мальчик: 2 больных неходжкинской лимфомой (вариант заболевания более подробно не указан), 4 больных пре-Т-ОЛЛ и 1 больной билинейным преТ-ОЛЛ/ОМЛ вариантом заболевания.

ПР была достигнута у 5 (71 %) из 7 больных: у 4 больных — после 1 курса, у 1 больного — после 2 курсов. У 2 больных неходжкинскими лимфомами диагностирована частичная ремиссия (ЧР) после 2 курсов. При применении данной схемы терапии с неларабином у 6 (86 %) из 7 больных отмечались различные проявления нейротоксичности: сенсорная и моторная нейропатия, головокружение, изменения настроения, тревожность, депрессия, сонливость, тремор, атаксия. У всех больных неврологическая симптоматика регрессировала через несколько дней после прекращения введения неларабина. Не было зафиксировано и случаев прерывания терапии вследствие ее токсичности. У 4 (80 %) из 5 больных, которые достигли ПР, была выполнена алло-ТГСК. Из них 1 больной умер от осложнений, связанных с алло-ТГСК, а у 2 больных констатирован ранний рецидив заболевания на сроке 3 и 20 месяцев после алло-ТГСК. Только у одного больного подтверждена ремиссия заболевания, сохранявшаяся при сроке наблюдения 15 месяцев после алло-ТГСК. Таким образом, применение неларабина в сочетании с этопозидом и циклофосфамидом позволило достичь ПР заболевания у 70 % больных с рефрактерным течением/рецидивом Т-ОЛЛ/ЛБЛ, но отдаленные результаты оказались не столь оптимистичными: только у одного больного сохранялась ПР заболевания в течение 15 месяцев после алло-ТГСК.

В последующем исследователи применяли неларабин в сочетании со стандартными противорецидивными схемами терапии. В исследование, выполненное в НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, в период с 2009 по 2017 гг. было включено 54 больных (39 мальчиков и 15 девочек) в возрасте от 10 мес. до 17 лет с резистентным течением/рецидивом Т-ОЛЛ/ЛБЛ [19]. Всем больным проводили лечение по различным противорецидивным протоколам (ALL-REZ-BFM, ALL-REZ-2014/ 2016, MB-2008/2015) с включением блока с неларабином (1–5-й дни, 650 мг/м²) [19]. В зависимости от протокола, блок неларабина был интегрирован либо первым элементом, затем выполнялось лечение согласно выбранной схеме, либо — последним, т.е. введение неларабина после проведения противорецидивного курса. Ранней летальности в результате терапии неларабином отмечено не было. ПР достигли 34 (63 %) из 54 больных, из них алло-ТГСК была выполнена 29 (85 %) больным. Смерть в ремиссии констатирована у 4 (12 %) из 34 больных, причем у 3 из 4 больных смертельный исход был после алло-ТГСК в связи с осложнениями,

связанными с алло-ТГСК (РТПХ и инфекционные осложнения). Рецидив заболевания диагностирован у 14 (41 %) из 34 больных. В этом исследовании анализ токсических осложнений, в том числе связанных с применением неларабина, не проводили. Однако не было отмечено ни одного случая прерывания/отмены терапии неларабином из-за развития тяжелых осложнений. Пятилетняя, БСВ и ОВ составили 28 %.

Результаты представленных исследований свидетельствуют, что включение в программу лечения больных с рефрактерным течением/рецидивом Т-ОЛЛ/ЛБЛ неларабина является эффективным — ПР заболевания достигается в 50–70 % случаев, что позволяет в дальнейшем выполнить им алло-ТГСК [2]. Причем применение схемы терапии «неларабин, этопозид, циклофосфамид» оказалось более эффективным для достижения ПР по сравнению с другими схемами [17, 19]. Показано, что неларабин является нейротоксичным препаратом (в некоторых исследованиях нейротоксичность достигла 100 %), однако ни одному больному не была прервана терапия в связи с нейротоксичностью и ни один больной в связи с этим не умер.

Целью настоящего исследования было оценить эффективность и токсичность терапии неларабином в сочетании с этопозидом и циклофосфамидом у взрослых больных с рефрактерным течением/рецидивом Т-ОЛЛ.

Материалы и методы

В период с 2012 по 2018 гг. в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России в исследование были включены все больные с рецидивом или рефрактерным течением Т-ОЛЛ, которым выполняли терапию, включающую неларабин 650 мг/м² (с 1-го по 5-й день), этопозид 100 мг/м² и циклофосфамид 440 мг/м² (с 8-го по 12-й день) [18]. Критериями включения были: 1) констатация резистентного течения/рецидива заболевания, т.е. более 5 % бластных клеток при цитологическом исследовании костного мозга после окончания индукционной терапии (70-й день протоколов «ОЛЛ-2009» и «ОЛЛ-2016»); 2) ранний или поздний рецидив Т-ОЛЛ/ЛБЛ. Ранний рецидив называется в том случае, если он диагностируется в течение 6 месяцев от окончания поддерживающей терапии. Поздним считается тот рецидив, который возникает через 6 месяцев и более от окончания поддерживающей терапии; 3) отсутствие тяжелых инфекционных осложнений и критических состояний.

В первый день каждого курса химиотерапии всем больным выполняли люмбальную пункцию и интратекально вводили метотрексат 15 мг, цитарабин 30 мг и дексаметазон 4 мг. В случае обнаружения в спинномозговой жидкости при первой диагностической люмбальной пункции цитоза более 15/3 (то есть более 5 клеток в 1 мкл), бластных клеток или очага в го-

ловном мозге по данным компьютерной томографии, магнитно-резонансной томографии, диагностировали нейрорлейкемию. При выявлении нейрорлейкемии проводили лечение нейрорлейкемии путем введения в спинномозговой канал трех препаратов (препараты и дозировки как при первой пункции). Лечебные пункции производились с интервалом 2–3 дня до развития глубокой цитопении: концентрации лейкоцитов менее $1 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов менее $20 \times 10^9/\text{л}$. Частота пункций уменьшалась до одной в неделю после получения трех результатов, свидетельствующих о нормализации цитоза. Последующие пункции после первого курса выполнялись с частотой 1 раз в неделю до развития агранулоцитоза.

Всем больным было выполнено стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ), а также флуоресцентная гибридизация *in situ* (fluorescence in situ hybridization — FISH) с использованием ДНК-зонда 11q23 (MLL).

Всем больным, включенным в исследование, была выполнена программа, включающую неларабин 650 мг/м² (с 1 по 5 дни), этопозид 100 мг/м² и циклофосфамид 440 мг/м² (с 8 по 12 дни) [18].

Критерии ответа на проведенную химиотерапию были: полная ремиссия устанавливалась при количестве бластных клеток в костном мозге менее 5 % и отсутствии внекостномозговых очагов; недостижение ремиссии — отсутствии полной ремиссии после химиотерапии; смерть в ремиссии — гибели больного, достигшего клинко-морфологической ремиссии; рецидив — появлении в костном мозге бластных клеток более 5 % и/или выявлении внекостномозговых лейкоэмических очагов (органы средостения, ЦНС).

Статистический анализ. Компьютерную обработку полученных данных выполняли с использованием программы IBM SPSS Statistics 23. Для оценки выживаемости больных применяли метод Каплана—Мейера. Различия выживаемости в группах оценивали с использованием log-rank-теста. Данные считались статистически значимыми при уровне $p \leq 0,05$.

Результаты

В анализ было включено 10 больных: 5 мужчин и 5 женщин. Возраст больных в дебюте заболевания Т-ОЛЛ составил от 19 лет до 41 года; медиана возраста — 23 года. В лабораторных данных у 3 (30 %) из 10 больных был выявлен лейкоцитоз (более $100 \times 10^9/\text{л}$), активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в крови у 9 (90 %) из 10 больных была выше нормы. По данным компьютерной томографии органов грудной клетки, опухолевое образование в средостении верифицировано у 6 (60 %) из 10 больных. При цитологическом исследовании костного мозга у всех 10 больных было верифицировано поражение костного мозга (бластные клетки более 20 %). По результатам иммунофеноти-

пического исследования были выделены следующие варианты Т-ОЛЛ: Т-I вариант — у 1 больного, Т-II вариант — у 5, Т-III вариант — у 1, Т-IV вариант — у 1 и у 2 больных острым лейкозом смешанного иммунофенотипа. По данным СЦИ и FISH-исследования,

у половины больных были различные нарушения кариотипа: у 2 больных была выявлена транслокация с вовлечением локуса гена MML, у 1 больного — комплексные изменения кариотипа, у 1 больного — делеция длинного плеча 6-й хромосомы, у 1 больного — три-

Таблица 2. Характеристика больных с резистентным течением/рецидивом Т-ОЛЛ, которым проводили терапию неларабином, этопозидом, циклофосфамидом

Table 2. Characteristics of the patients with refractory and relapsed T-ALL who underwent therapy with nelarabine, etoposide, cyclophosphamide

Характеристики Characteristics	Больные Patients									
	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9	№10
Возраст, лет Age (years)	19	19	21	22	23	23	24	26	35	41
Пол Sex	м m	м m	м m	ж f	ж f	ж f	м m	ж f	ж f	м m
Иммунофенотип бластных клеток Immunophenotype of blast cells	T-I	T-II	T-III	T-II	T-II	T-II	T/myelo	T-II	T-I	T/myelo
Характеристики больных в дебюте заболевания Characteristics of patients at the onset of the disease										
Лейкоциты >100*10⁹/л WBC >100*10 ⁹ /l	+						+			
Вовлечение ЦНС CNS leukaemia	+	+	+	+		+				
Экстрamedулярные очаги Extramedullary disease	+	+	+	+		+	+			
Протокол терапии в первой линии Protocol of the first-line therapy										
«ОЛЛ-2009» "ALL-2009"	+	+		+	+	+		+	+	+
«ОЛЛ-2016» "ALL-2016"			+				+			
+ ауто-ТГСК +auto-HSCT	+			+		+			+	+
Статус заболевания к моменту начала 2-й линии терапии с неларабином Disease status at the beginning of the second-line therapy with nelarabine:										
Рецидив: Relapse:										
Ранний Early	+	+			+	+				+
Поздний Late				+					+	
Рефрактерное течение Refractory disease			+				+	+		
Характеристики при диагностике рецидива или резистентного течения Т-ОЛЛ Characteristics used in the diagnosis of relapsed/refractory T-cell lymphoblastic leukaemia										
Лейкоциты > 100 x 10⁹/л WBC >100 x 10 ⁹ /l								+	+	
Вовлечение ЦНС CNS leukaemia		+	+	+						
Экстрamedулярные очаги Extramedullary disease	+	+	+				+			
Продолжительность первой ПР (мес.) Duration of the first CR (months)	3	9	1	46	9	17	–	–	36	17

Примечание. Т-ОЛЛ- Т-лимфобластный лейкоз; м — мужчины; ж — женщины; ЦНС — центральная нервная система; ауто-ТГСК — трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток крови; ПР — полная ремиссия.

Note. T-ALL- T-cell lymphoblastic leukemia; m — male; f — female; WBC — white blood cells; CNS — central nervous system; auto-HSCT — autologous haematopoietic stem cell transplantation; CR-complete remission.

сомия 8-й хромосомы, и у 5 больных цитогенетические aberrации выявлены не были. Нейролейкемия диагностирована у 5 (50 %) из 10 больных (табл. 2).

Инициальную терапию у 8 больных осуществляли по протоколу «ОЛЛ-2009» [22] и у 2 больных — по протоколу «ОЛЛ-2016» [23]. В качестве высокодозной консолидации у 5 из 8 больных, получавших терапию по протоколу «ОЛЛ-2009», выполнили трансплантацию аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). Первично-резистентное течение диагностировано у 3 из 10 больных (2 из них получили лечение по протоколу «ОЛЛ-2016» и 1 — по протоколу «ОЛЛ-2009»). У остальных 7 больных диагностирован рецидив Т-ОЛЛ: у 5 — ранний рецидив заболевания; у 2 — поздний рецидив заболевания на сроке 3 и 4 года после достижения ремиссии. При этом костномозговой рецидив диагностирован у 4 из 7 больных; у 1 больного — экстрамедуллярный рецидив (опухолевое образование на малоберцовой кости левой ноги); у 1 больного — нейрорецидив и у одного больного — комбинированный рецидив (костномозговой рецидив и нейрорецидив).

Период времени от момента подтверждения диагноза до начала терапии неларабином составил от 7 до 48 месяцев (медиана — 12,5 мес.). У 2-го больного ПР достигнута не была. У 8-го больного продолжительность первой ПР составила от 1 до 46 месяцев (медиана 9 мес.).

Первый курс по схеме «неларабин, циклофосфамид, этопозид» проведен всем 10 больным. Период миелотоксического агранулоцитоза после 1 курса составил от 5 до 51 дней (медиана 22 дня). Инфекционные осложнения после курса были зарегистрированы у всех больных: пневмония — у 3 (30 %), парапроктит — у 3 (30 %); стоматит — у 4 (40 %), вирусная инфекция — у 3 (30 %), фебрильная нейтропения — у 4 (40 %), гепатолиенальный кандидоз — у 1 (10 %), инвазивный аспергиллез легких — у 2 (20 %); сепсис — у 2 (20 %), некротическая энтеропатия — у 2 (20 %). Только у 2 (20 %) больных была отмечена нейротоксичность в виде периферической полинейропатии, причем у одного из них была достигнута ПР заболевания после этого курса, а у другого — ремиссия заболевания не достигнута. После проведения 1 курса у 5 (50 %) из 10 больных была достигнута ПР заболевания.

Второй курс проведен всем 5 больным в ПР и 2 больным, у которых не достигли ремиссии после 1-го курса. После 2-го курса у больных, у которых была достигнута ПР, период миелотоксического агранулоцитоза составил от 15 до 49 дней (медиана — 22 дня), у двух больных, у которых не было ремиссии, — соответственно, 15 и 22 дня. Инфекционные осложнения у больных с ПР развивались реже. Были зарегистрированы следующие инфекционные осложнения: пневмония — у 1 (14 %), парапроктит — у 1 (14 %); стоматит —

у 3 (43 %), вирусная инфекция — у 4 (57 %), фебрильная нейтропения — у 5 (71 %). Из 2 больных, которым был проведен второй курс вне ремиссии заболевания, только у одного удалось достичь ПР после этого курса. Таким образом, ПР заболевания после второго курса с неларабином сохранялась у всех 5 (100 %) больных, достигших ПР после 1-го курса. Только у 2 из 5 больных, не достигших ПР после 1-го курса, был проведен 2-й курс с неларабином, после которого ПР была достигнута у 1 больного. Общий ответ у всех 10 больных, включенных в исследование, составил 60 %. У 2 больных, у которых были проявления нейротоксичности в виде периферической полинейропатии на первом курсе с неларабином, были зарегистрированы и на 2-м курсе.

Учитывая продолжающийся поиск неродственного донора в российском и зарубежных регистрах для выполнения алло-ТГСК, у 3 из 6 больных, находившихся в ПР, проведен 3-й курс терапии с неларабином. Период миелотоксического агранулоцитоза после 3-го курса составил 14 и 18 дней (медиана — 16 дней) у 2 больных, а у 1 больного агранулоцитоз не развился. У всех больных были зафиксированы инфекционные осложнения: пневмония — 1 (33 %), парапроктит — 1 (33 %); стоматит — 2 (66 %), вирусная инфекция — 1 (33 %), фебрильная нейтропения — 1 (33 %), катетер-ассоциированная инфекция — 1 (33 %) случай из 3. У 1 (33 %) из 3 больных при проведении третьего курса терапии неларабином отмечено развитие судорожного синдрома, на предшествующих курсах терапии у него проявлений нейротоксичности не было.

Только у 3 из 10 больных были неврологические осложнения. У 2 больных отмечалось развитие периферической полинейропатии (онемение кончиков пальцев на верхних и нижних конечностях, слабость и снижение поверхностной чувствительности в нижних конечностях) и на первом, и на втором курсах с неларабином. При появлении указанной симптоматики проводили терапию витаминами группы В. Проявления нейротоксичности постепенно регрессировали через 1–2 недели после отмены препарата, после проведения витаминотерапии. У одного больного токсичность неларабина проявилась только на 3-м курсе терапии в виде эпилептического припадка, сопровождавшегося непроизвольным мочеиспусканием. При электроэнцефалографии у него был выявлен очаг эпилептической активности. В результате проводимой терапии леветирацитамом повторных эпизодов не отмечалось, что позволило провести лечение в полном объеме.

Таким образом, ПР была достигнута у 6 (60 %) из 10 больных. Алло-ТГСК была выполнена всем 6 больным в ПР, из них 3 больным после 2 курсов терапии с неларабином и 3 больным после 3 курсов. Пяти из 6 больных была выполнена алло-ТГСК

Таблица 3. Частота развития инфекционных осложнений после каждого курса терапии «неларабин, циклофосамид, этопозид»
Table 3. Incidence of infectious complications after every course of therapy with nelarabine, etoposide and cyclophosphamide

Осложнения Complications	После 1-го курса (n = 10) After 1 course (n = 10)	После 2-го курса (n = 7) After 2 course (n = 7)		После 3-го курса (n = 3) After 3 course (n = 3)
		5 больных в ПР 5 patients in CR	2 patients with refractory T-ALL	
Пневмония <i>Pneumonia</i>	3 (30 %)	—	1 (50 %)	1 (33 %)
Паропроктит <i>Paraproctitis</i>	3 (30 %)	—	1 (50 %)	1 (33 %)
Стоматит <i>Stomatitis</i>	4 (40 %)	2 (40 %)	1 (50 %)	2 (66 %)
Вирусная инфекция <i>Viral infection</i>	3 (30 %)	4 (80 %)	—	1 (33 %)
Фебрильная нейтропения <i>Febrile neutropenia</i>	4 (40 %)	4 (80 %)	1 (50 %)	1 (33 %)
Гепатолиенальный кандидоз <i>Hepatolienal candidiasis</i>	1 (10 %)	—	—	—
Инвазивный аспергиллез легких <i>Invasive pulmonary aspergillosis</i>	2 (20 %)	—	—	—
Сепсис <i>Sepsis</i>	2 (20 %)	—	—	—
Некротическая энтеропатия <i>Necrotic enteropathy</i>	2 (20 %)	—	—	—
Катетер-ассоциированная инфекция <i>Catheter-associated infection</i>	—	—	—	1 (33 %)

Примечание. ПР — полная ремиссия.

Note. CR —complete remission.

от неродственного полностью совместимого донора и 1 больному была выполнена алло-ТГСК от родственного полностью совместимого донора. У 3 (50 %) из 6 больных диагностирован ранний рецидив заболевания на сроке 7–8 месяцев, все эти больные умерли вследствие резистентного течения заболевания. Один из 6 больных умер в ремиссии от развития тяжелых инфекционных осложнений (табл. 4). Пятилетняя ОВ и БСВ для всей анализируемой группы больных составили 18 % для обоих показателей (рис. 1).

Обсуждение

Лечение больных с резистентным течением/рецидивом Т-ОЛЛ/ЛБЛ является сложной задачей. В литературе описаны протоколы химиотерапевтического воздействия для лечения таких больных, включающие различные сочетания препаратов [6, 8], однако даже выполнение интенсивных высокодозных программ лечения не всегда приводило к достижению ПР заболевания [9, 10]. Кроме этого, высокодозное воздействие вызывало серьезные осложнения, обусловленные как непосредственно химиотерапией, так и развитием тяжелых инфекционных осложнений после химиотерапии.

Достичь более оптимистичных результатов у этих больных можно, только применяя для лечения новые препараты [24], такие как неларабин, ингибиторы гамма-сикретаза [25–28], Т-клеточная терапия, направленная на рецептор химерного антигена (CAR-T) [29]. Первым препаратом, который был зарегистрирован Управлением по контролю над продуктами и лекарствами США в 2005 г. для лечения больных с резистентным течением/рецидивом Т-ОЛЛ/ЛБЛ, был неларабин. Были разработаны протоколы лечения, включающие неларабин как в монотерапии, так и в сочетании с другими химиопрепаратами, при применении которых были достигнуты достаточно высокие показатели достижения ПР (50–70 %) [17–19].

По данным исследований, приведенных в литературе [17–19], как и по данным, полученным в нашем исследовании, не зарегистрировано ранней летальности, т.е. смерти в индукции ремиссии, что свидетельствует о хорошей переносимости представленных схем химиотерапии, содержащих неларабин. Это один из критериев, который позволил оценивать отсроченные результаты терапии у данной группы больных. По данным, представленным в 2000 г., из 50 больных

Таблица 4. Характеристики эффективности терапии неларабином, этопозидом, циклофосфамидом у больных с резистентным течением/ рецидивом Т-ОЛЛ
Table 4. Efficacy of nelarabine, etoposide, cyclophosphamide therapy in patients with refractory/relapsed T-ALL

Эффективность Efficacy	Рефрактерное течение Т-ОЛЛ (n = 3) Refractory T-ALL (n = 3)	Рецидив Т-ОЛЛ (n = 7) Relapsed T-ALL (n = 7)
ПР CR		
После 1 курса CR after 1 course	0	5 (72 %)
После 2 курса CR after 2-nd course	1 (33,3 %)	5 (72 %)
Всего ПР Total number of patients in CR	1 (33,3 %)	5 (72 %)
Недостижение ПР Failure to achieve CR	2 (66,7 %)	2 (28,5 %)
Количество алло-ТГСК выполненных в ПР Number of patients in CR who underwent allo-HSCT	1 (33,3 %)	5 (72 %)
Длительность ПР (месяцы) Duration of CR (months)	7	9-25
Рецидив после алло-ТГСК Relapsed after allo-HSCT	1 (33,3 %)	2 (40 %)
Смерть от инфекционных осложнений в ПР Death by infection in persisting CR	0	1 (20 %)
ОВ, БСВ OS, EFS	18 %	

Примечание. ПР — полная ремиссия; алло-ТГСК — трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток; ОВ — общая выживаемость; БСВ — бессобытийная выживаемость.
Note. CR-complete remission; allo-SCT — allogeneic haematopoietic stem cell transplantation OS — overall survival; EFS — event-free survival.

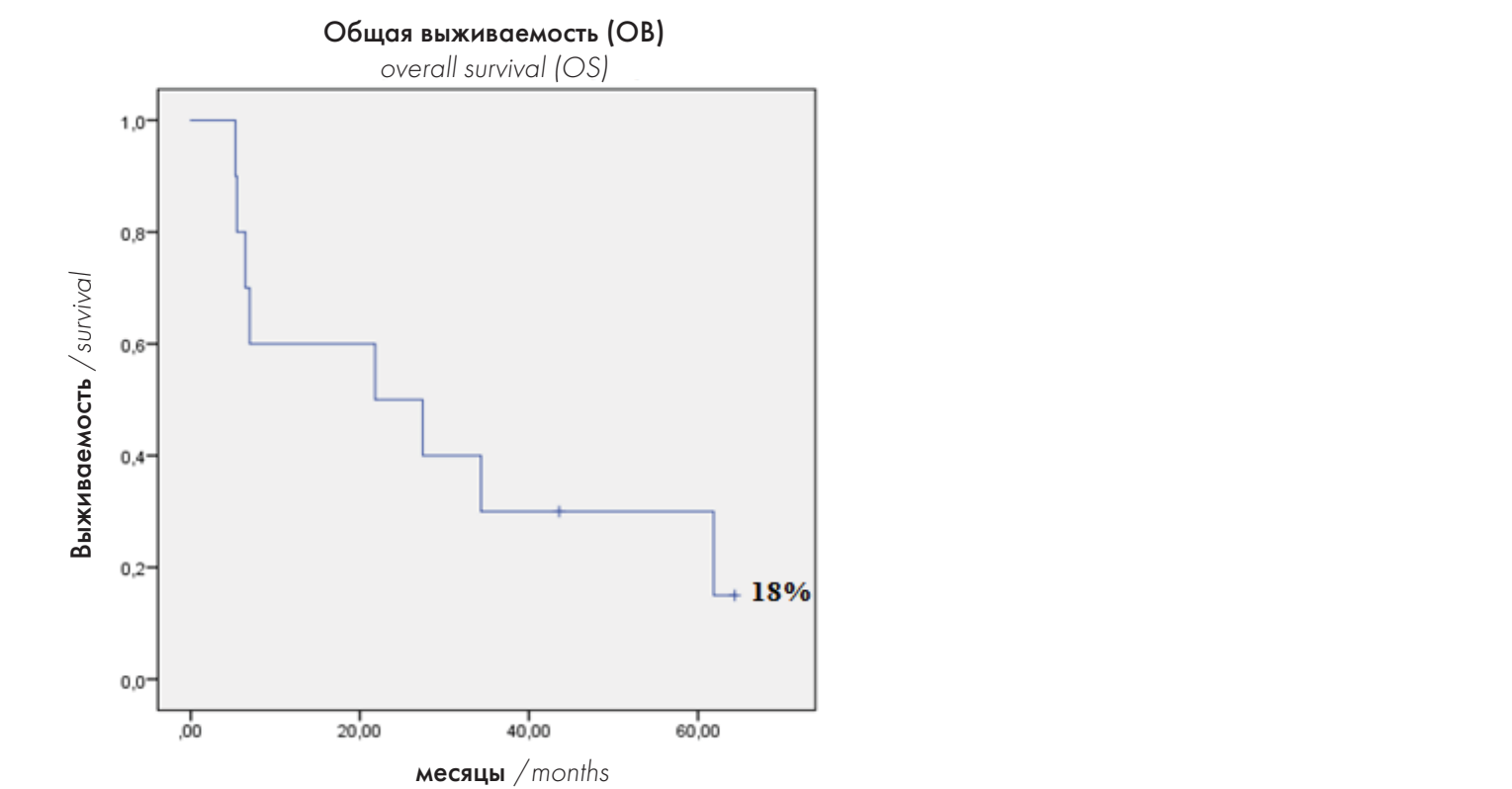


Рисунок 1. Общая пятилетняя выживаемость больных с резистентным течением/рецидивом Т-ОЛЛ, которым проводилась терапия неларабином, этопозидом и циклофосфамидом
Figure 1. Five-year overall survival in patients with refractory/relapsed T-ALL who underwent treatment with nelarabine, etoposide and cyclophosphamide

с резистентным течением/рецидивом ОЛЛ смерть в индукции составила 20 % (10 из 50 больных) на фоне химиотерапии по схеме RACOP (рубомидин, цитарабин, флуклофосамид, винкристин, преднизолон) и HiDexa (винкристин, адриамицин, L-аспарагиназа, дексаметазон) [30]. При этом показатели общей двухлетней выживаемости составили 11–15 %, а медиана продолжительности жизни составила 5–12 месяцев.

В настоящее исследование, в отличие от других, включены больные только с Т-ОЛЛ, и всем проводился унифицированный протокол терапии: в исследовании рабочей группы GALGB [17] дозы вводимого неларабина различались, в исследовании A. Leah и соавт. [18] из 7 включенных больных 2 — с неходжкинской лимфомой, а в исследовании Ю.Ю. Дьяконовой и соавт. [19] всем больным применялся неларабин в сочетании с различными противорецидивными схемами терапии (ALL-REZ-BFM, ALL-REZ-2014/2016, MB-2008/2015).

При развитии нейротоксичности вследствие применения неларабина в результате отмены препарата проявления нейротоксичности были полностью купированы.

Результаты применения неларабина при резистентных формах и рецидивах Т-ОЛЛ, по данным нашего исследования и исследований, представленных ранее, сопоставимы. При этом только в нашем исследовании всем больным, у которых была достигнута полная ремиссия заболевания в результате химиотерапии с неларабином, выполнена алло-ТГСК. Казалось, что это должно улучшить отсроченные результаты терапии. Однако полученные данные не столь оптимистичны. У 3 больных в течение года после алло-ТГСК развился рецидив заболевания. Возможно, неудачи терапии связаны не только с использованием неларабина, но и с возможностью применения различных режимов кондиционирования. Однако изучение режимов кондиционирования у больных с рецидивом/резистентным течением Т-ОЛЛ не являлось целью нашего исследования и не может анализироваться при столь малой выборке (10 больных). У 2 больных, находившихся в полной ремиссии после алло-ТГСК, срок наблюдения составляет 9 и 11 месяцев после алло-ТГСК. Группа больных, включенных в исследование, невелика, что не позволяет в полной мере достоверно оценить эффективность данной схемы терапии, но показывает необходимость проведения многоцентровых рандомизированных исследований в России у взрослых больных с рецидивом/рефрактерным течением Т-ОЛЛ.

Таким образом, в настоящее время не разработаны высокоэффективные схемы терапии при резистентном течении и рецидивах Т-ОЛЛ, однако включение неларабина в схемы химиотерапии при данных

формах Т-ОЛЛ позволяет улучшить ее результаты. По данным выполненного исследования, результаты ОВ и безрецидивной пятилетней выживаемости не превышают 18 %, в том числе и после выполнения алло-ТГСК у всех больных, находящихся в полной ремиссии. В связи с этим возникает ряд нерешенных вопросов: 1) какое количество курсов с неларабином необходимо выполнять до алло-ТГСК; 2) может быть, необходимо интенсифицировать схемы терапии с неларабином (добавление высоких доз метотрексата или цитарабина; 3) применять ли другие препараты, которые не включались в предшествующие схемы (флударабин, идарубицин); 4) использовать ли новые препараты, такие как даратумумаб [31], ингибиторы PI3K, Bcl2, MEK [32] и т.д.; 5) модифицировать ли режимы предтрансплантационного кондиционирования; 6) проводить ли поддерживающую терапию после алло-ТГСК в данной группе больных [33].

Большая часть современных исследований направлена на увеличение эффективности первой линии терапии больных Т-ОЛЛ/ЛБЛ [34]. Представлены результаты лечения неларабином больных с впервые диагностированным Т-ОЛЛ/ЛБЛ в качестве первой линии терапии в сочетании с программой HyperCVAD [34]. В этом исследовании 54 (96 %) из 56 больных Т-ОЛЛ/ЛБЛ достигли ПР. У 10 больных была выполнена алло-ТГСК после достижения ремиссии. У 19 больных развился рецидив (медиана развития рецидива составила 6,5 месяца). По данным этого исследования трехлетняя ОВ составила 65 %.

В настоящее время для Т-ОЛЛ/ЛБЛ перспективным является изучение применения неларабина в первой линии терапии, что может позволить улучшить результаты лечения после первой линии и сократить число больных, нуждающихся в противорецидивной терапии, которая пока является малоэффективной. Появление новых таргетных препаратов (например, венетоклакса) также может позволить улучшить результаты терапии больных Т-ОЛЛ/ЛБЛ как в первой, так и в последующих линиях терапии [34, 35]. Применение неларабина в клинической практике улучшило показатели выживаемости больных с резистентным течением/рецидивом Т-ОЛЛ/ЛБЛ. Однако имеющиеся немногочисленные долгосрочные результаты наблюдений за данной группой больных после выполнения им алло-ТГСК не столь оптимистичны. В настоящее время актуальной проблемой является разработка не только высокоэффективных противорецидивных схем терапии у больных с резистентным течением/рецидивом Т-ОЛЛ/ЛБЛ, но и улучшение результатов терапии в первой линии терапии Т-ОЛЛ/ЛБЛ и, возможно, применение новых подходов к лечению больных после алло-ТГСК.

Литература

1. Hunger S.P., Mullighan C. G. Acute lymphoblastic leukemia in children. *N. Engl. J. Med.* 2015; 373: 1541–52. DOI: 10.1056/NEJMra1400972
2. Litzow M. R., Ferrando A. A. How I treat T-cell acute lymphoblastic leukemia in adults. *Blood.* 2015; 126:833–41. DOI: 10.1182/blood-2014-10-551895
3. Cassaday R.D., Stevenson P.A., Wood B.L. et al. Description and prognostic significance of the kinetics of minimal residual disease status in adults with acute lymphoblastic leukemia treated with HyperCVAD. *Am. J. Hematol.* 2018; 93(4): 546–52. DOI: 10.1002/ajh.25030
4. Mortuza F.Y., Papaioannou M., Moreira I.M. et al. Minimal residual disease tests provide an independent predictor of clinical outcome in adult acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20(4):1094–104. DOI: 10.1200/JCO.2002.20.4.1094
5. Jain N., Lamb A.V., O'Brien S. et al. Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia/lymphoma (ETP-ALL/LBL) in adolescents and adults: a high-risk subtype. *Blood.* 2016; 127(15): 1863–9. DOI: 10.1182/blood-2015-08-661702
6. Marks D.I., Paietta E.M., Moorman A.V. et al. T-cell acute lymphoblastic leukemia in adults: clinical features, immunophenotype, cytogenetics, and outcome from the large randomized prospective trial (UKALL XII/ECOG 2993). *Blood.* 2009; 114(25): 5136–45. DOI: 10.1182/blood-2009-08-231217
7. Marks D.I., Rowntree C. Management of adults with T-cell lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2017; 129(9):1134–42. DOI: 10.1182/blood-2016-07-692608
8. Schrappe M., Valsecchi M.G., Bartram C.R. et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study. *Blood.* 2011; 118: 2077–84. DOI:10.1182/blood-2011-03-338707
9. Tallen G., Ratei R., Mann G. et al. Long-term outcome in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia after time-point and site-of-relapse stratification and intensified short-course multidrug chemotherapy: results of trial ALL-REZ BFM 90. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(14): 2339–47. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.1983
10. Bailey L.C., Lange B.J., Rheingold S.R., Bunin N.J. Bone-marrow relapse in paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol.* 2008; 9(9): 873–83. DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70229-8
11. Fielding A.K., Richards S.M., Chopra R. et al. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood.* 2007; 109(3): 944–50. DOI: 10.1182/blood-2006-05-018192
12. <https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/HowDrugsareDevelopedandApproved/DrugandBiologicApprovalReports/ucm121597.htm>
13. Berg S.L., Blaney S.M., Devidas M. et al. Phase II study of nelarabine (compound 2506U78) in children and young adults with refractory T-cell malignancies: a report from the Children's Oncology Group. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 3376–3382. DOI:10.1200/JCO.2005.03.426
14. Lambe C.U., Averett D.R., Paff M.T. et al. 2-Amino-6- methoxypurine arabinoside: an agent for T-cell malignancies. *Cancer Research.* 1995; 55: 3352–56.
15. Rodriguez C.O. Jr., Mitchell B.S., Ayres M. et al. Arabinosylguanine is phosphorylated by both cytoplasmic deoxycytidine kinase and mitochondrial deoxyguanosine kinase. *Cancer Res.* 2002; 62: 3100–15.
16. Rodriguez C.O. Jr., Stellrecht C.M., Gandhi V. Mechanisms for T-cell selective cytotoxicity of arabinosylguanine. *Blood.* 2003; 102: 1842–8. DOI: 10.1182/blood-2003-01-0317
17. DeAngelo D.J., Yu D., Johnson J.L. et al. Nelarabine induces complete remissions in adults with relapsed or refractory T-lineage acute lymphoblastic leukemia or lymphoblastic lymphoma: Cancer and Leukemia Group B study 19801. *Blood.* 2007; 109: 5136–42. DOI: 10.1182/blood-2006-11-056754

References

1. Hunger S.P., Mullighan C. G. Acute lymphoblastic leukemia in children. *N. Engl. J. Med.* 2015; 373: 1541–52. DOI: 10.1056/NEJMra1400972
2. Litzow M. R., Ferrando A. A. How I treat T-cell acute lymphoblastic leukemia in adults. *Blood.* 2015; 126: 833–41. DOI: 10.1182/blood-2014-10-551895
3. Cassaday R.D., Stevenson P.A., Wood B.L. et al. Description and prognostic significance of the kinetics of minimal residual disease status in adults with acute lymphoblastic leukemia treated with HyperCVAD. *Am. J. Hematol.* 2018; 93(4): 546–52. DOI: 10.1002/ajh.25030
4. Mortuza F.Y., Papaioannou M., Moreira I.M. et al. Minimal residual disease tests provide an independent predictor of clinical outcome in adult acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20(4): 1094–104. DOI: 10.1200/JCO.2002.20.4.1094
5. Jain N., Lamb A.V., O'Brien S. et al. Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia/lymphoma (ETP-ALL/LBL) in adolescents and adults: a high-risk subtype. *Blood.* 2016; 127(15): 1863–9. DOI: 10.1182/blood-2015-08-661702
6. Marks D.I., Paietta E.M., Moorman A.V. et al. T-cell acute lymphoblastic leukemia in adults: clinical features, immunophenotype, cytogenetics, and outcome from the large randomized prospective trial (UKALL XII/ECOG 2993). *Blood.* 2009; 114(25): 5136–45. DOI: 10.1182/blood-2009-08-231217
7. Marks D.I., Rowntree C. Management of adults with T-cell lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2017; 129 (9): 1134–42. DOI: 10.1182/blood-2016-07-692608
8. Schrappe M., Valsecchi M.G., Bartram C.R. et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study. *Blood.* 2011; 118: 2077–84. DOI: 10.1182/blood-2011-03-338707
9. Tallen G., Ratei R., Mann G. et al. Long-term outcome in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia after time-point and site-of-relapse stratification and intensified short-course multidrug chemotherapy: results of trial ALL-REZ BFM 90. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(14): 2339–47. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.1983
10. Bailey L.C., Lange B.J., Rheingold S.R., Bunin N.J. Bone-marrow relapse in paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol.* 2008; 9(9): 873–83. DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70229-8
11. Fielding A.K., Richards S.M., Chopra R. et al. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood.* 2007; 109(3): 944–50. DOI: 10.1182/blood-2006-05-018192
12. <https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/HowDrugsareDevelopedandApproved/DrugandBiologicApprovalReports/ucm121597.htm>
13. Berg S.L., Blaney S.M., Devidas M. et al. Phase II study of nelarabine (compound 2506U78) in children and young adults with refractory T-cell malignancies: a report from the Children's Oncology Group. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 3376–82. DOI: 10.1200/JCO.2005.03.426
14. Lambe C.U., Averett D.R., Paff M.T. et al. 2-Amino-6- methoxypurine arabinoside: an agent for T-cell malignancies. *Cancer Research.* 1995; 55: 3352–6.
15. Rodriguez C.O. Jr., Mitchell B.S., Ayres M. et al. Arabinosylguanine is phosphorylated by both cytoplasmic deoxycytidine kinase and mitochondrial deoxyguanosine kinase. *Cancer Res.* 2002; 62: 3100–15.
16. Rodriguez C.O. Jr., Stellrecht C.M., Gandhi V. Mechanisms for T-cell selective cytotoxicity of arabinosylguanine. *Blood.* 2003; 102: 1842–8. DOI: 10.1182/blood-2003-01-0317
17. DeAngelo D.J., Yu D., Johnson J.L. et al. Nelarabine induces complete remissions in adults with relapsed or refractory T-lineage acute lymphoblastic leukemia or lymphoblastic lymphoma: Cancer and Leukemia Group B study 19801. *Blood.* 2007; 109: 5136–42. DOI: 10.1182/blood-2006-11-056754

18. Commander L. A., Seif A.E., Insogna I. G., Rheingold S.R. Salvage therapy with nelarabine, etoposide, and cyclophosphamide in relapsed/refractory paediatric T-cell lymphoblastic leukaemia and lymphoma. *Br J Haematol.* 2010; 150: 345–51. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08236.x.
19. Дьяконова Ю.Ю., Быданов О.И., Попов А.М. и др. Роль неларабина в лечении Т-клеточной острой лимфобластной лейкемии: обзор литературы и результаты собственных исследований. *Терапевтический архив.* 2018; 7: 38–50.
20. Kurtzberg J., Ernst T.J., Keating M.J. et al. Phase I study of 506U78 administered on a consecutive 5- day schedule in children and adults with refractory hematologic malignancies. *J Clin Oncol.* 2005; 23: 3396–403.
21. Gandhi V., Plunkett W., Weller S. et al. Evaluation of the combination of nelarabine and fludarabine in leukemias: clinical response, pharmacokinetics, and pharmacodynamics in leukemia cells. *J. Clinical Oncol.* 2001; 19: 2142–52.
22. Программное лечение заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика; 2012: 287–342 с.
23. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика; 2018; 1: 887–959 с.
24. Marks D. I., Rowntree C. Management of adults with T-cell lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2017; 129 (9):1134–42. DOI: 10.1182/blood-2017-03-772350
25. Palomero T., Barnes K.C., Real P.J. et al. CUTLL1, a novel human T-cell lymphoma cell line with t (7;9) rearrangement, aberrant NOTCH1 activation and high sensitivity to gammasecretase inhibitors. *Leukemia.* 2006; 20(7): 1279–87.
26. Armstrong F., Brunet de la G. P., Gerby B. et al. NOTCH is a key regulator of human T-cell acute leukemia initiating cell activity. *Blood.* 2009; 113(8): 1730–40. DOI: 10.1182/blood-2008-02-138172
27. Zweidler-McKay P., DeAngelo D.J., Douer D. et al. The safety and activity of BMS-906024, a gamma secretase inhibitor (GSI) with anti-notch activity, in patients with relapsed T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL): initial results of a phase I trial. *Blood.* 2014; 124(21): 968.
28. Papayannidis C., DeAngelo D.J., Stock W. et al. A Phase 1 study of the novel gamma-secretase inhibitor PF-03084014 in patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-cell lymphoblastic lymphoma. *Blood Cancer J.* 2015; 5: 350. DOI: 10.1038/bcj.2015.80
29. Mamonkin M., Rouce R.H., Tashiro H., Brenner M.K. A T-cell-directed chimeric antigen receptor for the selective treatment of T-cell malignancies. *Blood.* 2015; 126(8): 983–92. DOI: 10.1182/blood-2015-02-629527
30. Соколов А.Н. Лечение рецидивов и резистентных форм острых лейкозов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2000.
31. Ofra Y., Ganzel C., Harlev S. et al. Daratumumab in Combination with Vincristine or Nelarabine As Effective Salvage Therapy for Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia at High Risk of Relapse. *Blood.* 2018; 132: 5206. DOI: 10.1182/blood-2018-99-111258
32. Lonetti A., Cappellini A., Bertaina A. et al. Improving nelarabine efficacy in T cell acute lymphoblastic leukemia by targeting aberrant PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *J. Hematol. Oncol.* 2016; 9: 114. DOI: 10.1186/s13045-016-0344-4
33. Rahmat L.T., Nguyen A., Abdulhaq H. et al. Venetoclax in Combination with Decitabine for Relapsed T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplant. *Case Rep. Hematol.* 2018; article ID 6092646. DOI: 10.1155/2018/6092646
34. Abaza Y., Kantarjian H.M., Jabbour E.J. et al. Phase II Study of Hyper-CVAD Plus Nelarabine in Previously Untreated Adult T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia and T-Lymphoblastic Lymphoma. *Blood.* 2016; 128(22): 177.
35. Peirs S., Frisimantas V., Matthijssens F. et al. Targeting BET proteins improves the therapeutic efficacy of BCL-2 inhibition in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2017; 31(10): 2037–204. DOI: 10.1038/leu.2017.10
18. Commander L. A., Seif A.E., Insogna I. G., Rheingold S.R. Salvage therapy with nelarabine, etoposide, and cyclophosphamide in relapsed/refractory paediatric T-cell lymphoblastic leukaemia and lymphoma. *Br. J. Haematol.* 2010; 150: 345–51. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08236.x
19. Dyakonova Y.Y., Bydanov O.I., Popov A.M. et al. The role of nelarabine in the treatment of T-cell acute lymphoblastic leukemia: literature review and own experience. *Terapevticheskij arhiv.* 2018; 7: 38–50 (In Russian).
20. Kurtzberg J., Ernst T.J., Keating M.J. et al. Phase I study of 506U78 administered on a consecutive 5-day schedule in children and adults with refractory hematologic malignancies. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 3396–3403.
21. Gandhi V., Plunkett W., Weller S. et al. Evaluation of the combination of nelarabine and fludarabine in leukemias: clinical response, pharmacokinetics, and pharmacodynamics in leukemia cells. *J. Clinical Oncol.* 2001; 19: 2142–52.
22. Programs treatment of the blood system diseases. Savchenko V.G. M.: Praktika, 2012. 287–342 (In Russian).
23. Algorithms for diagnosis and protocols for the treatment of the blood system diseases. Savchenko V.G. M.: Praktika, 2018; 1: 887–959 (In Russian).
24. Marks D. I., Rowntree C. Management of adults with T-cell lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2017; 129(9): 1134–42. DOI: 10.1182/blood-2017-03-772350
25. Palomero T., Barnes K.C., Real P.J. et al. CUTLL1, a novel human T-cell lymphoma cell line with t (7;9) rearrangement, aberrant NOTCH1 activation and high sensitivity to gammasecretase inhibitors. *Leukemia.* 2006; 20(7): 1279–87.
26. Armstrong F., Brunet de la G. P., Gerby B. et al. NOTCH is a key regulator of human T-cell acute leukemia initiating cell activity. *Blood.* 2009; 113(8): 1730–40. DOI: 10.1182/blood-2008-02-138172
27. Zweidler-McKay P., DeAngelo D.J., Douer D. et al. The safety and activity of BMS-906024, a gamma secretase inhibitor (GSI) with anti-notch activity, in patients with relapsed T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL): initial results of a phase I trial. *Blood.* 2014; 124(21): 968.
28. Papayannidis C., DeAngelo D.J., Stock W. et al. A Phase 1 study of the novel gamma-secretase inhibitor PF-03084014 in patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-cell lymphoblastic lymphoma. *Blood Cancer J.* 2015; 5: 350. DOI: 10.1038/bcj.2015.80
29. Mamonkin M., Rouce R.H., Tashiro H., Brenner M.K. A T-cell-directed chimeric antigen receptor for the selective treatment of T-cell malignancies. *Blood.* 2015; 126(8): 983–92. DOI: 10.1182/blood-2015-02-629527
30. Sokolov A.N. Treatment of acute leukemia refractory and relapses forms. *Avtoreferat dissertatsii na soiskaniye uchenoy stepeni kandidata meditsinskikh nauk / Gematologicheskij nauchnyy tsentr. Moskva, 2000. (In Russian).*
31. Ofra Y., Ganzel C., Harlev S. et al. Daratumumab in Combination with Vincristine or Nelarabine As Effective Salvage Therapy for Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia at High Risk of Relapse. *Blood.* 2018; 132: 5206. DOI: 10.1182/blood-2018-99-111258.
32. Lonetti A., Cappellini A., Bertaina A. et al. Improving nelarabine efficacy in T cell acute lymphoblastic leukemia by targeting aberrant PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *J. Hematol. Oncol.* 2016; 9: 114. DOI: 10.1186/s13045-016-0344-4
33. Rahmat L.T., Nguyen A., Abdulhaq H. et al. Venetoclax in Combination with Decitabine for Relapsed T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplant. *Case Rep Hematol.* 2018; 2018: article ID 6092646. DOI: 10.1155/2018/6092646
34. Abaza Y., Kantarjian H.M., Jabbour E.J. et al. Phase II Study of Hyper-CVAD Plus Nelarabine in Previously Untreated Adult T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia and T-Lymphoblastic Lymphoma. *Blood.* 2016; 128(22): 177.
35. Peirs S., Frisimantas V., Matthijssens F. et al. Targeting BET proteins improves the therapeutic efficacy of BCL-2 inhibition in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2017; 31(10): 2037–204. DOI: 10.1038/leu.2017.10

36. Peirs S., Matthijssens F., Goossens S. et al. ABT-199 mediated inhibition of BCL-2 as a novel therapeutic strategy in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014; 124(25): 3738–47. DOI: 10.1182/blood-2014-05-574566

Информация об авторах

Гаврилина Ольга Александровна*, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dr.gavrilina@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9669-8482>

Котова Екатерина Сергеевна, клинический ординатор отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: kotova.e@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7968-1923>

Паровичникова Елена Николаевна, доктор медицинских наук, руководитель отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: parovichnikova@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Троицкая Вера Витальевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: verat@blood.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>

Соколов Андрей Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: sokolov.a@blood.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1494-7978>

Басхаева Галина Александровна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: rara4v1s@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2763-5391>

36. Peirs S., Matthijssens F., Goossens S. et al. ABT-199 mediated inhibition of BCL-2 as a novel therapeutic strategy in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014; 124(25): 3738–47. DOI: 10.1182/blood-2014-05-574566

Information about the authors

Olga A. Gavrilina*, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: dr.gavrilina@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9669-8482>

Ekaterina S. Kotova, Clinical Resident, Department for Intensive High-Dose Chemotherapy of Hemoblastoses and Hematopoiesis Depressions with 24-hour and day in-patient facilities, National Research Centre for Hematology, e-mail: kotova.e@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7968-1923>

Elena N. Parovichnikova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology, e-mail: parovichnikova@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Vera V. Troitskaya, Cand. Sci. (Med.), Head of the Intensive High-Dose Chemotherapy Department for patients with Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions, National Research Center for Hematology, e-mail: verat@blood.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>

Andrey N. Sokolov, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department for Intensive High-Dose Chemotherapy of Hemoblastoses and Hematopoiesis Depressions with 24-hour and day in-patient facilities, National Research Center for Hematology, e-mail: sokolov.a@blood.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1494-7978>

Galina A. Baskhaeva, Hematologist, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of Hemoblastoses and Hemopoiesis Depression with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: rara4v1s@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2763-5391>

Зарубина Ксения Игоревна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: ksenijazarubina@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2947-6398>

Фидарова Залина Таймуразовна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с дневным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: zalinafidarova@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0934-6094>

Кузьмина Лариса Анатольевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: Kuzmina.L@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

Двирник Валентина Николаевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением централизованной клинко-диагностической лаборатории ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: vdvirnyk@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9877-0796>

Обухова Татьяна Никифоровна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией кариологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: obukhova_t@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

Савченко Валерий Григорьевич, доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: director@blood.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 20.06.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Kseniya I. Zarubina, Hematologist, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of Hemoblastoses and Hemopoiesis Depression with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology,
e-mail: ksenijazarubina@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2947-6398>

Zalina T. Fidarova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Chemotherapy for Hemoblastoses and Hematopoiesis Depressions with a Day In-patient Facility, National Research Center for Hematology,
e-mail: zalinafidarova@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0934-6094>

Larisa A. Kuzmina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology,
e-mail: Kuzmina.L@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

Valentina N. Dvirnyk, Cand. Sci. (Med.), Head of the Centralized Clinical Diagnostic Laboratory, National Research Center for Hematology,
e-mail: vdvirnyk@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9877-0796>

Tatyana N. Obukhova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Karyology Laboratory, National Research Centre for Hematology,
e-mail: obukhova_t@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

Valery G. Savchenko, Dr. Sci. (Med.), RAS Academician, Prof., Head of the National Research Center for Hematology,
e-mail: director@blood.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

*** Corresponding author**

Received 20 Jun 2019

Accepted 12 Sep 2019

ОБЕСПЕЧЕНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОГО ВЕНОЗНОГО ДОСТУПА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Спирин М. В., Галстян Г. М.^{*}, Дроков М. Ю., Кузьмина Л. А., Клясова Г. А., Паровичникова Е. Н., Савченко В. Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Проведение трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) невозможно без центрального венозного катетера (ЦВК).

Цель — определить тактику обеспечения венозного доступа при проведении алло-ТГСК.

Материалы и методы. В проспективное нерандомизированное одноцентровое исследование включены 146 больных (70 мужчин и 76 женщин, медиана возраста 37 лет), которым выполнена первая алло-ТГСК. Перед кондиционированием устанавливали один из видов ЦВК: силиконовые двухпросветные туннелируемые катетеры Хикмана или Леонарда (Bard Access System) или полиуретановые нетуннелируемые ЦВК (Certofix Duo или катетеры с антибактериальным покрытием Certofix “Protect” Duo, B. Braun). Регистрировали ранние осложнения, механические осложнения, катетер-ассоциированные тромбозы (КАТ), катетер-ассоциированную инфекцию (КАИК), туннельную инфекцию и инфекцию выходного отверстия.

Результаты. Всего установили 320 ЦВК (146 перед алло-ТГСК и 174 — в посттрансплантационном периоде), из них 259 нетуннелируемых и 61 туннелируемый ЦВК. Нетуннелируемые ЦВК эксплуатировали от 1 до 123 дней (медиана 22 дня), туннелируемые ЦВК — 9–621 день (медиана 146 дней). При использовании нетуннелируемых ЦВК выявлено 2,7 % (1,0/1000 катетеро-дней) механических осложнений и 9 % КАТ (1,4/1000 катетеро-дней). При использовании туннелируемых ЦВК были следующие осложнения: случайное удаление — 1 (1,6 %), разрыв катетера — 4 (6,5 %), КАТ выявили у 5 (8,2 %) больных (0,3/1000 катетеро-дней); обструкция катетера — у 18 (29,5 %) больных, из них у 14 (77,7 %) функция ЦВК восстановлена, у 4 (22,3 %) — катетер удален. Инцидентность КАИК нетуннелируемых ЦВК — 4,4/1000 катетеро-дней, туннелируемых ЦВК — 1,5/1000 катетеро-дней. Не выявлено значимых различий вероятности развития КАИК между нетуннелируемыми ЦВК с антибактериальным покрытием и без покрытия ($p = 0,298$), а также между нетуннелируемыми и туннелируемыми ЦВК в первые 28 дней от момента установки ($p = 0,424$). Риск развития КАИК при использовании туннелируемых ЦВК увеличивался после 150-го дня эксплуатации.

Заключение. Проведение алло-ТГСК возможно с использованием любого типа ЦВК. Не выявлено преимуществ использования нетуннелируемых ЦВК с антибактериальным покрытием по сравнению с нетуннелируемыми ЦВК без антибактериального покрытия. Применение туннелируемых ЦВК позволяет, в отличие от нетуннелируемых ЦВК, использовать один катетер на протяжении всего трансплантационного и посттрансплантационного периодов, при этом длительность использования туннелируемого ЦВК не должна превышать 150 дней, потому что при более длительном использовании резко увеличивается риск его инфицирования.

Ключевые слова: центральный венозный катетер, туннелируемый катетер, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, катетер-ассоциированная инфекция кровотока

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Спирин М.В., Галстян Г.М., Дроков М.Ю., Кузьмина Л.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Обеспечение центрального венозного доступа при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 396–411. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-396-411>

PROVISION OF CENTRAL VENOUS ACCESS DURING ALLOGENEIC HAEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Spirin M. V., Galstyan G. M.*, Drokov M. Yu., Kuzmina L. A., Klyasova G. A., Parovichnikova E. N., Savchenko V. G.

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

ABSTRACT

Introduction. The transplantation of allogeneic haematopoietic stem cells (allo-HSCT) is impossible without a central venous catheter (CVC).

Aim. To determine an optimal approach to providing venous access during allo-HSCT.

Materials and methods. This prospective, non-randomised, single-centre study included 146 patients (70 men and 76 women, median age 37 years) who underwent the first allo-HSCT. Prior to conditioning, one of the following CVCs was placed: Hickman or Leonard tunnelled double-lumen silicone catheters (BardAccessSystem); polyurethane non-tunnelled CVCs without (Certofix Duo, B. Braun) or with an antibacterial coating (Certofix Protect Duo, B. Braun). The following complications were recorded: early complications, mechanical complications, catheter-associated thrombosis (CAT), catheter-related bloodstream infections (CRBSI), as well as catheter exit-site and tunnel infections.

Results. A total of 320 CVCs were placed (146 prior to allo-HSCT and 174 in the post-transplant period); 259 of the CVCs were non-tunnelled and 61 were tunnelled. Non-tunnelled CVCs were used for 1–123 days (median 22 days), whereas tunnelled CVCs were implanted for 9–621 days (median 146 days). The use of non-tunnelled CVCs was associated with 2.7 % (1.0/1000 catheter days) of mechanical complications and 9 % of CAT (1.4 / 1000 catheter days). The use of tunnelled CVCs was associated with the following complications: accidental removal — 1 (1.6 %), catheter rupture — 4 (6.5 %), CAT — 5 (8.2 %) patients (0.3 / 1000 catheter days); 18 (29.5 %) patients exhibited catheter obstruction, with CVC function being restored in 14 (77.7 %) patients, whereas in 4 (22.3 %) patients the CVC was removed. The incidence of CRBSI associated with non-tunnelled and tunnelled CVCs was 4.4 and 1.5 per 1000 catheter days, respectively. The study revealed no significant differences in the probability of developing CRBSI between non-tunnelled CVCs with and without antibacterial coating ($p = 0.298$), as well as between non-tunnelled and tunnelled CVCs in the first 28 days after the catheter placement ($p = 0.424$). The risk of developing CRBSI when using tunnelled CVCs increased after 150 days of use.

Conclusion. Allo-HSCT can be performed using any CVC type. Our study revealed no advantages in employing non-tunnelled CVCs with an antibacterial coating compared to those having no coating. Tunnelled CVCs (as opposed to non-tunnelled ones) provide the opportunity to employ a single catheter throughout the entire transplantation and post-transplant period. It should be noted that tunnelled CVCs should not be used for more than 150 days, since prolonged use of such CVCs significantly increases the risk of infection.

Keywords: central venous catheter, tunnelled catheter, haematopoietic stem cell transplantation, catheter-associated bloodstream infection

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Spirin M.V., Galstyan G.M., Drokov M.Yu., Kuzmina L.A., Klyasova G.A., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. Provision of central venous access during allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(4):396–411 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-396-411>

Введение

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является важным этапом лечения опухолевых заболеваний системы крови [1]. Однако проведение алло-ТГСК без сосудистого доступа невозможно как при кондиционировании, когда требуются инфузии больших объемов (до 3–6 л/сут.) растворов перед ТГСК, так и в посттрансплантационном периоде, когда могут возникнуть различные осложнения (геморрагические и инфекционные, острая и хроническая реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), гемолиз и др.), для лечения которых проводятся трансфузии компонентов крови, парентеральное питание, антибиотикотерапия, иммуносупрессивная и/или цитостатическая терапия. [2]. В общей сложности, в надежном сосудистом доступе эта категория больных нуждается от нескольких месяцев до года, причем как в стационарных, так и амбулаторных условиях [2]. Использование с этой целью периферического венозного доступа не приемлемо, поскольку большинство вводимых растворов являются препаратами раздражающего действия, а их случайное попадание в подкожную клетчатку может привести к ее некрозу [3]. Помимо этого, у многих больных вследствие проводимой ранее химиотерапии нередко отсутствуют доступные периферические вены. Поэтому, как при проведении ТГСК, так и в посттрансплантационном периоде, больные нуждаются в долговременном центральном венозном доступе. Он может быть осуществлен через подключичную, аксиллярную, яремную вены, а при невозможности катетеризировать вены бассейна верхней полой вены — через бедренную вену [4]. Каждый из этих доступов имеет свои преимущества и недостатки [5].

В зарубежной литературе широко обсуждается проблема венозного доступа при ТГСК [6, 7]. В России, учитывая большие расстояния, на которых могут находиться больные после выписки из стационара, недостаточную оснащенность медицинских учреждений и отсутствие опыта работы медицинского персонала с долговременным сосудистым доступом, проблемы с домашним и амбулаторным лечением, подходы к решению проблемы обеспечения сосудистого доступа при ТГСК могут отличаться. На каком этапе ТГСК какой центральный венозный катетер (ЦВК) следует использовать (туннелируемый, нетуннелируемый, периферически имплантируемый ЦВК или порт-систему), каков режим и длительность использования ЦВК на различных этапах ТГСК, каковы механические, тромботические и инфекционные осложнения катетеризации — на все эти вопросы в отечественной литературе нет ответов.

Цель исследования — определение тактики обеспечения венозного доступа при проведении алло-ТГСК.

Материалы и методы

В проспективное нерандомизированное одноцентровое исследование были включены 146 больных (70 мужчин и 76 женщин) в возрасте от 17 до 66 лет (медиана (Me) — 37 лет), которым выполнили алло-ТГСК с сентября 2016 г. по октябрь 2018 г.

Критериями включения в исследование были:

- возраст старше 18 лет;
- необходимость проведения алло-ТГСК;
- подписанное информированное согласие на установку ЦВК;
- больные, которым провели первую алло-ТГСК.

Всего выполнено 146 ТГСК больным острыми лейкозами (106), неходжкинскими лимфомами (9), миелодиспластическим синдромом (15), апластической анемией (6), множественной миеломой (3) и хроническими миелопролиферативными заболеваниями (7). От неродственных доноров выполнено 73 (50 %) алло-ТГСК, от родственных — 73 алло-ТГСК, из которых 23 ТГСК от гаплоидентичных доноров (16 %).

Для обеспечения сосудистого доступа всем больным до начала кондиционирования перед алло-ТГСК устанавливали один из видов ЦВК:

- силиконовые двухпросветные туннелируемые ЦВК (ЦВК_т): катетеры Хикмана и Леонарда (Bard Access System) с наружным диаметром 12 и 10 Fr соответственно;

- полиуретановые нетуннелируемые ЦВК (ЦВК_{нт}) (Certofix Duo, B.Braun) без антибактериального покрытия, внешний диаметр 7 Fr;

- полиуретановые нетуннелируемые ЦВК (ЦВК_{нт}) с антибактериальным покрытием (полигексанида метакрилат) (Certofix Protect Duo, B.Braun), внешний диаметр 7 Fr.

Выбор того или иного ЦВК определялся предпочтениями лечащего врача и больного.

Для установки нетуннелируемых ЦВК использовали стандартную технику катетеризации по Сельдингеру [8], для установки катетеров Хикмана — модифицированную технику по Сельдингеру с разламывающимся интродьюсером [9]. Установку всех ЦВК выполняли с ультразвуковым контролем пункции сосуда (аппарат “Toshiba Viamo” SSA-640A, Toshiba Medical Systems Corporation, Япония), используя линейный датчик с частотой 10 МГц [10]. Правильность установки дистального конца ЦВК_{нт} определяли с помощью внутрисердечного электрода и ЭКГ-мониторинга, для чего до катетеризации подключали больного к монитору ЭКГ, а после пункции вены и проведения катетера соединяли металлический проводник с ЭКГ-адаптером (Certodyn, B. Braun), подключенному к красному электроду ЭКГ. Попадание кончика катетера в полость правого предсердия верифицировали по появлению заостренной формы зубца Р на ЭКГ и увеличению его амплитуды [11, 12, 13]. Для позиционирования

дистального конца туннелируемых ЦВК использовали рентгеновскую С-дугу, дистальный конец катетера устанавливали у каваатриального соединения, подтверждая правильность установки одним из методов:

- на рентгенограмме грудной клетки дистальный конец ЦВК должен был находиться между V и VI грудными позвонками [14];

- в качестве анатомического маркера катетера использовали карину трахеи: каваатриальное соединение находится на 3 см ниже карины [15];

- ориентиром для позиционирования дистального конца ЦВК являлся также правый трахеобронхиальный угол [16], который соответствует верхней границе верхней полой вены. Каваатриальное соединение находится на 3 см ниже этого угла;

- рентгенологическим ориентиром впадения ВПВ в правое предсердие также считали пересечение дуги правой границы сердца и линии, идущей вдоль правой границы средостения [17].

Регистрировали механические осложнения, ранние и поздние осложнения катетеризации, длительность нахождения ЦВК в вене, количество ЦВК, установленных у каждого больного в течение года. Период наблюдения в течение одного года был выбран потому, что в течение этого времени обычно возникают осложнения, обусловленные алло-ТГСК (РТПХ, инфекционные осложнения), требующие лечения с использованием сосудистого доступа [2].

Нетуннелируемые ЦВК удаляли в случае возникновения поздних или механических осложнений и при выписке больного из стационара.

Туннелируемые ЦВК при выявлении катетерассоциированной инфекции кровотока (КАИК) подвергали санации [18], что позволяло сохранить сосудистый доступ и использовать катетер при амбулаторном лечении и во время повторных госпитализаций. При выписке больных из стационара на катетеры Хикмана устанавливали

клапаны Safsite (B. Braun), которые открываются во время аспирации, когда в катетере создается отрицательное давление, и при инфузии когда возникает положительное давление в катетере. Для санации использовали антимикробные «замки» с препаратами или без препаратов на основе тауролидина (TauroLock®, TauroPharm GmbH) [19] в дополнение к проводимой системной антибактериальной терапии. Список используемых препаратов, их концентраций и экспозиции в просвете катетера представлен в таблице 1.

При выявлении полной или частичной (один ход) обструкции катетера для восстановления его проходимости использовали препараты с урокиназой в дозировке 5000 МЕ/мл (TauroLockU25000, TauroPharm GmbH) с экспозицией от 30 до 120 минут [20]. При отсутствии эффекта процедуру повторяли, но не более 2 раз.

Объем препаратов для заполнения как при санации, так и при обструкции катетера, был различным, зависел от длины катетера, но не превышал 1,6 мл. Удаляли катетеры Хикмана при неэффективности санации, выявлении катетер-ассоциированного тромбоза (КАТ) или механических осложнений, а также в связи с завершением лечения больного.

Основные понятия

Ранние осложнения — осложнения, обусловленные непосредственно процедурой катетеризации (гематомы, случайная пункция артерии, пневмоторакс).

Поздние осложнения — осложнения, возникшие в процессе эксплуатации катетера (КАТ, КАИК, туннельная инфекция, инфекция выходного отверстия).

Механические осложнения — поломка/нарушение функции катетера, его повреждение при установке, дислокация и случайное удаление катетера.

Катетер-ассоциированный тромбоз (КАТ) — сочетание клинических (гиперемия, отек, боль, усиление подкожного сосудистого рисунка) и инструментальных

Таблица 1. Антибактериальные препараты, применявшиеся в качестве антимикробных «замков» для санации туннелируемого катетера
Table 1. Antibacterial drugs used as antimicrobial “locks” for the sanitation of a tunneled catheter

Название препарата <i>Drug name</i>	Концентрация препарата (мг/мл) <i>Drug concentration (mg/mL)</i>	Экспозиция (часы, минимум — максимум) <i>Exposition (hours minimum-maximum)</i>
Амикацин <i>Amikacin</i>	50	4–12
Цефоперазон/сульбактам <i>Cephaperazone-sulbactam</i>	100	8–10
Меропенем <i>Meropenem</i>	100	2–12
Имипенем/циластатин <i>Imipenem/cilastatin</i>	50	2–8
Колистиметат натрия <i>Colistimethatum natrium</i>	25 (300 000 ME)	4–12
Ванкомицин <i>Vancomycin</i>	5	1–12
Даптомицин <i>Daptomicyn</i>	5	1–8

(выявление при ультразвуковом исследовании в просвете сосуда гиперэхогенного образования, препятствующего смыканию стенок вен при компрессии датчиком, дефект контрастирования сосудов в доплеровском режиме, при ангиографии) признаков тромбоза в месте установки катетера или на протяжении сосуда.

Катетер-ассоциированная инфекция кровотока (КАИК) — наличие положительной гемокультуры на 2 часа раньше в образце крови, взятом из ЦВК, чем в образце крови, взятом из периферической вены, или выделение микроорганизмов в количестве $\geq 10^2$ при микробиологическом исследовании дистального отрезка катетера количественным методом [18].

Туннельная инфекция — местное воспаление по ходу сформированного туннеля от места выходного отверстия катетера до манжеты или с локализацией только в области фиксации манжеты.

Инфекция выходного отверстия — местное воспаление, с локализацией только в месте выхода катетера на поверхность кожи.

Статистика

Статистический анализ данных проводили с использованием статистического пакета IBM SPSS v.23 (США). Для проверки нормальности распределения был использован критерий Шапиро—Уилка. Для оценки вероятности КАИК, КАТ, а также удаления ЦВК вследствие КАИК был использован метод Каплана—Мейера. Для сравнения двух кривых применялся лог-ранк тест. Для оценки влияния различных независимых факторов на вероятность удаления ЦВК вследствие развития КАИК или КАТ была использована модель пропорциональных рисков Кокса. Для визуальной оценки плотности риска развития КАИК в тот или иной момент времени был использован график ядерной оценки функции риска (ядро Епанечникова). При построении были учтены рекомендации К.Р. Несс и соавт. [21], согласно которым построение графика ядерной оценки функции риска (ядро Епанечникова) проводилось лишь до момента когда расчетное число «пациентов, подвергаемых риску», было более 10 [22].

Таблица 2. Распределение ЦВК по периодам наблюдения
Table 2. Distribution of CVC by observation periods

Тип катетера	Количество ЦВК в разные периоды, n (%) Number of CVCs in different periods, n (%)	
	трансплантация transplantation period	посттрансплантационный период posttransplantation period
Нетуннелируемые ЦВК (n = 259)	90 (61,6)	169 (97,1)
ЦВК без антибактериального покрытия (n = 175) Non-coated CVCs (n = 175)	33 (22,6)	142 (81,6)
ЦВК с антибактериальным покрытием (n = 84) Antibacterial-coated CVCs (n = 84)	57 (39)	27 (15,5)
Туннелируемые ЦВК (n = 61) Tunneled CVCs (n = 61)	56 (38,4)	5 (2,9)

Для оценки ранних и поздних осложнений был использован показатель инцидентности событий на 1000 катетеро-дней [23]. Данные представлены в виде медианы, межквартильного интервала (МКИ) (25–75 %), минимального и максимального значений, частоты возникновения, показателя инцидентности. Порог статистической значимости p был принят равным 0,05.

Результаты

Всего за время наблюдения было установлено 320 ЦВК, из них 146 (45,6 %) перед проведением аллотгск и 174 (54,4 %) — в посттрансплантационном периоде. Перед ТГСК установлены 90 нетуннелируемых и 56 туннелируемых ЦВК, в посттрансплантационном периоде — 169 нетуннелируемых и 5 туннелируемых ЦВК (табл. 2).

Нетуннелируемые ЦВК. При использовании нетуннелируемых ЦВК у одного больного за время проведения ТГСК и в посттрансплантационном периоде было установлено от 1 до 10 (медиана — 2) ЦВК. Длительность эксплуатации катетера составила от 1 до 123 дней (медиана — 22 дня). Яремным доступом было установлено 172 (66,4 %) ЦВК, аксиллярным — 73 (28,2 %) ЦВК и бедренным — 14 (5,4 %) ЦВК.

Ранние осложнения

При катетеризации центральных вен ранение магистральных артерий было в 2 (0,8 %) случаях, постпункционные гематомы — в 4 (1,5 %) случаях. Не было ни одного случая пневмоторакса или гемоторакса.

Поздние осложнения

Выявлено 2,7 % (1,0/1000 катетеро-дней) механических осложнений (перекрут, поломка катетера), потребовавших переустановки ЦВК, 23 (9 %) случаев КАТ (1,4/1000 катетеро-дней) и 73 (23 %) случаев КАИК (4,4/1000 катетеро-дней).

Туннелируемые ЦВК

При использовании туннелируемых ЦВК у одного больного на время кондиционирования, ТГСК и посттрансплантационного периода было установле-

но от 1 до 2 катетеров. Медиана длительности использования туннелируемых ЦВК составила 146 дней (от 9 до 621 дня). Через яремную вену было имплантировано 47 (77 %), через аксиллярную вену — 11 (18 %) катетеров. У 3 (5 %) больных в связи со стенозом верхней поллой вены, обусловленным предшествующим лечением (множественными катетеризациями, лучевой терапией), туннелируемые ЦВК были установлены в нижнюю полую вену через общую бедренную вену, при этом проксимальный конец катетера через подкожный туннель выводили в область мезогастрия.

Ранние осложнения. При катетеризации центральных вен ранение магистральных артерий было в 2 (3,3 %) случаях, постпункционная гематома — в 1 (1,6 %) случае. Не было ни одного случая пневмоторакса или гемоторакса. В 2 (3,3 %) случаях мягкий силиконовый катетер был поврежден при установке.

Поздние осложнения. Выявлено 5 (8,2 %) КАТ (0,3/1000 катетеро-дней) и 24 (39 %) КАИК (1,5/1000 катетеро-дней); инфекция выходного отверстия выявлена у 11 (18 %) больных (1,2/1000 катетеро-дней) и в 8 (72,7 %) случаях была успешно вылечена консервативно. У 3 (27,3 %) больных (0,3/1000 катетеро-дней) инфекция выходного отверстия сочеталась с инфекцией подкожного канала, что потребовало удаления катетера во всех случаях.

Из механических осложнений, связанных с эксплуатацией туннелируемых катетеров, были: случайное удаление катетера — 1 (1,6 %) случай, разрыв силиконового катетера при промывании, введении рентгенконтрастного препарата с помощью автоматического

насоса — у 4 (6,5 %) больных (0,42/1000 катетеро-дней), обструкция катетера — у 18 (29,5 %) больных (1,9/1000 катетеро-дней), что потребовало удаления катетера у 4 больных. В 14 случаях функция катетера была восстановлена.

Сравнение различных видов катетеров

При сравнении разных видов ЦВК установлено, что медиана длительности использования от момента установки до инфицирования катетера составила 19 дней (МКИ 10–42 дня) — для нетуннелируемых ЦВК без антибактериального покрытия, 22 дня (МКИ 17–24 дня) — для нетуннелируемых ЦВК с антибактериальным покрытием и 85 дней (МКИ 22,25–155,75 дня) — для туннелируемых ЦВК.

Всего при использовании нетуннелируемых и туннелируемых ЦВК было зафиксировано 97 случаев КАИК. Чаще выявляли грамположительные микроорганизмы — 56,7 % ($n = 55$) случаев, в 38,1 % ($n = 37$) — грамотрицательные, *Candida spp.* — в 5,2 % ($n = 5$) случаев. Основными грамположительными микроорганизмами были коагулазонегативные *Staphylococcus* — 56,3 % ($n = 31$) и *Enterococcus faecium* — 20 % ($n = 11$); грамотрицательными — *Klebsiella pneumoniae* — 29,7 % ($n = 11$) и *Escherichia coli* — 24,3 % ($n = 9$).

С помощью модели Кокса проведен анализ 30 дневной вероятности КАИК в зависимости от типа нетуннелируемого ЦВК при алло-ТГСК. Не выявлено статистически значимых различий в вероятности инфицирования между катетерами с антибактериальным покрытием и без антибактериального покрытия

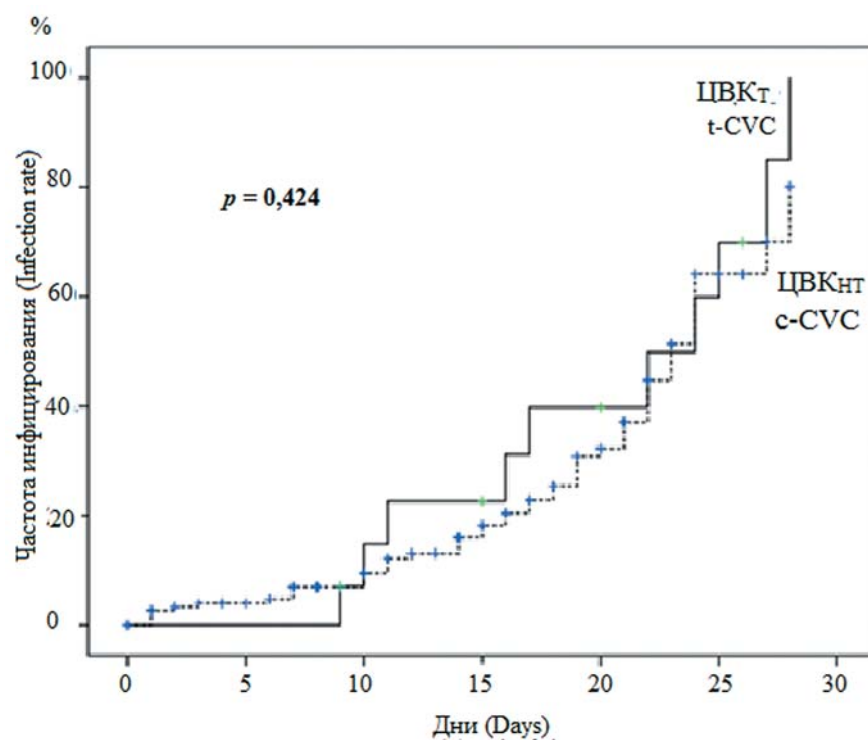


Рисунок 1. Частота инфицирования ЦВК в первые 28 дней от установки ЦВКнт — ЦВК нетуннелируемые, ЦВКт — ЦВК туннелируемые
Figure 1. The frequency of CVC infections during first 28 days from the CVC implantation. CVCnt — non-tunneled CVCs, CVCT — tunneled CVCs

($p = 0,298$), т.е. применение нетуннелируемых ЦВК с антибактериальным покрытием не уменьшало вероятности их инфицирования в течение 30 дней по сравнению с нетуннелируемыми ЦВК без антибактериального покрытия.

Отсутствие значимых преимуществ ЦВК с антибактериальным покрытием перед ЦВК без покрытия при оценке вероятности развития КАИК позволило для дальнейшего анализа объединить их в одну группу и сравнить с туннелируемыми ЦВК.

При оценке вероятности развития КАИК значимых различий между группами нетуннелируемых и туннелируемых ЦВК в первые 28 дней от момента установки не получено ($p = 0,424$) (рис. 1).

В то же время длительность эксплуатации ЦВК, установленных перед трансплантацией, как правило, превышает 30 дней. Так, 95 % процентиль времени стояния нетуннелируемых ЦВК составил 74 дня. В этот период вероятность удаления туннелируемых ЦВК в связи с КАИК значимо ниже, чем при использовании нетуннелируемых, $p = 0,037$ (рис. 2).

Проведена оценка длительности эксплуатации, частоты и инцидентности КАИК туннелируемых и нетуннелируемых ЦВК в два периода времени: от момента установки до 100-го дня после алло-ТГСК и затем в оставшееся время в течение года.

Отдельно был оценен период первых 100 дней после алло-ТГСК. В течение этого периода медиана установленных ЦВК на 1 больного составила для нетуннелируемых ЦВК 2 (от 1 до 7), а туннелируемых 1 (1–2). Медиана длительности эксплуатации нетуннелируемых ЦВК составила 24 (от 1 до 93) дней, а туннелируемых ЦВК — 59 (от 9 до 100) дней. Инцидентность КАИК нетуннелируемых ЦВК составила 7,5/1000 катетеро-дней, а для туннелируемых ЦВК — 1/1000 катетеро-дней.

В течение года одному больному было установлено до 10 нетуннелируемых ЦВК, медиана длительности эксплуатации которых составила 29 (от 1 до 123) дней. Туннелируемые ЦВК, повторно были установлены у 2 больных. Длительность эксплуатации туннелируемых ЦВК в течение года составила 131 день (от 9 до 331 дня). Инцидентность КАИК нетуннелируемых ЦВК составила 4,7/1000 катетеро-дней, а туннелируемых ЦВК — 1,6/1000 катетеро-дней.

Таким образом, в среднесрочной (до 100 дней) и долгосрочной перспективе длительность эксплуатации туннелируемых ЦВК в 2,5 и 4,5 раза больше, чем нетуннелируемых, при меньшем количестве катетеров, установленных одному больному (2 против 10, соответственно, $p = 0,0001$). Инцидентность КАИК в первые 100 дней после алло-ТГСК при использовании нетуннелируемых ЦВК была в 7 раз больше, чем туннелируемых, а при оценке за год использования — в 3 раза больше.

Исходя из того, что туннелируемый ЦВК используется как при проведении алло-ТГСК, так и при амбулаторном лечении, выполнена визуальная оценка плотности риска развития КАИК в посттрансплантационном периоде. Для этого был использован график ядерной оценки функции риска (ядро Епанечникова) (рис. 3).

На рисунке 3 видно, что рост ядерной оценки функции риска КАИК происходит до 100 дней, то есть в период, когда больные еще получают лечение, связанное с самой трансплантацией, а также переживают период приживления трансплантата (до 30-го дня) и развития РТПХ (до 100 дня) у части больных, т.е. периоды, в которые частота инфекционных осложнений крайне высока. После этого риск КАИК снижается, что связано с приживлением трансплантата, восстановлением показателей периферической крови, эффективным лечением аллоиммунных осложнений, началом амбулаторного лечения. Как видно на рисунке 3, после 150-го дня риск КАИК у больных с туннелируемым ЦВК начинает снова нарастать.

Обсуждение

Модернизация R. Hickman в 1975 г. туннелируемого катетера Бровиака совершила революцию в обеспечении сосудистого доступа у больных, нуждающихся в трансплантации костного мозга [24]. R. Hickman и соавт. [25] в статье о применении модифицированного катетера Бровиака сообщили о 38 % инфекционных осложнений, что, по мнению авторов, являлось приемлемым показателем. В 1980 г. J. Bjeletich и R. Hickman [26] опубликовали работу, в которой подробно изложили основные постулаты по предотвращению инфекционных и тромботических осложнений при эксплуатации туннелируемых катетеров, и уже через два года инфицирование однопросветных катетеров составило 27 %, а двухпросветных — 17,5 % [27].

В литературе существует несколько определений инфекций кровотока, обусловленных центральным венозным катетером: инфекции кровотока, связанные с катетером (CRBSI, catheter-related bloodstream infections), инфекции кровотока, ассоциированные с катетером (CABSI, catheter associated blood stream infections), инфекции кровотока, ассоциированные с центральными венозными катетерами (CLABSI, central line-associated blood stream infection) и др. [28]. J. Hiemenz и соавт. [29] отметили, что риск инфекционных осложнений колеблется от 9 до 80 % в зависимости от популяции больных и определения с катетер-ассоциированной инфекции. D. Tomlinson и соавт. [30], проанализировав 191 публикацию, посвященную данной тематике, установили, что термины, используемые в статьях, различны, и это не дает возможности проанализировать результаты, а в 39 случаях авторы статей не дали определения вовсе.

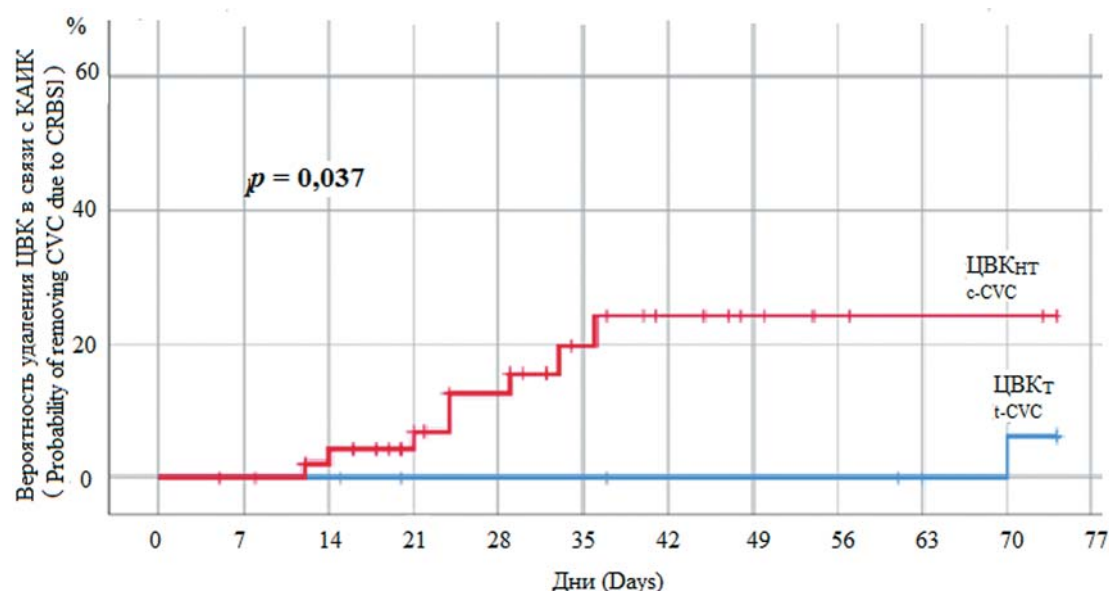


Рисунок 2. Вероятность удаления ЦВК в связи с инфицированием. ЦВК_{нт} — ЦВК нетуннелируемые, ЦВК_т — ЦВК туннелируемые
Figure 2. Probability of CVC removal due to CRBSI. c-CVC — common CVCs, t-CVC_t — tunneled CVCs

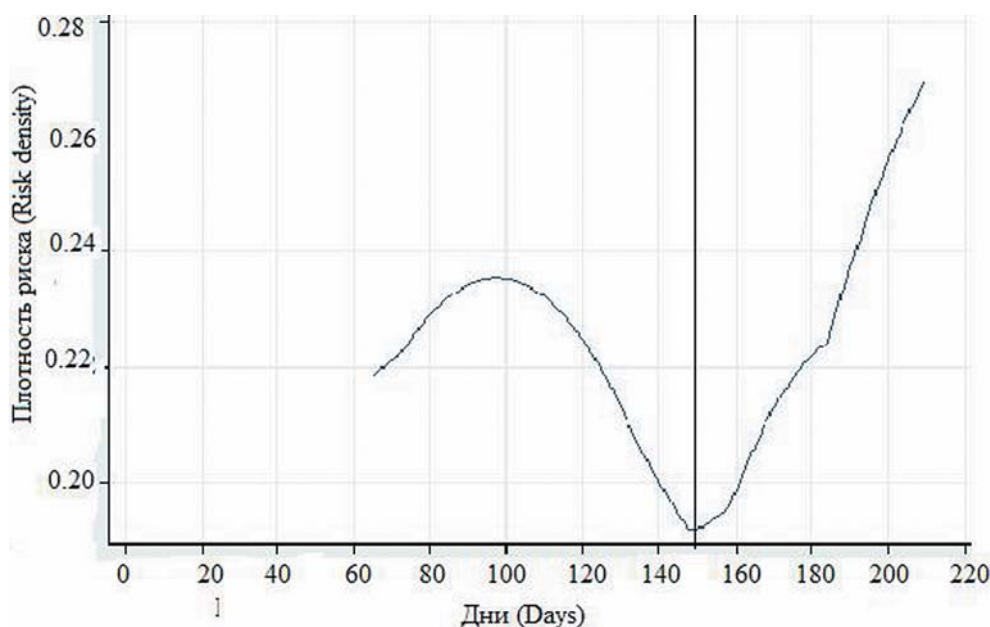


Рисунок 3. График ядерной оценки функции риска (ядро Епанечникова) развития КАИК при использовании туннелируемых ЦВК
Figure 3. The plot of nuclear risk assessment function (Epanechnikov core) of the development of the CRBSI with the use of tunneled CVCs

S. Ray и соавт. [31] опубликовали отчет, посвященный проблемам, которые возникли при установке и использовании 560 туннелируемых катетеров. Авторы сообщили, что у 31,3 % больных были осложнения при установке катетера. Чаще всего это были аритмии (13,9 %), пункция артерий (3,8 %), пневмоторакс (1,6 %). Катетеры в среднем использовали в течение 91 дня. 40 % катетеров было удалено в связи с прекращением терапии, 30,2 % — из-за осложнений, которые включали сепсис, миграцию катетера, КАТ или окклюзию просвета ЦВК. Из возбудителей сепсиса чаще всего выявляли *Staphylococcus epidermidis*. Схожие данные сообщили С. Rotstein и соавт., обратив внимание на инфекцию подкожного туннеля, частота которой составила 2 % [32]. В результате воспалительной реак-

ции вокруг муфты образуется фиброзная ткань и удерживает катетер, не давая ему смещаться. Это занимает от 2 до 4 недель [33]. В то же время в связи с наличием свободного конца муфта препятствует экстралюминальному распространению инфекции. В период врастания манжеты существует высокий риск случайного смещения/удаления катетера [34]. В настоящем исследовании случайное (непредвиденное) удаление катетера Хикмана было зафиксировано у 1 (1,6 %) больного. Для снижения риска случайного удаления были применены и введены в практику методы прошивания катетера вокруг муфты, что позволяет обжимать катетер тканями и препятствует его смещению [33, 35–38].

По мнению J. Niemenz и соавт. [29], удаление туннелируемого катетера в связи с лихорадкой при отсутствии

микробиологических доказательств того, что катетер может быть источником инфекции, является необоснованным подходом. Необходимо эмпирически назначать антибактериальные средства, а также соблюдать асептику и правильный уход за катетером [29].

D. Veneza и соавт. [39] после анализа эксплуатации 488 туннелируемых катетеров сообщили о 61 % успешного лечения сепсиса и 69 % успешного лечения инфекции выходного отверстия без удаления катетера, однако отметили, что в 15 (75 %) из 20 эпизодов туннельной инфекции консервативное лечение было неэффективным, и потребовалось удаление катетера. Данные, полученные в настоящем исследовании, во многом схожи с результатами D. Veneza и соавт. [39]. В случае с инфекцией выходного отверстия частота успешного лечения составила 72,7 %, при туннельной инфекции удаление потребовалось в 100 % случаев. При применении антимикробных «замков» при лечении КАИК были успешно санированы 65,2 % туннелируемых ЦВК.

Существуют различные варианты санации туннелируемых катетеров: с использованием антимикробных «замков», этанола, препаратов для консервации [28]. Использование антимикробных «замков» преследует цель достичь в ограниченном пространстве концентрации лекарственного препарата, в несколько раз превышающей минимальную ингибирующую концентрацию для данного возбудителя, и предотвратить возможное образование биопленки [40].

S. Zanvar и соавт. [41] сообщили о результатах санации туннелируемых ЦВК, установленных 224 онкогематологическим больным при проведении ТГСК. КАИК была выявлена у 10,7 % больных. Частота успешной антибактериальной терапии была выше в группе, где использовали антимикробный «замок», по сравнению с группой, где применялось только системное воздействие (86,6 % против 55,5 %) [43]. Доминирующие микроорганизмы при КАИК по данным разных авторов различались. В исследовании M. Yeral и соавт. [42], как и в настоящем исследовании, это были грамположительные бактерии, в исследовании S. Zanvar и соавт. [41] — грамотрицательные, а в исследовании S. Al Bahar и соавт. [43] грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы распределились поровну. Авторы отмечают, что максимальный риск КАИК, как правило, приходится на первые 3–4 недели от начала кондиционирования [41, 44], то есть время максимального повреждения эндотелия и приживления костного мозга, что соответствует и полученным в настоящем исследовании данным. Наряду с этим остаются открытыми вопросы выбора антимикробного препарата, его концентрации и длительность экспозиции в просвете катетера [40].

В настоящей работе инцидентность КАИК при использовании туннелируемых ЦВК была в 7 раз меньше, чем нетуннелируемых ЦВК, если оценивать пер-

вые 100 дней после трансплантации, и в 3 раза меньше в целом за год. Полученные результаты объясняются продолжительным использованием туннелируемых катетеров, а выявляемое с большой частотой событие может наступать позже. Инцидентность же на 1000 катетеро-дней позволяет оценить частоту возникновения новых случаев КАИК, возникших за определенный период времени (период наблюдения), с учетом суммарного времени. С другой стороны, в настоящем исследовании туннелируемые катетеры использовались либо до тех пор, пока не исчезала в них потребность, но чаще до возникновения осложнений, основным из которых была КАИК. Именно этим можно объяснить большую частоту КАИК при использовании туннелируемых ЦВК. Возможно, более раннее удаление туннелируемых катетеров могло бы предотвратить их инфицирование на поздних сроках. Поэтому одной из задач настоящего исследования было определить оптимальный срок эксплуатации туннелируемых ЦВК. Для этого и была проведена визуальная оценка ядерной плотности функции риска развития КАИК при использовании туннелируемых ЦВК, по результатам которой оптимальным периодом использования туннелируемого катетера явился срок 150 дней от момента установки. В то же время решение об удалении или плановой замене туннелируемого катетера должно проводиться в каждом случае индивидуально на основании статуса больного, проводимого и планируемого лечения, предпочтений лечащего врача и больного.

Согласно рекомендациям Американского общества по инфекционным болезням (США) [18], туннелируемые катетеры должны быть удалены в случае инфекции, вызванной *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, грибами или микобактериями, а также в случае неэффективной антимикробной терапии в течение 72 часов, назначенной с учетом чувствительности микроорганизмов. Нетуннелируемые же ЦВК удалять следует незамедлительно при выделении грамотрицательных бактерий, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, грибов или микобактерий [18].

Применение ЦВК с антибактериальным или антисептическим покрытием позиционируется как еще один подход для снижения риска КАИК и представляется экономически целесообразным в связи с уменьшением расходов на лечение КАИК, несмотря на большую стоимость самих катетеров [45]. В настоящем исследовании были использованы ЦВК с покрытием полигексанида метакрилатом, которое, по заявлению производителя, защищает поверхность катетера, разрушает структуру клеточной мембраны микроорганизмов в случае контакта с обработанной поверхностью, а постоянное химическое взаимодействие между материалом катетера и покрытием обеспечивает долговременную защиту от инфекций, связанных с катетером, в течение 30 дней [46]. Покрытие противосто-

ит таким возбудителям, как *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, включая метициллинрезистентные изоляты, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Candida spp.* [47]. В литературе имеются сообщения о предотвращении образования биопленки на поверхности ЦВК, покрытых полигексанида метакрилатом [46].

Р. Ramritu и соавт. провели метаанализ 15 исследований по использованию катетеров с антимикробным покрытием [48]. Было показано, что только два типа ЦВК с антимикробным покрытием снижали риск колонизации и инфицирования катетера: покрытие ЦВК хлоргексидином и сульфадиазином серебра (относительный риск (ОР) 0,66, 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,47–0,93) и покрытие миноциклином и рифампицином (ОР 0,12, 95 % ДИ 0,02–0,67) [48]. В другом исследовании показано, что только сочетание миноциклина с рифампицином снижает риск как колонизации (ОР 0,40, 95 % ДИ 0,23–0,67), так и инфицирования ЦВК (ОР 0,39, 95 % ДИ 0,17–0,92) [49]. Схожие данные были представлены L. Lorente [50], но автор указал, что этот вопрос требует дальнейшего изучения, так как в предыдущих исследованиях не изучены вопросы антибиотикорезистентности.

В настоящем исследовании не получено данных о преимуществе нетуннелируемых ЦВК с антибактериальным покрытием над катетерами без антибактериального покрытия ($p = 0,298$). Возможность быстрого удаления нетуннелируемого ЦВК при появлении первых признаков инфекции кровотока (лихорадка, озноб, гиперемия/цианоз кожи, гипотензия, тахикардия, связь с инфузией) с целью санации вероятного очага инфекции является бесспорным преимуществом нетуннелируемого ЦВК. Но всегда ли это правильное решение?

Установка нового ЦВК связана с повреждением целостности кожных покровов, что в условиях нейтропении и/или реакции «трансплантат против хозяина» с поражением кожи, может явиться фактором риска инфекционных осложнений [7]. Кроме того, установка ЦВК в условиях тромбоцитопении увеличивает риск геморрагических осложнений, что требует подготовки с использованием различных трансфузионных сред, а это, в свою очередь, приводит к излишней аллоиммунизации больных [53].

Применение ультразвукового контроля при катетеризации центральных вен снижает риск ранних осложнений [51]. Частота ранений магистральных сосудов в нашем исследовании составила 1,25 %, а постпункционных гематом — 1,5 % из 320 выполненных манипуляций. Такие показатели определены ультразвуковым сопровождением катетеризации, которое в настоящее время считается «золотым стандартом» при установке ЦВК через внутреннюю яремную вену (ВЯВ), так как вена близко прилегает к поверхности кожи, и хорошо визуализируются смежные структуры [52]. Преимущество

ультразвукового сопровождения при венепункции было наглядно показано в исследовании К. Serafidis и соавт. [51], которые проанализировали установку ЦВК 551 больному через ВЯВ: у 347 больных применяли УЗИ, остальным 204 больным катетеры устанавливали по анатомическим ориентирам. Применение ультразвукового контроля позволило значительно сократить время установки ЦВК ($9,83 \pm 3,1$ против $20 \pm 4,4$ мин, $p < 0,001$), уменьшить число осложнений: пневмоторакс — 0 против 2 случаев ($p < 0,05$), прокол сонной артерии — 1 против 16, $p < 0,05$). Кроме того, при использовании ультразвукового контроля не было неудачных попыток катетеризации (0 против 18, $p < 0,05$), причем со значительно меньшим количеством попыток (1–3 попытки, $p < 0,01$) по сравнению с техникой по анатомическим ориентирам [51]. В настоящей работе 68,4 % ЦВК были установлены яремным доступом.

В нашей стране распространена практика катетеризации центральных вен по анатомическим ориентирам, используя в основном подключичный доступ, даже при наличии ультразвукового аппарата. При этом врачи осведомлены о возможных осложнениях при катетеризации центральных вен и о риске, которому подвергают больного. Это, безусловно, заслуживает отдельного рассмотрения.

Установка туннелируемого катетера больным при проведении алло-ТГСК позволяет уменьшить частоту «переустановок» ЦВК и снизить риск осложнений, связанных с манипуляцией: максимально одному больному установили 10 нетуннелируемых ЦВК против 2 туннелируемых ЦВК ($p = 0,0001$).

Использование ультразвукового контроля при катетеризации позволило также чаще выявлять КАТ. В исследовании М. Joks и соавт. [54] сообщено, что у больных острыми лейкозами, которым были установлены ЦВК, частота КАТ достигала 13,5 %, причем в трети случаев они были бессимптомными [54]. Среди факторов риска КАТ выделяют инфекцию, проведение более двух курсов химиотерапии через ЦВК, травму стенки сосуда, воспаление эндотелиальной оболочки, прокоагулянтную активность опухоли, возраст больных, характеристики ЦВК (материал, соответствие диаметра катетера диаметру вен, место установки и т.д.) [54, 55]. Опасность КАТ заключается в высоком риске тромбоэмболических осложнений, а применение антикоагулянтной терапии у гематологических больных ограничено из-за сопутствующей тромбоцитопении и риска геморрагических осложнений [56]. В настоящем исследовании частота КАТ составила 9 %. Но истинная частота КАТ после алло-ТГСК, факторы риска, а также методы профилактики и лечения до конца не изучены [57]. В одном из крупных исследований [58], посвященных этому вопросу, было включено 1514 больных после ТГСК, у которых к 180-му дню наблюдения было зафиксировано 75 (4,6 %) венозно-тромбоэмболических

осложнений, 55 (73,3 %) из которых были связаны с ЦВК. В 60 % случаях выявления КАТ была тромбоцитопения меньше $100 \times 10^9/\text{л}$, в 34 % — меньше $50 \times 10^9/\text{л}$ и в 13 % — меньше $20 \times 10^9/\text{л}$ [58]. Такая вариабельность показателей, безусловно, затрудняет лечение. При многомерном анализе факторами риска развития осложнений были тромботические осложнения в анамнезе (ОР 2,9, 95 % ДИ 1,3–6,6) и РТПХ (ОР 2,4, 95 % ДИ 1,4–4,0) [58]. Хроническая РТПХ и применение кортикостероидных гормонов также являются факторами тромботических осложнений после алло-ТГСК [57, 59].

Несмотря на хорошие результаты лечения и профилактики КАТ низкомолекулярными гепаринами [60, 61], новые пероральные антикоагулянты также эффективны [62]. Вопросы антикоагулянтной терапии, в том числе профилактической, у гематологических больных после алло-ТГСК в условиях амбулаторного лечения/наблюдения, а также ее продолжительности нуждаются в дальнейшем изучении.

Одной из мер предотвращения КАИК и КАТ является правильный уход за катетером [63]. Регулярное промывание катетеров уменьшает отложение фибрина и снижает риск образования биопленки и обструкции катетера [64].

Литература

1. Devine H., DeMeyer E. Hematopoietic cell transplantation in the treatment of leukemia. *Semin. Oncol. Nurs.* 2003; 19(2): 118–32. DOI: 10.1016/S0749-2081(03)00008-1.
2. Wingard J.R., Hsu J., Hiemenz J.W. Hematopoietic Stem Cell Transplantation: An Overview of Infection Risks and Epidemiology. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2010; 24(2): 257–72. DOI: 10.1016/j.idc.2010.01.010
3. Pluschnig U., Haslik W., Bartsch R., Mader R.M. Extravasation emergencies: state-of-the-art management and progress in clinical research. *Memo.* 2016; 9(4): 226–30. DOI: 10.1007/s12254-016-0304-2
4. Patrick S.P., Tijnelis M.A., Johnson S., Herbert M.E. Supraclavicular subclavian vein catheterization: the forgotten central line. *West J. Emerg. Med.* 2009; 10(2): 110–14.
5. Timsit J.-F. What is the best site for central venous catheter insertion in critically ill patients? *Crit. Care.* 2003; 7(6): 397–9. DOI: 10.1186/cc2179
6. Gurman G., Atilla E., Atilla P.A. et al. Catheter Thrombosis in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (Allo-HSCT) Recipients. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2017; 23(3): 275–6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.12.181
7. Barretta L.M., Beccaria L.M., Cesarino C.B., Pinto M.H. Complications of central venous catheter in patients transplanted with hematopoietic stem cells in a specialized service. *Rev. Lat. Am. Enfermagem.* 2016; 24: e2698. DOI: 10.1590/1518-8345.0547.2698
8. Seldinger S.I. *Acta Radiologica [Old Series]* Catheter Replacement of the Needle in Percutaneous Arteriography: A new technique. *Acta Radiol.* 1953; 39(5): 368–76. DOI: 10.3109/00016925309136722
9. Gow K.W., Tapper D., Hickman R.O. Between the lines: The 50th anniversary of long-term central venous catheters. *Am. J. Surg.* 2017; 213(5): 837–48. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2017.03.021
10. Lamperti M., Bodenham A.R., Pittiruti M. et al. International evidence-based recommendations on ultrasound-guided vascular access. *Intensive Care Med.* 2012; 38(7): 1105–17. DOI: 10.1007/s00134-012-2597-x

Высокую частоту обструкции туннелируемого ЦВК в настоящем исследовании (29,5 %, или 1,9/1000 катетеро-дней) можно объяснить несоблюдением режима промывания и закрытия катетера.

Организация обучения больных и медицинского персонала уходу за катетером может снизить частоту механических и поздних осложнений катетеризации.

Таким образом, проведение алло-ТГСК возможно с использованием любого из рассматриваемых типов катетера. Однако меньший риск КАИК, меньшее количество катетеров у одного больного ($p = 0,037$), возможности санации, длительной эксплуатации катетера и начала терапии по первому требованию подтверждают целесообразность использования туннелируемых ЦВК.

Не установлено преимуществ при использовании нетуннелируемых ЦВК с антибактериальным покрытием по сравнению с нетуннелируемыми ЦВК без покрытия ($p = 0,298$).

Длительность использования 150 дней от момента имплантации туннелируемого ЦВК является оправданной и оптимальной из-за развития осложнений (инфекционные, РТПХ) после проведения алло-ТГСК.

Reference

1. Devine H., DeMeyer E. Hematopoietic cell transplantation in the treatment of leukemia. *Semin. Oncol. Nurs.* 2003; 19(2): 118–32. DOI: 10.1016/S0749-2081(03)00008-1.
2. Wingard J.R., Hsu J., Hiemenz J.W. Hematopoietic Stem Cell Transplantation: An Overview of Infection Risks and Epidemiology. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2010; 24(2): 257–72. DOI: 10.1016/j.idc.2010.01.010
3. Pluschnig U., Haslik W., Bartsch R., Mader R.M. Extravasation emergencies: state-of-the-art management and progress in clinical research. *Memo.* 2016; 9(4): 226–30. DOI: 10.1007/s12254-016-0304-2
4. Patrick S.P., Tijnelis M.A., Johnson S., Herbert M.E. Supraclavicular subclavian vein catheterization: the forgotten central line. *West J. Emerg. Med.* 2009; 10(2): 110–14.
5. Timsit J.-F. What is the best site for central venous catheter insertion in critically ill patients? *Crit. Care.* 2003; 7(6): 397–9. DOI: 10.1186/cc2179
6. Gurman G., Atilla E., Atilla P.A. et al. Catheter Thrombosis in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (Allo-HSCT) Recipients. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2017; 23(3): 275–6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.12.181
7. Barretta L.M., Beccaria L.M., Cesarino C.B., Pinto M.H. Complications of central venous catheter in patients transplanted with hematopoietic stem cells in a specialized service. *Rev. Lat. Am. Enfermagem.* 2016; 24: e2698. DOI: 10.1590/1518-8345.0547.2698
8. Seldinger S.I. *Acta Radiologica [Old Series]* Catheter Replacement of the Needle in Percutaneous Arteriography: A new technique. *Acta Radiol.* 1953; 39(5): 368–76. DOI: 10.3109/00016925309136722
9. Gow K.W., Tapper D., Hickman R.O. Between the lines: The 50th anniversary of long-term central venous catheters. *Am. J. Surg.* 2017; 213(5): 837–48. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2017.03.021
10. Lamperti M., Bodenham A.R., Pittiruti M. et al. International evidence-based recommendations on ultrasound-guided vascular access. *Intensive Care Med.* 2012; 38(7): 1105–17. DOI: 10.1007/s00134-012-2597-x

11. Argoti-Velasco Y.L., Carrillo-Torres O., Sandoval-Mendoza R.A. et al. Proper electrocardiography-guided placement of a central venous catheter. *Rev. Médica del Hosp. Gen. México*. 2016; 81(4): 262–7. DOI: 10.1016/j.hgmx.2016.09.007
12. Joshi A.M., Bhosale G.P., Parikh G.P., Shah V.R. Optimal positioning of right-sided internal jugular venous catheters: comparison of intra-atrial electrocardiography versus Peres' formula. *Indian J. Crit. Care Med.* 2008; 12(1): 10–4. DOI: 10.4103/0972-5229.40943
13. Шулутко Е.М., Судейкина Н.Н., Городецкий В.М. Рекомендации по обеспечению венозного доступа. В кн.: Савченко В.Г., ред. Программное лечение заболеваний системы крови. Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Том II. М.: Практика; 2012: с. 903–46.
14. Defalque R.J., Campbell C. Cardiac tamponade from central venous catheters. *Anesthesiology*. 1979; 50(3): 249–52.
15. Sandrucci S., Mussa B. Peripherally Inserted Central Venous Catheters. In: Sandrucci S., Mussa B., ed. Milano: Springer Milan; 2014. DOI: 10.1007/978-88-470-5665-7
16. Aslamy Z., Dewald C.L., Heffner J.E. MRI of central venous anatomy. Implications for central venous catheter insertion. *Chest*. 1998; 114(3): 820–6. DOI: 10.1378/chest.114.3.820
17. Petersen J., Delaney J.H., Brakstad M.T. et al. Silicone venous access devices positioned with their tips high in the superior vena cava are more likely to malfunction. *Am J Surg*. 1999; 178(1): 38–41. DOI: 10.1016/S0002-9610(99)00124-5
18. Mermel L.A., Allon M., Bouza E. et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 49(1): 1–45. DOI: 10.1086/599376
19. Chu H.-P., Brind J., Tomar R., Hill S. Significant Reduction in Central Venous Catheter-related Bloodstream Infections in Children on HPN After Starting Treatment With Tauridine Line Lock. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55(4): 403–7. DOI: 10.1097/MPG.0b013e31825bb0ae
20. Haire W.D., Atkinson J.B., Stephens L.C., Kotulak G.D. Urokinase versus recombinant tissue plasminogen activator in thrombosed central venous catheters: a double-blinded, randomized trial. *Thromb Haemost.* 1994; 72(4): 543–47.
21. Hess K.R., Serachitopol D.M., Brown B.W. Hazard function estimators: a simulation study. *Stat. Med.* 1999; 18(22): 3075–3088. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0258(19991130)18: 22<3075: AID-SIM244>3.0.CO; 2-6
22. Goel M.K., Khanna P., Kishore J. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. *Int. J. Ayurveda Res.* 2010; 1(4): 274–8. DOI: 10.4103/0974-7788.76794
23. System ARF the NNIS (NNIS). Nosocomial Infection Rates for Interhospital Comparison: Limitations and Possible Solutions. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 1991; 12(10): 609–21. DOI: 10.1086/646250
24. Goldmann D.A., Pier G.B. Pathogenesis of Infections Related to Intravascular Catheterization. *Clinical Microbiology Reviews*. 1993; 6(2): 176–92. DOI: 10.1128/cmr.6.2.176
25. Hickman R.O., Buckner C.D., Clift R.A. et al. A modified right atrial catheter for access to the venous system in marrow transplant recipients. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1979; 148(6): 871–5.
26. Bjeletich J., Hickman R.O. The Hickman Indwelling Catheter. *Am. J. Nurs.* 1980; 80(1): 62.
27. Sanders J.E., Hickman R.O., Aker S. et al. Experience with Double Lumen Right Atrial Catheters. *J. Parenter Enter. Nutr.* 1982; 6(2): 95–9.
28. Багирова Н.С. Инфекции, связанные с внутрисосудистыми устройствами: терминология, диагностика, профилактика и терапия. Злокачественные опухоли. 2014; (3): 164–71. DOI: 10.18027/2224-5057-2014-3-164-171
11. Argoti-Velasco Y.L., Carrillo-Torres O., Sandoval-Mendoza R.A. et al. Proper electrocardiography-guided placement of a central venous catheter. *Rev. Médica del Hosp. Gen. México*. 2016; 81(4): 262–7. DOI: 10.1016/j.hgmx.2016.09.007
12. Joshi A.M., Bhosale G.P., Parikh G.P., Shah V.R. Optimal positioning of right-sided internal jugular venous catheters: comparison of intra-atrial electrocardiography versus Peres' formula. *Indian J. Crit. Care Med.* 2008; 12(1): 10–4. DOI: 10.4103/0972-5229.40943
13. Шулутко Е.М., Судейкина Н.Н., Городецкий В.М. Рекомендации по обеспечению венозного доступа. В кн.: Савченко В.Г., ред. Программное лечение заболеваний системы крови. Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Том II. М.: Практика; 2012: с. 903–46.
14. Defalque R.J., Campbell C. Cardiac tamponade from central venous catheters. *Anesthesiology*. 1979; 50(3): 249–52.
15. Sandrucci S., Mussa B. Peripherally Inserted Central Venous Catheters. In: Sandrucci S., Mussa B., ed. Milano: Springer Milan; 2014. DOI: 10.1007/978-88-470-5665-7
16. Aslamy Z., Dewald C.L., Heffner J.E. MRI of central venous anatomy. Implications for central venous catheter insertion. *Chest*. 1998; 114(3): 820–6. DOI: 10.1378/chest.114.3.820
17. Petersen J., Delaney J.H., Brakstad M.T. et al. Silicone venous access devices positioned with their tips high in the superior vena cava are more likely to malfunction. *Am J Surg*. 1999; 178(1): 38–41. DOI: 10.1016/S0002-9610(99)00124-5
18. Mermel L.A., Allon M., Bouza E. et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 49(1): 1–45. DOI: 10.1086/599376
19. Chu H.-P., Brind J., Tomar R., Hill S. Significant Reduction in Central Venous Catheter-related Bloodstream Infections in Children on HPN After Starting Treatment With Tauridine Line Lock. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55(4): 403–7. DOI: 10.1097/MPG.0b013e31825bb0ae
20. Haire W.D., Atkinson J.B., Stephens L.C., Kotulak G.D. Urokinase versus recombinant tissue plasminogen activator in thrombosed central venous catheters: a double-blinded, randomized trial. *Thromb Haemost.* 1994; 72(4): 543–47.
21. Hess K.R., Serachitopol D.M., Brown B.W. Hazard function estimators: a simulation study. *Stat. Med.* 1999; 18(22): 3075–3088. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0258(19991130)18: 22<3075: AID-SIM244>3.0.CO; 2-6
22. Goel M.K., Khanna P., Kishore J. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. *Int. J. Ayurveda Res.* 2010; 1(4): 274–8. DOI: 10.4103/0974-7788.76794
23. System ARF the NNIS (NNIS). Nosocomial Infection Rates for Interhospital Comparison: Limitations and Possible Solutions. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 1991; 12(10): 609–21. DOI: 10.1086/646250
24. Goldmann D.A., Pier G.B. Pathogenesis of Infections Related to Intravascular Catheterization. *Clinical Microbiology Reviews*. 1993; 6(2): 176–92. DOI: 10.1128/cmr.6.2.176
25. Hickman R.O., Buckner C.D., Clift R.A. et al. A modified right atrial catheter for access to the venous system in marrow transplant recipients. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1979; 148(6): 871–5.
26. Bjeletich J., Hickman R.O. The Hickman Indwelling Catheter. *Am. J. Nurs.* 1980; 80(1): 62.
27. Sanders J.E., Hickman R.O., Aker S. et al. Experience with Double Lumen Right Atrial Catheters. *J. Parenter Enter. Nutr.* 1982; 6(2): 95–9.
28. Багирова Н.С. Инфекции, связанные с внутрисосудистыми устройствами: терминология, диагностика, профилактика и терапия. Злокачественные опухоли. 2014; (3): 164–71. DOI: 10.18027/2224-5057-2014-3-164-171 (In Russian).

29. Hiemenz J., Skelton J., Pizzo P.A. Perspective on the management of catheter-related infections in cancer patients. *Pediatr. Infect. Dis.* 1986; 5(1): 6–11.
30. Tomlinson D., Mermel L.A., Ethier M.-C. et al. Defining bloodstream infections related to central venous catheters in patients with cancer: a systematic review. *Clin. Infect. Dis.* 2011; 53(7): 697–710. DOI: 10.1093/cid/cir523
31. Ray S., Stacey R., Imrie M., Filshie J. A review of 560 Hickman catheter insertions. *Anaesthesia.* 1996; 51(10): 981–5. DOI: 10.1111/j.1365-2044.1996.tb14972.x
32. Rotstein C., Brock L., Roberts R.S. The incidence of first Hickman catheter-related infection and predictors of catheter removal in cancer patients. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 1995; 16(8): 451–8.
33. Bond S.J., Bond B.S. Exit Site Purse-String Suture to Secure Long-Term Venous Catheters. *J. Parenter. Enter. Nutr.* 1993; 17(6): 583–4. DOI: 10.1177/0148607193017006583
34. Maki D.G., Kluger D.M., Crnich C.J. The Risk of Bloodstream Infection in Adults With Different Intravascular Devices: A Systematic Review of 200 Published Prospective Studies. *Mayo Clin. Proc.* 2006; 81(9): 1159–71. DOI: 10.4065/81.9.1159
35. Ramsey C., McClure H., Bhambra B. et al. Early Cuff Anchorage for Tunneled Central Venous Catheters using a Buried Absorbable Suture. *J. Vasc. Access.* 2012; 13(1): 96–100. DOI: 10.5301/JVA.5000009
36. Paran T.S., Corbally M., Fitzgerald R.I. New technique for fixation of Broviac catheters. *J. Pediatr. Surg.* 2003; 38(1): 51–2. DOI: 10.1053/jpsu.2003.50008
37. Sando K., Fujii M., Okada A. Anchoring fixation suture to secure Broviac catheters. *Br. J. Surg.* 1997; 84(9): 1304–4. DOI: 10.1046/j.1365-2168.1997.02784.x
38. Redo S.F. Modified catheter for prolonged central venous use. *J. Pediatr. Surg.* 1995; 30(11): 1544–5. DOI: 10.1016/0022-3468(95)90152-3
39. Benezra D., Kiehn T.E., Gold J.W.M. et al. Prospective study of infections in indwelling central venous catheters using quantitative blood cultures. *Am. J. Med.* 1988; 85(4): 495–8. DOI: 10.1016/S0002-9343(88)80084-6
40. Bustos C., Aguinaga A., Carmona-Torre F., Del Pozo J.L. Long-term catheterization: current approaches in the diagnosis and treatment of port-related infections. *Infect. Drug. Resist.* 2014; 7: 25–35. DOI: 10.2147/IDR.S37773
41. Zanwar S., Jain P., Gokarn A. et al. Antibiotic lock therapy for salvage of tunneled central venous catheters with catheter colonization and catheter-related bloodstream infection. *Transpl. Infect. Dis.* 2019; 21(1): e13017. DOI: 10.1111/tid.13017
42. Yeral M., Boğa C., Oğuzkurt L. et al. Tunnelled central venous catheter-related problems in the early phase of haematopoietic stem cell transplantation and effects on transplant outcome. *Turk. J. Haematol.* 2015; 32(1): 51–7. DOI: 10.4274/tjh.2013.0278.
43. Al Bahar S., Pandita R., Bavishi K., Savani B. Febrile Neutropenia in Patients with Acute Leukemia with Long-Term Central Venous Access in Kuwait: Microbial Spectrum, Outcome and Catheter Management. *Med. Princ. Pract.* 2000; 9(1): 35–41. DOI: 10.1159/000026117
44. Chee L., Brown M., Sasadeusz J. et al. Gram-negative organisms predominate in Hickman line-related infections in non-neutropenic patients with hematological malignancies. *J. Infect.* 2008; 56(4): 227–33. DOI: 10.1016/j.jinf.2008.01.046
45. Halton K.A., Cook D.A., Whitby M. et al. Cost effectiveness of antimicrobial catheters in the intensive care unit: addressing uncertainty in the decision. *Crit. Care.* 2009; 13(2): R35. DOI: 10.1186/cc7744
46. Richards G.A., Brink A.J., McIntosh R. et al. Investigation of biofilm formation on a charged intravenous catheter relative to that on a similar but uncharged catheter. *Med. Devices (Auckl.).* 2014; 7: 219–24. DOI: 10.2147/MDER.S63449
29. Hiemenz J., Skelton J., Pizzo P.A. Perspective on the management of catheter-related infections in cancer patients. *Pediatr. Infect. Dis.* 1986; 5(1): 6–11.
30. Tomlinson D., Mermel L.A., Ethier M.-C. et al. Defining bloodstream infections related to central venous catheters in patients with cancer: a systematic review. *Clin. Infect. Dis.* 2011; 53(7): 697–710. DOI: 10.1093/cid/cir523
31. Ray S., Stacey R., Imrie M., Filshie J. A review of 560 Hickman catheter insertions. *Anaesthesia.* 1996; 51(10): 981–5. DOI: 10.1111/j.1365-2044.1996.tb14972.x
32. Rotstein C., Brock L., Roberts R.S. The incidence of first Hickman catheter-related infection and predictors of catheter removal in cancer patients. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 1995; 16(8): 451–8.
33. Bond S.J., Bond B.S. Exit Site Purse-String Suture to Secure Long-Term Venous Catheters. *J. Parenter. Enter. Nutr.* 1993; 17(6): 583–4. DOI: 10.1177/0148607193017006583
34. Maki D.G., Kluger D.M., Crnich C.J. The Risk of Bloodstream Infection in Adults With Different Intravascular Devices: A Systematic Review of 200 Published Prospective Studies. *Mayo Clin. Proc.* 2006; 81(9): 1159–71. DOI: 10.4065/81.9.1159
35. Ramsey C., McClure H., Bhambra B. et al. Early Cuff Anchorage for Tunneled Central Venous Catheters using a Buried Absorbable Suture. *J. Vasc. Access.* 2012; 13(1): 96–100. DOI: 10.5301/JVA.5000009
36. Paran T.S., Corbally M., Fitzgerald R.I. New technique for fixation of Broviac catheters. *J. Pediatr. Surg.* 2003; 38(1): 51–2. DOI: 10.1053/jpsu.2003.50008
37. Sando K., Fujii M., Okada A. Anchoring fixation suture to secure Broviac catheters. *Br. J. Surg.* 1997; 84(9): 1304–4. DOI: 10.1046/j.1365-2168.1997.02784.x
38. Redo S.F. Modified catheter for prolonged central venous use. *J. Pediatr. Surg.* 1995; 30(11): 1544–5. DOI: 10.1016/0022-3468(95)90152-3
39. Benezra D., Kiehn T.E., Gold J.W.M. et al. Prospective study of infections in indwelling central venous catheters using quantitative blood cultures. *Am. J. Med.* 1988; 85(4): 495–8. DOI: 10.1016/S0002-9343(88)80084-6
40. Bustos C., Aguinaga A., Carmona-Torre F., Del Pozo J.L. Long-term catheterization: current approaches in the diagnosis and treatment of port-related infections. *Infect. Drug. Resist.* 2014; 7: 25–35. DOI: 10.2147/IDR.S37773
41. Zanwar S., Jain P., Gokarn A. et al. Antibiotic lock therapy for salvage of tunneled central venous catheters with catheter colonization and catheter-related bloodstream infection. *Transpl. Infect. Dis.* 2019; 21(1): e13017. DOI: 10.1111/tid.13017
42. Yeral M., Boğa C., Oğuzkurt L. et al. Tunnelled central venous catheter-related problems in the early phase of haematopoietic stem cell transplantation and effects on transplant outcome. *Turk. J. Haematol.* 2015; 32(1): 51–7. DOI: 10.4274/tjh.2013.0278.
43. Al Bahar S., Pandita R., Bavishi K., Savani B. Febrile Neutropenia in Patients with Acute Leukemia with Long-Term Central Venous Access in Kuwait: Microbial Spectrum, Outcome and Catheter Management. *Med. Princ. Pract.* 2000; 9(1): 35–41. DOI: 10.1159/000026117
44. Chee L., Brown M., Sasadeusz J. et al. Gram-negative organisms predominate in Hickman line-related infections in non-neutropenic patients with hematological malignancies. *J. Infect.* 2008; 56(4): 227–33. DOI: 10.1016/j.jinf.2008.01.046
45. Halton K.A., Cook D.A., Whitby M. et al. Cost effectiveness of antimicrobial catheters in the intensive care unit: addressing uncertainty in the decision. *Crit. Care.* 2009; 13(2): R35. DOI: 10.1186/cc7744
46. Richards G.A., Brink A.J., McIntosh R. et al. Investigation of biofilm formation on a charged intravenous catheter relative to that on a similar but uncharged catheter. *Med. Devices (Auckl.).* 2014; 7: 219–24. DOI: 10.2147/MDER.S63449

47. B. Braun Melsungen AG. Certofix® protect. Catheter-related infections and their prevention. <https://www.bbraun.com/content/dam/catalog/bbraun/bbraunProductCatalog/S/AEM2015/en-01/b3/certofix-protectscientificbrochure.pdf.bb-.63070800/certofix-protectscientificbrochure.pdf>
48. Ramritu P., Halton K., Collignon P. et al. A systematic review comparing the relative effectiveness of antimicrobial-coated catheters in intensive care units. *Am. J. Infect. Control.* 2008; 36(2): 104–17. DOI: 10.1016/j.ajic.2007.02.012
49. Kalfon P., de Vaumas C., Samba D. et al. Comparison of silver-impregnated with standard multi-lumen central venous catheters in critically ill patients. *Crit. Care Med.* 2007; 35(4): 1032–9. DOI: 10.1097/01.CCM.0000259378.53166.1B
50. Lorente L. Antimicrobial-impregnated catheters for the prevention of catheter-related bloodstream infections. *World J. Crit. Care Med.* 2016; 5(2): 137–42. DOI: 10.5492/wjccm.v5.i2.137
51. Saris A., van Der Meer P.F., Meijer S. et al. The Role of Platelets in the Induction of Alloimmunization after Platelet Transfusion. *Blood.* 2017; 130 (Suppl. 1): 3726
52. Serafimidis K., Sakorafas G.H., Konstantoudakis G. et al. Ultrasound-guided catheterization of the internal jugular vein in oncologic patients; Comparison with the classical anatomic landmark technique: A prospective study. *Int. J. Surg.* 2009; 7(6): 526–8. DOI: 10.1016/j.ijssu.2009.08.011
53. Milling T.J., Rose J., Briggs W.M. et al. Randomized, controlled clinical trial of point-of-care limited ultrasonography assistance of central venous cannulation: The Third Sonography Outcomes Assessment Program (SOAP-3) Trial. *Crit. Care Med.* 2005; 33(8): 1764–9. DOI: 10.1097/01.CCM.0000171533.92856.E5
54. Joks M., Czyż A., Popławski D., Komarnicki M. Incidence and risk factors for central venous catheter-related thrombosis in hematological patients. *Med. Oncol.* 2014; 31(1): 772. DOI: 10.1007/s12032-013-0772-8
55. Van Rooden C.J., Schippers E.F., Barge R.M.Y. et al. Infectious complications of central venous catheters increase the risk of catheter-related thrombosis in hematology patients: A prospective study. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(12): 2655–60. DOI: 10.1200/JCO.2005.05.002
56. Annibali O., Napolitano M., Avvisati G., Siragusa S. Incidence of venous thromboembolism and use of anticoagulation in hematological malignancies: Critical review of the literature. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2018; 124: 41–50. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2018.02.003
57. Pihusch R., Salat C., Schmidt E. et al. Hemostatic complications in bone marrow transplantation: a retrospective analysis of 447 patients. *Transplantation.* 2002; 74(9): 1303–9. DOI: 10.1097/01.TP.0000034029.14082.1B
58. Gerber D.E., Segal J.B., Levy M.Y. et al. The incidence of and risk factors for venous thromboembolism (VTE) and bleeding among 1514 patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: implications for VTE prevention. *Blood.* 2008; 112(3): 504–10. DOI: 10.1182/blood-2007-10-117051
59. Zhang X.-H., Feng F.-E., Han W. et al. High-dose corticosteroid associated with catheter-related thrombosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Thromb Res.* 2016; 144: 6–11. DOI: 10.1016/j.thromres.2016.04.017
60. Herishanu Y., Misgav M., Kirgner I. et al. Enoxaparin can be Used Safely in Patients with Severe Thrombocytopenia due to Intensive Chemotherapy Regimens. *Leuk. Lymphoma.* 2004; 45(7): 1407–11. DOI: 10.1080/10428190410001663671
61. Drakos P.E., Nagler A., Or R. et al. Low molecular weight heparin for Hickman catheter-induced thrombosis in thrombocytopenic patients undergoing bone marrow transplantation. *Cancer.* 1992; 70(7): 1895–8.
62. Young A., Marshall A., Thirlwall J. et al. Anticoagulation Therapy in Selected Cancer Patients at Risk of Recurrence of Venous Thromboembolism: Results of the Select-DTM Pilot Trial. *Blood.* 2017; 130(Suppl. 1): 625. DOI: 10.1182/blood.V130.Suppl_1.625.625
47. B. Braun Melsungen AG. Certofix® protect. Catheter-related infections and their prevention. <https://www.bbraun.com/content/dam/catalog/bbraun/bbraunProductCatalog/S/AEM2015/en-01/b3/certofix-protectscientificbrochure.pdf.bb-.63070800/certofix-protectscientificbrochure.pdf>
48. Ramritu P., Halton K., Collignon P. et al. A systematic review comparing the relative effectiveness of antimicrobial-coated catheters in intensive care units. *Am. J. Infect. Control.* 2008; 36(2): 104–17. DOI: 10.1016/j.ajic.2007.02.012
49. Kalfon P., de Vaumas C., Samba D. et al. Comparison of silver-impregnated with standard multi-lumen central venous catheters in critically ill patients. *Crit. Care Med.* 2007; 35(4): 1032–9. DOI: 10.1097/01.CCM.0000259378.53166.1B
50. Lorente L. Antimicrobial-impregnated catheters for the prevention of catheter-related bloodstream infections. *World J. Crit. Care Med.* 2016; 5(2): 137–42. DOI: 10.5492/wjccm.v5.i2.137
51. Saris A., van Der Meer P.F., Meijer S. et al. The Role of Platelets in the Induction of Alloimmunization after Platelet Transfusion. *Blood.* 2017; 130 (Suppl. 1): 3726
52. Serafimidis K., Sakorafas G.H., Konstantoudakis G. et al. Ultrasound-guided catheterization of the internal jugular vein in oncologic patients; Comparison with the classical anatomic landmark technique: A prospective study. *Int. J. Surg.* 2009; 7(6): 526–8. DOI: 10.1016/j.ijssu.2009.08.011
53. Milling T.J., Rose J., Briggs W.M. et al. Randomized, controlled clinical trial of point-of-care limited ultrasonography assistance of central venous cannulation: The Third Sonography Outcomes Assessment Program (SOAP-3) Trial. *Crit. Care Med.* 2005; 33(8): 1764–9. DOI: 10.1097/01.CCM.0000171533.92856.E5
54. Joks M., Czyż A., Popławski D., Komarnicki M. Incidence and risk factors for central venous catheter-related thrombosis in hematological patients. *Med. Oncol.* 2014; 31(1): 772. DOI: 10.1007/s12032-013-0772-8
55. Van Rooden C.J., Schippers E.F., Barge R.M.Y. et al. Infectious complications of central venous catheters increase the risk of catheter-related thrombosis in hematology patients: A prospective study. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(12): 2655–60. DOI: 10.1200/JCO.2005.05.002
56. Annibali O., Napolitano M., Avvisati G., Siragusa S. Incidence of venous thromboembolism and use of anticoagulation in hematological malignancies: Critical review of the literature. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2018; 124: 41–50. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2018.02.003
57. Pihusch R., Salat C., Schmidt E. et al. Hemostatic complications in bone marrow transplantation: a retrospective analysis of 447 patients. *Transplantation.* 2002; 74(9): 1303–9. DOI: 10.1097/01.TP.0000034029.14082.1B
58. Gerber D.E., Segal J.B., Levy M.Y. et al. The incidence of and risk factors for venous thromboembolism (VTE) and bleeding among 1514 patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: implications for VTE prevention. *Blood.* 2008; 112(3): 504–10. DOI: 10.1182/blood-2007-10-117051
59. Zhang X.-H., Feng F.-E., Han W. et al. High-dose corticosteroid associated with catheter-related thrombosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Thromb Res.* 2016; 144: 6–11. DOI: 10.1016/j.thromres.2016.04.017
60. Herishanu Y., Misgav M., Kirgner I. et al. Enoxaparin can be Used Safely in Patients with Severe Thrombocytopenia due to Intensive Chemotherapy Regimens. *Leuk. Lymphoma.* 2004; 45(7): 1407–11. DOI: 10.1080/10428190410001663671
61. Drakos P.E., Nagler A., Or R. et al. Low molecular weight heparin for Hickman catheter-induced thrombosis in thrombocytopenic patients undergoing bone marrow transplantation. *Cancer.* 1992; 70(7): 1895–8.
62. Young A., Marshall A., Thirlwall J. et al. Anticoagulation Therapy in Selected Cancer Patients at Risk of Recurrence of Venous Thromboembolism: Results of the Select-DTM Pilot Trial. *Blood.* 2017; 130(Suppl. 1): 625. DOI: 10.1182/blood.V130.Suppl_1.625.625

63. Taylor R.W., Palagiri A. V. Central venous catheterization. Crit. Care Med. 2007; 35(5): 1390–6. DOI: 10.1200/JCO.2018.78.8034
64. Goossens G.A. Flushing and Locking of Venous Catheters: Available Evidence and Evidence Deficit. Nurs. Re.s Pract. 2015; 2015: 985686. DOI: 10.1155/2015/985686

Информация об авторах

Спирин Михаил Васильевич, врач отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: mvspirin@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7048-060X>

Галстян Геннадий Мартинович*, доктор медицинских наук, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: gengalst@gmail.com, тел.: +7 (495) 612-48-59; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8818-8949>

Дроков Михаил Юрьевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным и дневным стационарами в составе отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: mdrokov@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9431-8316>

Кузьмина Лариса Анатольевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: Kuzmina.L@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

Клясова Галина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии, e-mail: Klyasova.g@blood.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

Паровичникова Елена Николаевна, доктор медицинских наук, руководитель отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: parovichnikova@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

63. Taylor R.W., Palagiri A. V. Central venous catheterization. Crit. Care Med. 2007; 35(5): 1390–6. DOI: 10.1200/JCO.2018.78.8034
64. Goossens G.A. Flushing and Locking of Venous Catheters: Available Evidence and Evidence Deficit. Nurs. Re.s Pract. 2015; 2015: 985686. DOI: 10.1155/2015/985686

Information about the authors

Mikhail V. Spirin, Physician, Resuscitation and Intensive Care Unit, National Research Center for Hematology, e-mail: mvspirin@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7048-060X>

Gennady M. Galstyan*, Dr. Sci. (Med.), Head of the Resuscitation and Intensive Care Unit, National Research Center for Hematology, e-mail: gengalst@gmail.com, tel.: +7 (495) 612-48-59; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8818-8949>

Mikhail Yu. Drovkov, Cand. Sci. (Med.), Researcher, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation with 24-hour and day in-patient facilities, Department for Chemotherapy of Hematological Malignancies, Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology, e-mail: mdrokov@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9431-8316>

Larisa A. Kuzmina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology, e-mail: Kuzmina.L@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

Galina A. Klyasova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Laboratory of Clinical Bacteriology, Mycology and Antibiotic Therapy National Research Center for Hematology, e-mail: Klyasova.g@blood.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

Elena N. Parovichnikova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology, e-mail: parovichnikova@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Савченко Валерий Григорьевич, доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: director@blood.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

Valery G. Savchenko, Dr. Sci. (Med.), RAS Academician, Prof., Head of the National Research Center for Hematology,
e-mail: director@blood.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 01.07.2019

Принята к печати: 12.09.2019

*** Corresponding author**

Received 01 Jul 2019

Accepted 12 Sep 2019

УЛЬТРАЗВУКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТОЛЩИНЫ СТЕНКИ КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ РЕАКЦИЕЙ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» С ПОРАЖЕНИЕМ КИШЕЧНИКА

Дроков М. Ю.*, Дубняк Д. С., Яцык Г. А., Киреева А. А., Пырикова О. В., Кузьмина Л. А., Попова Н. Н., Васильева В. А., Масликова У. В., Паровичникова Е. Н.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток является терапией выбора многих больных злокачественными заболеваниями системы крови. Одним из наиболее тяжелых осложнений у них является острая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) с поражением кишечника. Однако принятый в настоящее время в качестве диагностического критерия объем стула за сутки не всегда позволяет вовремя установить диагноз.

Цель — исследовать возможность применения ультразвукового исследования кишечника для диагностики острой РТПХ с поражением кишечника.

Материалы и методы. В исследование было включено 50 больных, перенесших трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. У 40 имелись клинические признаки РТПХ с поражением кишечника (диарея >500 мл/сут). Контрольная группа включала 10 больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, у которых отсутствовали признаки поражения желудочно-кишечного тракта. Всем больным проводили ультразвуковое измерение толщины стенки кишечника.

Результаты. Было сформировано 3 группы больных: больные с острой РТПХ, диареей вирусного или инфекционного генеза, диареей вследствие токсического воздействия химиопрепаратов. По результатам исследования у больных с острой РТПХ стенки всех отделов кишечника были значимо толще, по сравнению с контрольной группой и с больными с диареей вследствие других причин.

Заключение. Утолщение стенки слепой кишки более 3,25 мм, выявленное ультразвуковым методом, может использоваться в качестве диагностического признака РТПХ с поражением кишечника.

Ключевые слова: трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, реакция «трансплантат против хозяина», кишечник, ультразвуковое исследование

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Дроков М.Ю., Дубняк Д.С., Яцык Г.А., Киреева А.А., Пырикова О.В., Кузьмина Л.А., Попова Н.Н., Васильева В.А., Масликова У.В., Паровичникова Е.Н. Ультразвуковое исследование толщины стенки кишечника у больных острой реакцией «трансплантат против хозяина» с поражением кишечника. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 412–423. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-412-423>

ULTRASOUND EXAMINATION OF BOWEL WALL THICKNESS IN PATIENTS WITH ACUTE INTESTINAL GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE

Drokov M. Yu.* , Dubnyak D. S., Yatsyk G. A., Kireeva A. A., Pyrikova O. V., Kuzmina L. A., Popova N. N., Vasilyeva V. A., Maslikova U. V., Parovichnikova E. N.

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

ABSTRACT

Introduction. Haematopoietic stem cell transplantation is the treatment of choice in many patients with malignant diseases of the blood system. In such patients, acute graft-versus-host disease (GvHD) associated with intestinal damage constitutes one of the most serious complications. However, the volume of stool per day, which is currently used as the main diagnostic criterion for such conditions, does not always permit a timely diagnosis.

Aim. To study the possibility of using intestine ultrasound examination for the diagnosis of acute intestinal GvHD.

Materials and methods. The study included 50 patients having undergone transplantation of allogeneic haematopoietic stem cells, 40 of whom showed clinical signs of intestinal GvHD (diarrhoea > 500 ml/day). The control group included 10 patients who had undergone transplantation of allogeneic haematopoietic stem cells and exhibited no signs of gastrointestinal events. All patients underwent ultrasound measurement of intestinal wall thickness.

Results. Patients were divided into three groups: those with acute GvHD, those with diarrhoea of viral or infectious origin, those with diarrhoea caused by the toxic effects of chemotherapy drugs. It is shown that the walls of all intestinal sections were significantly thicker in patients with acute GvHD as compared to the control group and patients with diarrhoea caused by other reasons.

Conclusion. The thickening of the caecum wall (more than 3.25 mm) as detected using the ultrasound method can be used as a diagnostic sign of intestinal GvHD.

Keywords: hemopoietic stem cell transplantation, graft versus host disease, intestine, ultrasound

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Drokov M.Yu., Dubnyak D.S., Yatsyk G.A., Kireeva A.A., Pyrikova O.V., Kuzmina L.A., Popova N.N., Vasilyeva V.A., Maslikova U.V., Parovichnikova E.N. Ultrasound examination of bowel wall thickness in patients with acute intestinal graft-versus-host disease. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(4): 412–423 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-412-423>

Введение

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является «золотым стандартом» лечения многих злокачественных заболеваний системы крови. Согласно данным Европейской организации по трансплантации стволовых клеток и костного мозга (European Blood and Marrow Transplantation — EBMT) за 2014 г., в 656 трансплантационных центрах в 47 странах выполнено 15 765 (43 %) алло-ТГСК и 20 704 (57 %) трансплантаций аутологичных стволовых клеток [1].

Наиболее частым и серьезным осложнением алло-ТГСК, которое снижает показатели общей выживаемости, является острая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Летальность при развитии этого осложнения варьирует от 28 %, в случае острой РТПХ средней степени тяжести, до 92 % — при тяжелой форме острой РТПХ [2, 3].

По данным Н.Ж. Khoury и соавт. [4], частота выявления тяжелой формы РТПХ (III–IV степени)

постепенно снижается с 56 % в период с 1999 по 2001 г., 47 % в 2002–2005 гг. и 37 % — в 2006–2012 гг. Несмотря на это, число случаев РТПХ с поражением кишечника значительно выросло с 11 % в 1999–2001 гг. до 24 % в 2006–2012 гг. Острая РТПХ с поражением кишечника является наиболее тяжелой формой аллоиммунных осложнений после алло-ТГСК. По данным С. Castilla-Llorente и соавт. [5], лишь 25 % больных с тяжелой степенью острой РТПХ с поражением кишечника остаются в живых в течение двух лет после установления этого диагноза.

Вопросы терапии этого осложнения также до конца не определены, в частности при тяжелых формах РТПХ с поражением кишечника, рефрактерных к терапии глюкокортикоидными гормонами. Во многом успех терапии определяется ранним началом лечения, что, в свою очередь, зависит от своевременной диагностики этого осложнения. Диагностические критерии не всегда позволяют быстро и точно установить диагноз острой РТПХ с поражением кишечника и начать терапию глюкокортикоидными гормонами. В диагностические критерии острой РТПХ с поражением кишечника входит лишь объем стула, что для больных после алло-ТГСК не является высокоспецифичным критерием [6–8]. Часто вместе с клинической картиной дебюта острой РТПХ с поражением кишечника наблюдаются проявления различных инфекционных осложнений, в первую очередь вирусного генеза, а также проявления токсичности недавно проведенного предтрансплантационного кондиционирования. Отсутствие специфических критериев увеличивает время, затрачиваемое на установку окончательного диагноза, что приводит к позднему началу иммуносупрессивной терапии.

Имеются множество работ [9–12] по применению ультразвукового исследования (УЗИ) для диагностики таких воспалительных заболеваний кишечника, как болезнь Крона, неспецифический язвенный колит. В то же время количество публикаций, посвященных ультразвуковой диагностике острой РТПХ с поражением кишечника, крайне ограничено, и чаще всего они представляют собой описание единичных случаев [13].

Цель работы — исследовать возможность применения ультразвукового исследования кишечника для диагностики острой РТПХ с поражением кишечника.

Больные и методы

Больные

В проспективное исследование, проведенное с 2014 по 2017 г., было включено 50 больных заболеваниями системы крови, перенесших алло-ТГСК. У 40 больных, включенных в исследование, были клинические признаки острой РТПХ с поражением кишечника (диарея

более 500 мл/сут, развившаяся после алло-ТГСК в период ожидаемого приживления трансплантата). Всем больным было выполнено УЗИ кишечника, вирусологическое исследование образцов кала и крови, а также определение наличия клостридиального токсина в образцах стула.

Группа контроля включала 10 больных, перенесших алло-ТГСК, у которых на момент исследования отсутствовали признаки диареи, а также не было проявлений поражения кишечника инфекционного или опухолевого генеза. УЗИ кишечника больным из этой группы было выполнено после алло-ТГСК в сроки до +100 дня. Характеристика больных приведена в таблице 1.

Диагностика острой РТПХ

Для диагностики, оценки стадии и степени острой РТПХ использовали критерии Н. Glucksberg и соавт. [6], основанные на клинических признаках острой РТПХ. В настоящем исследовании диагноз острой РТПХ с поражением кишечника также устанавливался согласно этим критериям, т.е. только на основании клинической картины (объем стула за сутки >500 мл), после исключения других причин диареи (герпесвирусной инфекции; колит, ассоциированный с *Clostridium difficile*; токсический энтероколит). Определение токсина *Clostridium difficile* в кале проводилось иммуноферментным методом (R Biopharm, Германия). Для определения ДНК герпесвирусов в кале и крови методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовался набор реагентов «АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» («Интерлаб сервис», Россия). Все исследования выполнялись одновременно.

Диагноз цитомегаловирусного (ЦМВ) колита устанавливали на основании выявления ДНК ЦМВ методом ПЦР, проведенной с образцами стула и/или крови. При отрицательных результатах указанных выше исследований и при регрессе диареи без проведения дополнительной иммуносупрессивной терапии считали, что диарея вызвана токсичностью.

Согласно современным рекомендациям, результаты биопсии и эндоскопического исследования пораженного органа не входят в диагностические критерии РТПХ [6, 14], более того, рекомендуется не учитывать результаты биопсии для диагностики РТПХ [15]. Несмотря на это, у 28 больных была выполнена биопсия кожи (при сочетанном поражении кожи и кишечника) или слизистой одного из участков желудочно-кишечного тракта (двенадцатиперстной кишки, толстой кишки, прямой кишки). Однако, учитывая, что гистологическая диагностика РТПХ с поражением кишечника сложна и не являлась целью данной работы, результаты биопсии пораженных органов в работе не представлены и не обсуждаются.

Таблица 1. Характеристика больных, включенных в исследование
Table 1. Characteristics of patients included in the study

Характеристики Characteristics	Больные, перенесшие алло-ТГСК Patients after allo-HSCT (n = 40)		Контрольная группа Control group (n=10)
	больные с диареей из-за острой РТПХ (n = 29) Patients with diarrhoea caused by acute GvHD (n = 29)	больные с диареей, не связанной с острой РТПХ (n = 11) Patients with diarrhoea not related to GvHD (n = 11)	
Возраст, медиана (разброс), лет Age, median (range), years	37 (19–64)	32 (21–58)	40 (18–55)
Мужчины/женщины, n Males / Females, n	16/13	6/5	3/7
Диагноз Diagnosis			
ОМЛ, n (%) AML, n (%)	13 (44,9)	4 (36,4)	6 (60)
ОЛЛ, n (%) ALL, n (%)	6 (20,7)	3 (27,3)	2 (20)
ХМЛ, n (%) CML, n (%)	3 (10,3)	-	-
МДС, n (%) MDS, n (%)	6 (20,7)	1 (9)	-
ЛПЗ, n (%) LPD, n (%)	1	3 (27,3)	2 (20)
Вид трансплантации Transplantation type			
Родственный совместимый, n (%) Match related, n (%)	12 (41,3)	2 (18,1)	3 (30)
Неродственный совместимый, n (%) Match unrelated, n (%)	9 (31)	3 (27,4)	4 (40)
Неродственный частично совместимый, n (%) Mismatch unrelated, n (%)	7 (24,2)	4 (36,4)	3 (30)
Гаплоидентичный, n (%) Haploidentical, n (%)	1 (3,5)	2 (18,1)	-
Режим кондиционирования Conditioning regimen			
Миелоаблативный, n (%) Myeloablative, n (%)	5 (17,2)	3 (27,3)	4 (40)
Пониженной интенсивности, n (%) Reduced-intensity, n (%)	24 (82,8)	8 (72,7)	6 (60)
Источник трансплантата Transplant source			
Костный мозг, n (%) Bone marrow, n (%)	14 (48,2)	8 (72,7)	7 (70)
Гемопоэтические стволовые клетки крови, n (%) Haematopoietic stem cells, n (%)	15 (51,8)	3 (27,7)	3 (30)
Объем диареи, медиана (разброс), мл Diarrhoea volume, median (range), ml	700 (500–3500)	900 (500–2500)	-
Время от даты трансплантации до даты проведения исследования, медиана (разброс), дней Interval between the transplant date and the ultrasound examination, median (range), days	76 (15–272)	12 (5–62)	20 (13–61)

Примечание. ОМЛ — острый миелоидный лейкоз, ОЛЛ — острый лимфобластный лейкоз, ХМЛ — хронический миелоидный лейкоз, МДС — миелодиспластический синдром, ЛПЗ — лимфопролиферативные заболевания.

Note. AML — acute myeloid leukaemia, ALL — acute lymphoid leukaemia, CML — chronic myeloid leukaemia, MDS — myelodysplastic syndrome, LPD — lymphoproliferative diseases.

УЗИ

УЗИ было выполнено в течение 72 ч от момента возникновения диареи объемом более 500 мл/сут. Все больные на момент исследования не употребляли пищу или воду в течение нескольких дней. УЗИ с целью оценки толщины стенок кишечника было выполнено с использованием конвексного датчика с частотой 2,5–5 МГц на аппарате Aloka, Alfa 10 (Япония) в положении больного лежа на спине. Толщину стенок различных участков гастроинтестинального тракта (тонкой, слепой, восходящего, поперечного и нисходящего отделов толстой кишки) оценивали по методу, описанному Н.Р. Haber и соавт. [12]. Ультразвуковые изображения тонкой кишки и восходящего отдела толстой кишки у больного из контрольной группы и у больного с диареей вследствие острой РТПХ представлены на рисунках 1 и 2. Поскольку была поставлена задача разработки универсального диагностического маркера РТПХ с поражением кишечника, который может быть выражен количественно, не учитывались такие параметры, как толщина отдельных слоев, четкость/нечеткость границ между ними, цветное доплеровское сканирование, ввиду их низкой специфичности.

Статистический анализ. Анализ данных проводили с использованием R версии 3.5.2 (Core Team, 2018). Для проверки нормальности распределения исследуемых выборок был использован критерий Шапиро—Уилка. Учитывая распределение, отличное от нормального (тест Шапиро—Уилка, $p = 0.0001$), в дальнейшем для оценки различий между двумя не-

зависимыми выборками был использован U -критерий Манна—Уитни, для оценки трех и более — критерий Краскела—Уоллиса. Для анализа таблиц сопряженности использовали критерий хи-квадрат. При анализе таблиц 2×2 был использован точный тест Фишера. Диагностическую значимость метода оценивали по ROC-кривой. ROC-анализ также использовали для оценки чувствительности и специфичности УЗИ. Использованы также методы описательной статистики. Порог статистической значимости p принят равным 0,05.

Результаты

Группы больных были сбалансированы по таким исследованным признакам, как пол, возраст, диагноз, характеристика донора, режим кондиционирования, источник трансплантата и объем диареи.

С целью исключения влияния на толщину стенки кишки таких факторов, как режим кондиционирования и источник трансплантата, было оценено влияние этих факторов в контрольной группе. Связи между толщиной стенки кишечника, определяемой методом УЗИ, и этими факторами не найдено ($p > 0,05$).

Все больные после верификации причины диареи были разделены на три группы. В первую группу были включены больные, у которых причиной диареи была острая РТПХ с поражением кишечника ($n = 29$). Медиана времени диагностики острой РТПХ от момента трансплантации составила 74 (15–272) дня. Распределение по стадиям острой РТПХ было следующим: стадия 1 (500–1000 мл/сут) — 58,6 %

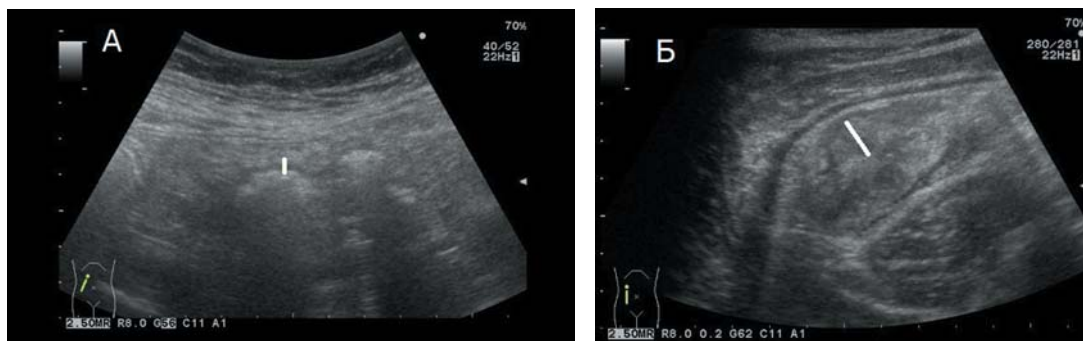


Рисунок 1. Восходящий отдел ободочной кишки: А — нормальная толщина стенок; Б — больной с диареей, обусловленной РТПХ
Figure 1. Ascending colon: A — normal wall thickness; B — patients with diarrhoea caused by acute GVHD

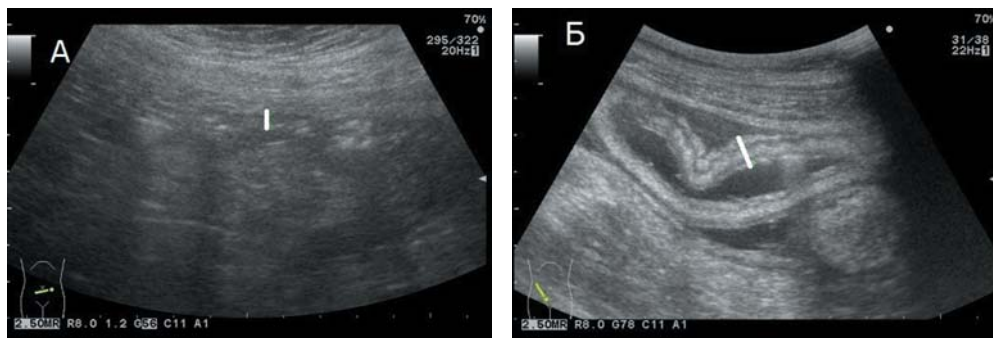


Рисунок 2. Тонкая кишка: А — нормальная толщина стенок; Б — больной с диареей, не связанной с РТПХ
Figure 2. Small intestine: A — normal wall thickness; B — patients with diarrhoea not related to GVHD

($n = 17$), стадия 2 (1000–1500 мл/сут) — 17,2 % ($n = 5$), стадия 3 (1500–2000 мл/сут) — 10,3 % ($n = 3$) и стадия 4 (2000 мл/сут и более) — 13,8 % ($n = 4$). Помимо развития у больных клинической картины острой РТПХ с поражением кишечника, у 8 (27,6 %) из них была вовлечена также кожа, у 17,2 % ($n = 5$) — печень. У 16 (55,2 %) из 29 больных из группы острой РТПХ с поражением кишечника был поражен только кишечник, у 7 больных РТПХ с поражением кишечника дебютировала после трансфузии лимфоцитов доноров, которая была выполнена в связи со смешанным химеризмом, что объясняет поздние сроки диагностики острой РТПХ.

Во вторую группу были включены 11 больных с диареей, не связанной с РТПХ. В этой группе у 2 больных диарея возникла вследствие ЦМВ колита, что было верифицировано с помощью обнаружения ДНК ЦМВ методом ПЦР, проведенной с образцами кала и/или крови; у 8 больных диарея была обусловлена предшествующими режимами кондиционирования. У них ПЦР исследование не выявило ДНК вирусов группы герпеса. Токсин *Clostridium difficile* выявлен также не был. Диарея у этих больных регрессировала без проведения дополнительной иммуносупрессивной терапии.

Для определения зависимости между объемом диареи и толщиной стенки различных участков кишечника в различных анализируемых группах была построена диаграмма рассеяния. Диаграммы рассеяния между толщиной различных участков кишечника и объемом стула в различных анализируемых группах представлены на рисунке 3.

Для анализа зависимости между объемом стула и толщиной стенки кишечника в различных отделах был выполнен корреляционный анализ. Результаты

для больных с диареей объемом ≥ 500 мл/сут в зависимости от причины представлены на рисунке 4.

Не найдено корреляции между толщиной стенки различных участков кишечника и объемом диареи ($p > 0,05$). Выявлено, что утолщение стенок кишечника при возникновении диареи после алло-ТГСК не зависело от ее причины и носило распространенный характер, т.е. имелась прямая корреляция между толщиной стенок различных участков кишечника (с увеличением толщины стенки одного отдела кишки происходило увеличение толщины стенки и в остальных).

Влияние острой РТПХ на толщину стенки кишечника

Толщина стенки всех отделов кишечника у больных с острой РТПХ была значимо больше по сравнению с таковой у больных из контрольной группы, у которых были нормальные значения показателей толщины стенки различных участков гастроинтестинального тракта, а также у больных с диареей другого неиммунного генеза (табл. 2).

ROC-анализ

Был выполнен ROC-анализ для оценки возможности использования УЗИ толщины стенки кишечника как метода верификации причины диареи у больных после алло-ТГСК ($n = 40$). Площадь под кривой (AUC) с 95 % доверительным интервалом для тонкой, слепой, восходящей, поперечной и нисходящих отделов кишечника составила: 0,74 (0,59–0,9); 0,87 (0,76–0,99); 0,77 (0,61–0,93); 0,8 (0,64–0,95); 0,72 (0,56–0,88) соответственно. Изображение ROC-кривой представлено на рисунке 5.

Результаты ROC-анализа показали, что при ультразвуковом измерении толщины стенки слепой кишки показатель 3,25 мм (чувствительность — 79,31 %;

Таблица 2. Результаты измерения толщины стенки различных участков кишечника у больных с диареей и без нее. Данные представлены в виде медианы, минимального и максимального значения

Table 2. Results of measuring wall thickness in different parts of the intestine in patients with and without diarrhoea. The data is presented as a median (range). Significant differences are marked by an asterisk

Толщина стенки Wall thickness	Больные с диареей вследствие острой РТПХ ($n = 29$) Patients with diarrhoea caused by acute GvHD ($n = 29$)	Больные с диареей, не связанной с острой РТПХ ($n = 11$) Patients with diarrhoea not related to acute GvHD ($n = 11$)	Контрольная группа ($n = 10$) Control group ($n = 10$)	p
Тонкая кишка, мм Small intestine, mm	3 (1,5–11)	2,5 (1–4)	2 (2–3)	0,008*
Слепая кишка, мм Caecum, mm	3,5 (2–12)	2 (1,5–4,5)	2 (2–3)	0,001*
Восходящая кишка, мм Ascending colon, mm	3 (2–13)	2 (1,5–6)	2 (2–3)	0,002*
Поперечная кишка, мм Transverse colon, mm	3 (2–11)	2 (1,5–6)	2 (2–3)	0,001*
Нисходящая кишка, мм Descending colon, mm	3 (2–11)	2,5 (2–4)	2 (2–3)	0,002*

Примечание. * — $p < 0,05$.

Note. * — $p < 0,05$.

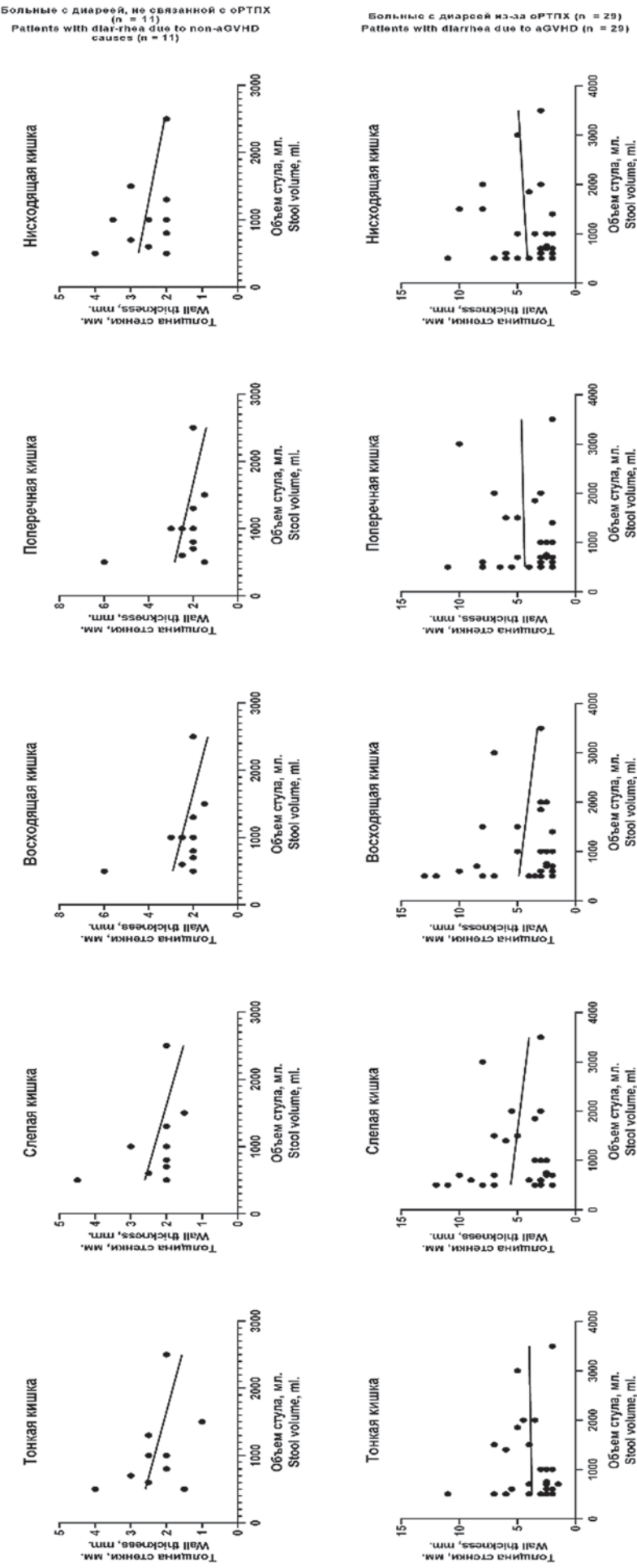


Рисунок 3. Зависимость между объемом диареи и толщиной стенки различных участков кишечника в различных группах бо́льных
Figure 3. Correlation between the volume of diarrhoea and the wall thickness of different intestinal sections in different patient groups

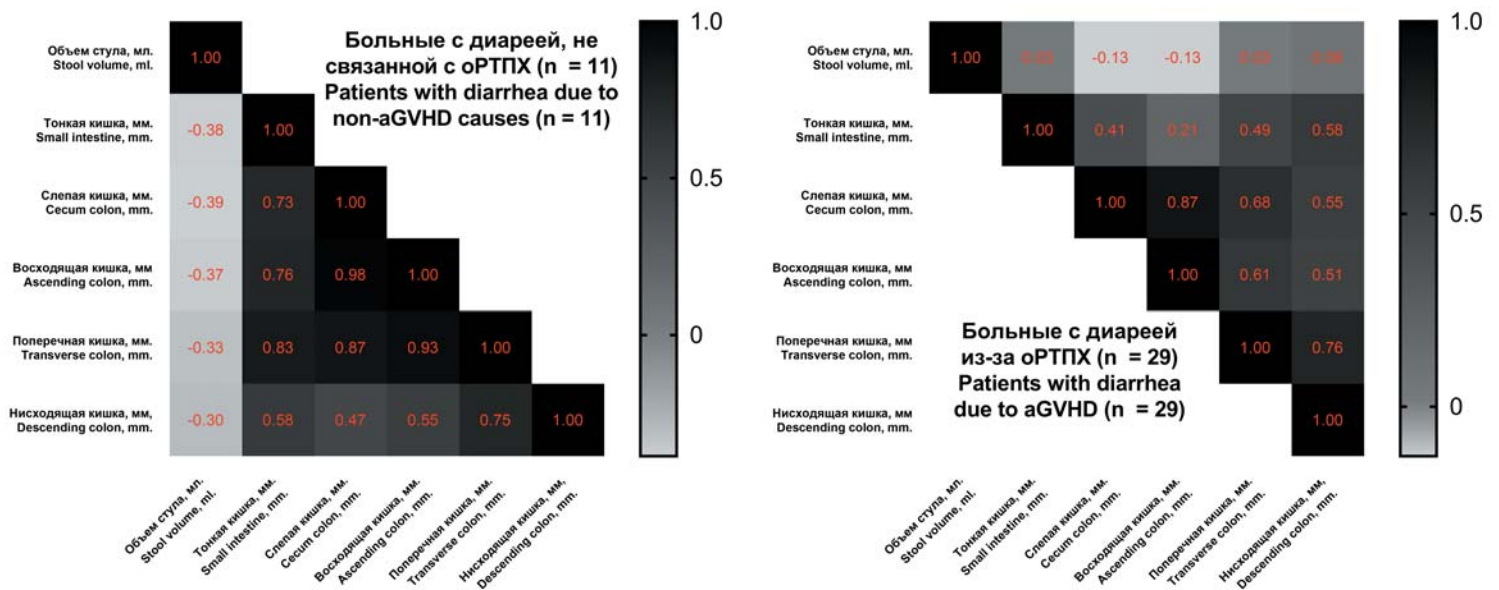


Рисунок 4. Коэффициенты корреляции между объемом стула и толщиной стенки кишечника у больных с диареей после алло-ТГСК. Цифрами отображены коэффициенты корреляции

Figure 4. Correlation coefficients between stool volume and intestinal wall thickness for patients after allo-HSCT with diarrhoea. The numbers show the correlation coefficients

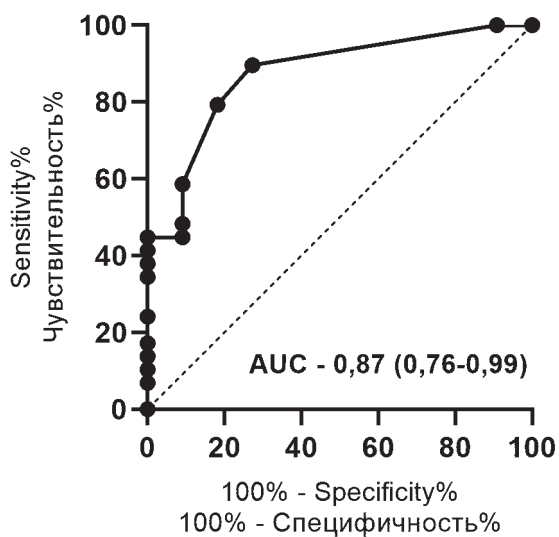


Рисунок 5. ROC-кривая для предсказания острой РТПХ с поражением кишечника на основании толщины стенки слепой кишки

Figure 5. ROC curve for predicting acute intestinal GvHD on the basis of the wall thickness of the caecum

специфичность — 81,82 %) может быть использован для проведения дифференциальной диагностики диареи у больных после алло-ТГСК, а именно диареи вследствие острой РТПХ с поражением кишечника от диареи другой этиологии.

Обсуждение

В патогенезе острой РТПХ выделяют несколько этапов: активация Т-клеток, их пролиферация, миграция в органы-мишени и реализация своего цитотоксического потенциала. Один из них — миграция

Т-клеток в органы-мишени, что вызывает локальное повреждение и отек тканей [16]. Миграция Т-клеток в кишечник и повреждение тканей приводит к развитию массивного отека стенки кишки, который может быть визуализирован с помощью инструментальных методов диагностики. В начале 2000-х годов велись исследования по использованию компьютерной томографии (КТ) для диагностики острой РТПХ с поражением кишечника [17, 18]. По данным I.D.C. Kirkpatrick и соавт. [18], при проведении КТ исследования у больных с острой РТПХ с поражением кишечника в 89 %

случаев отмечено контрастное усиление стенки кишечника. Сообщалось, что для острой РТПХ характерно утолщение стенок кишечника в среднем до 5 мм. Однако исследователи не выявили значимых различий между результатами КТ кишечника при его поражении РТПХ и неиммунными причинами [18]. Одним из недостатков метода КТ по сравнению с предлагаемым в настоящей работе является ограниченность его воспроизводимости и трудности проведения перорального контрастирования у больных с диареей. По этим причинам метод КТ так и не нашел широкого применения в диагностике острой РТПХ с поражением кишечника.

Другой попыткой неинвазивной диагностики острой РТПХ с поражением кишечника стало использование позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с фтордезоксиглюкозой. M. Stelljes и соавт. [16] показали сначала на мышах, а потом и в исследованиях на больных, что при проведении ПЭТ у больных с острой РТПХ фтордезоксиглюкоза активно включается в ткани кишечника. Это аномальное включение фтордезоксиглюкозы было отмечено в 82 % случаев острой РТПХ с поражением кишечника, в то время как у больных без РТПХ такого не наблюдалось. C. Bodet-Milin и соавт. [19] использовали этот феномен в качестве предиктора развития РТПХ с поражением кишечника, при этом чувствительность метода составила 81 %, специфичность — 90 %. Однако этот способ не может рассматриваться как общедоступный метод диагностики поражения кишечника в рамках РТПХ у больных, перенесших алло-ТГСК.

В настоящее время УЗИ является недорогим и широко используемым методом диагностики различных воспалительных заболеваний кишечника [9, 10]. Отсутствие лучевой нагрузки, что важно у больных гемобластозами, особенно детей, низкая себестоимость и повсеместная доступность являются несомненными преимуществами УЗИ и делают его крайне привлекательным для применения в трансплантационных центрах.

В настоящем исследовании показано, что УЗИ желудочно-кишечного тракта может быть одним из основных методов диагностики острой РТПХ с поражением кишечника. Важным является тот факт, что пол и возраст не влияли на толщину стенки кишечника [20]. Выявлены достоверные различия в толщине стенки кишечника у больных после алло-ТГСК без РТПХ с поражением кишечника и у больных с острой РТПХ кишечника ($p < 0,05$). Схожие результаты, но на меньшей выборке больных и без указания границы отсечки (cut-off) были получены в работе E. Calabrese и соавт. [13]. В работе C. Gorg и соавт. [21] была выявлена корреляция между стадиями острой РТПХ, оцененной по объему диареи, и толщиной стенки кишечника. В настоящем исследовании такой взаимосвязи не было выявлено, что можно объяснить лишь низкой

статистической мощностью исследования немецких авторов [21].

Высокая чувствительность и специфичность оценки толщины стенки слепой кишки с помощью УЗИ как маркера острой РТПХ с поражением кишечника, которые были установлены в настоящей работе, описаны в работе S.A. Klein и соавт. [22]. Другие параметры, а именно результаты цветного доплеровского сканирования, по данным тех же авторов, являются малоспецифичными и не могут быть использованы как основа для разработки диагностического маркера [22]. Эти же авторы впервые обратили внимание на илеоцекальный регион как «зону интереса» у больных с острой РТПХ с поражением кишечника. По данным настоящего исследования, толщина стенки кишки более 3,25 мм в этой области может быть использована для дифференциальной диагностики между диареей при острой РТПХ с поражением кишечника и диареей другого генеза. По данным D. Weber и соавт. [23], толщина более 3 мм также рассматривалась как критерий острой РТПХ с поражением кишечника, однако с целью повышения чувствительности и специфичности методики были дополнительно использованы эластография, УЗИ с контрастированием, а также различные сыровоточные биомаркеры. Это позволило достичь 100 % чувствительности и 100 % специфичности. Однако комбинация многочисленных методик и исследуемых параметров лишает УЗИ главного преимущества — простоты и доступности.

Исследование различных аспектов острой РТПХ с поражением кишечника всегда затрудняется тем, что, несмотря на высокую частоту развития диареи у больных после алло-ТГСК, сложно найти группу сравнения для больных с острой РТПХ с поражением кишечника. Включение в анализ больных с диареей менее 500 мл/сут и тех, у кого диарея развилась сразу после алло-ТГСК, неоправданно, так как в этих клинических ситуациях сложно заподозрить РТПХ. Такие же сложности возникают при включении в группу сравнения больных с клостридиальными колитами, так как у них в воспалительный процесс вовлекается только толстая кишка. При острой РТПХ с поражением кишечника, как правило, процесс носит генерализованный характер. Именно это, по всей видимости, и объясняет крайне малые группы сравнения практически во всех работах по изучению острой РТПХ кишечника.

Таким образом, дифференциальный диагноз острой РТПХ с поражением кишечника часто является непостоянной задачей для каждого трансплантационного центра. В предлагаемом методе УЗИ кишечника у больных с острой РТПХ с подозрением на поражение кишечника толщина стенки слепой кишки может рассматриваться как диагностический маркер. Метод, несмотря на простоту и доступность, обладает достаточной чувствительностью и специфичностью, что позволяет его использовать в клинической практике.

Литература

1. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P. et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant.* 2016; 51(6): 786–92. DOI: 10.1038/bmt.2016.20
2. Gratwohl A., Hermans J., Apperley J. et al. Acute graft-versus-host disease: grade and outcome in patients with chronic myelogenous leukemia. Working Party Chronic Leukemia of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood.* 1995; 86(2): 813–8.
3. Shokouhi S., Bray S., Bakhtiyari S. et al. Effects of aGVHD and cGVHD on Survival Rate in Patients with Acute Myeloid Leukemia after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Int. J. Hematol Stem Cell Res.* 2015; 9(3): 112–21.
4. Khoury H.J., Wang T., Hemmer M.T. et al. Improved survival after acute graft-versus-host disease diagnosis in the modern era. *Haematologica.* 2017; 102(5): 958–66. DOI: 10.3324/haematol.2016.156356
5. Castilla-Llorente C., Martin P.J., McDonald G.B. et al. Prognostic factors and outcomes of severe gastrointestinal GVHD after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2014; 49(7): 966–71. DOI: 10.1038/bmt.2014.69
6. Glucksberg H., Storb R., Fefer A. et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation.* 1974; 18(4): 295–304.
7. Martino R., Romero P., Subirá M. et al. Comparison of the classic Glucksberg criteria and the IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease following HLA-identical sibling stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 24(3): 283–7. DOI: 10.1038/sj.bmt.1701899
8. Rowlings P., Przepiorka D., Klein J.P. et al. IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br. J. Haematol.* 1997; 97: 855–64.
9. Самсонова Т.В. Орлова Л.П. Ультразвуковая семиотика болезни крона тонкой кишки. *Колопроктология.* 2014; 1(47): 60–8.
10. Пыков М.И., Галкина Я.А., Дёмина А.М. Ультразвуковые критерии дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника у детей. *Колопроктология.* 2017; 0(2S): 37–48.
11. Calabrese E. Bowel ultrasound for the assessment of Crohn's disease. *Gastroenterol. Hepatol. (N Y).* 2011; 7(2): 107–9.
12. Haber H.P., Benda N., Fitzke G. et al. Colonic wall thickness measured by ultrasound: striking differences in patients with cystic fibrosis versus healthy controls. *Gut.* 1997; 40(3): 406–11.
13. Calabrese E., Zorzi F., Visconti E. et al. Bowel ultrasonography as an aid for diagnosis of intestinal acute graft-versus-host-disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Dig. Liver Dis.* 2013; 45(11): 899–904. DOI: 10.1016/j.dld.2013.04.004
14. Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P. et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 15(6): 825–8.
15. Dignan F.L., Clark A., Amrolia P. et al. Diagnosis and management of acute graft-versus-host disease. *Br. J. Haematol.* 2012; 158(1): 30–45. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2012.09129.x
16. Stelljes M., Hermann S., Albring J. et al. Clinical molecular imaging in intestinal graft-versus-host disease: mapping of disease activity, prediction, and monitoring of treatment efficiency by positron emission tomography. *Blood.* 2008; 111(5): 2909–18. DOI: 10.1182/blood-2007-10-119164
17. Jones B., Fishman E., Kramer S. et al. Computed tomography of gastrointestinal inflammation after bone marrow transplantation. *Am. J. Roentgenol.* 1986; 146(4): 691–5. DOI: 10.2214/ajr.146.4.691
18. Kirkpatrick I.D.C., Greenberg H.M. Gastrointestinal Complications in the Neutropenic Patient: Characterization and Differentiation with Abdominal CT. *Radiology.* 2003; 226(3): 668–74. DOI: 10.1148/radiol.2263011932

References

1. Passweg J.R., Baldomero H., Bader P. et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant.* 2016; 51(6): 786–92. DOI: 10.1038/bmt.2016.20
2. Gratwohl A., Hermans J., Apperley J. et al. Acute graft-versus-host disease: grade and outcome in patients with chronic myelogenous leukemia. Working Party Chronic Leukemia of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood.* 1995; 86(2): 813–8.
3. Shokouhi S., Bray S., Bakhtiyari S. et al. Effects of aGVHD and cGVHD on Survival Rate in Patients with Acute Myeloid Leukemia after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Int. J. Hematol Stem Cell Res.* 2015; 9(3): 112–21.
4. Khoury H.J., Wang T., Hemmer M.T. et al. Improved survival after acute graft-versus-host disease diagnosis in the modern era. *Haematologica.* 2017; 102(5): 958–66. DOI: 10.3324/haematol.2016.156356
5. Castilla-Llorente C., Martin P.J., McDonald G.B. et al. Prognostic factors and outcomes of severe gastrointestinal GVHD after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2014; 49(7): 966–71. DOI: 10.1038/bmt.2014.69
6. Glucksberg H., Storb R., Fefer A. et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation.* 1974; 18(4): 295–304.
7. Martino R., Romero P., Subirá M. et al. Comparison of the classic Glucksberg criteria and the IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease following HLA-identical sibling stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 24(3): 283–7. DOI: 10.1038/sj.bmt.1701899
8. Rowlings P., Przepiorka D., Klein J.P. et al. IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br. J. Haematol.* 1997; 97: 855–64.
9. Samsonova T.V. Orlova L.P. Ultrasound semiotics of Crohn's disease of the small intestine. *Koloproktologiya.* 2014; 1(47): 60–8 (in Russian).
10. Pykov M.I., Galkina YaA, Demina A.M. Ultrasound criteria of differential diagnosis of inflammatory bowel disease in children. *Koloproktologiya.* 2017; 0(2S): 37–48 (in Russian).
11. Calabrese E. Bowel ultrasound for the assessment of Crohn's disease. *Gastroenterol. Hepatol. (N Y).* 2011; 7(2): 107–9.
12. Haber H.P., Benda N., Fitzke G. et al. Colonic wall thickness measured by ultrasound: striking differences in patients with cystic fibrosis versus healthy controls. *Gut.* 1997; 40(3): 406–11.
13. Calabrese E., Zorzi F., Visconti E. et al. Bowel ultrasonography as an aid for diagnosis of intestinal acute graft-versus-host-disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Dig. Liver Dis.* 2013; 45(11): 899–904. DOI: 10.1016/j.dld.2013.04.004
14. Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P. et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant.* 1995; 15(6): 825–8.
15. Dignan F.L., Clark A., Amrolia P. et al. Diagnosis and management of acute graft-versus-host disease. *Br. J. Haematol.* 2012; 158(1): 30–45. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2012.09129.x
16. Stelljes M., Hermann S., Albring J. et al. Clinical molecular imaging in intestinal graft-versus-host disease: mapping of disease activity, prediction, and monitoring of treatment efficiency by positron emission tomography. *Blood.* 2008; 111(5): 2909–18. DOI: 10.1182/blood-2007-10-119164
17. Jones B., Fishman E., Kramer S. et al. Computed tomography of gastrointestinal inflammation after bone marrow transplantation. *Am. J. Roentgenol.* 1986; 146(4): 691–5. DOI: 10.2214/ajr.146.4.691
18. Kirkpatrick I.D.C., Greenberg H.M. Gastrointestinal Complications in the Neutropenic Patient: Characterization and Differentiation with Abdominal CT. *Radiology.* 2003; 226(3): 668–74. DOI: 10.1148/radiol.2263011932

19. Bodet-Milin C., Lacombe M., Malard F. et al. 18F-FDG PET/CT for the assessment of gastrointestinal GVHD: results of a pilot study. *Bone Marrow Transplant.* 2014; 49(1): 131–7. DOI: 10.1038/bmt.2013.144
20. Haber H.P., Stern M. Intestinal ultrasonography in children and young adults: bowel wall thickness is age dependent. *J. Ultrasound Med.* 2000; 19(5): 315–21. DOI: 10.7863/jum.2000.19.5.315
21. Gorg C., Wollenberg B., Beyer J. et al. High-resolution ultrasonography in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Ann. Hematol.* 2005; 84(1): 33–9. DOI: 10.1007/s00277-004-0893-4
22. Klein S.A., Martin H., Schreiber-Dietrich D. et al. A new approach to evaluating intestinal acute graft-versus-host disease by transabdominal sonography and colour Doppler imaging. *Br. J. Haematol.* 2001; 115(4): 929–34. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2001.03221.x
23. Weber D., Weber M., Hippe K. et al. Non-invasive diagnosis of acute intestinal graft-versus-host disease by a new scoring system using ultrasound morphology, compound elastography, and contrast-enhanced ultrasound. *Bone Marrow Transplant.* 2019; 54(7): 1038–48. DOI: 10.1038/s41409-018-0381-4

Информация об авторах

Дроков Михаил Юрьевич*, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным и дневным стационарами в составе отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: mdrokov@gmail.com;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9431-8316>

Дубняк Дарья Станиславовна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: darya-dubnyak@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2253-9870>

Яцык Галина Александровна, кандидат медицинских наук, врач-рентгенолог, заведующий отделением магнитно-резонансной томографии и ультразвуковой диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: yatsyk.g@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8589-6122>

Киреева Анна Аркадьевна, врач ультразвуковой диагностики отделения магнитно-резонансной томографии и ультразвуковой диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: kireeva.a@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0376-9734>

19. Bodet-Milin C., Lacombe M., Malard F. et al. 18F-FDG PET/CT for the assessment of gastrointestinal GVHD: results of a pilot study. *Bone Marrow Transplant.* 2014; 49(1): 131–7. DOI: 10.1038/bmt.2013.144
20. Haber H.P., Stern M. Intestinal ultrasonography in children and young adults: bowel wall thickness is age dependent. *J. Ultrasound Med.* 2000; 19(5): 315–21. DOI: 10.7863/jum.2000.19.5.315
21. Gorg C., Wollenberg B., Beyer J. et al. High-resolution ultrasonography in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Ann. Hematol.* 2005; 84(1): 33–9. DOI: 10.1007/s00277-004-0893-4
22. Klein S.A., Martin H., Schreiber-Dietrich D. et al. A new approach to evaluating intestinal acute graft-versus-host disease by transabdominal sonography and colour Doppler imaging. *Br. J. Haematol.* 2001; 115(4): 929–34. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2001.03221.x
23. Weber D., Weber M., Hippe K. et al. Non-invasive diagnosis of acute intestinal graft-versus-host disease by a new scoring system using ultrasound morphology, compound elastography, and contrast-enhanced ultrasound. *Bone Marrow Transplant.* 2019; 54(7): 1038–48. DOI: 10.1038/s41409-018-0381-4

Information about the authors

Mikhail Yu. Drovkov*, Cand. Sci. (Med.), Researcher, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation with 24-hour and day in-patient facilities, Department for Chemotherapy of Hematological Malignancies, Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology,
e-mail: mdrokov@gmail.com;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9431-8316>

Darya S. Dubnyak, Hematologist, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation with 24-hour and day in-patient facilities, National Research Center for Hematology,
e-mail: darya-dubnyak@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2253-9870>

Galina A. Yatsyk, Cand. Sci. (Med.), radiologist, Head of the Department for Magnetic Resonance Imaging and Ultrasound Diagnostics, National Research Center for Hematology,
e-mail: yatsyk.g@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8589-6122>

Anna A. Kireeva, Ultrasound Specialist, Department for Magnetic Resonance Imaging and Ultrasound Diagnostics, National Research Center for Hematology,
e-mail: kireeva.a@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0376-9734>

Пырикова Ольга Викторовна, врач ультразвуковой диагностики отделения магнитно-резонансной томографии и ультразвуковой диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7371-6251>

Кузьмина Лариса Анатольевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: Kuzmina.L@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

Попова Наталья Николаевна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: nn_work15@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0636-4991>

Васильева Вера Алексеевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник сектора по изучению иммунных воздействий и осложнений после ТКМ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: vasilievava4@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0904-7385>

Масликова Ульяна Владиславовна, клинический ординатор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: ulyana.maslikova@protonmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3009-4744>

Паровичникова Елена Николаевна, доктор медицинских наук, руководитель отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: parovichnikova@gmail.com;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 17.07.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Olga V. Pyrikova, Ultrasound Specialist, Department for Magnetic Resonance Imaging and Ultrasound Diagnostics, National Research Center for Hematology, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7371-6251>

Larisa A. Kuzmina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology,
e-mail: Kuzmina.L@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

Natalya N. Popova, Hematologist, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation with 24-hour and day in-patient facilities, National Research Center for Hematology,
e-mail: nn_work15@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0636-4991>

Vera A. Vasilyeva, Cand. Sci. (Med.), Researcher, Department for the Study of Immune Effects and Complications after Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology,
e-mail: vasilievava4@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0904-7385>

Ulyana V. Maslikova, Clinical Resident, National Research Center for Hematology,
e-mail: ulyana.maslikova@protonmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3009-4744>

Elena N. Parovichnikova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology,
e-mail: parovichnikova@gmail.com;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

*** Corresponding author**

Received 17 Jul 2019

Accepted 12 Sep 2019

ИЗМЕНЕНИЯ В КЛЕТКАХ-ПРЕДШЕСТВЕННИЦАХ СТРОМАЛЬНОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ КОСТНОГО МОЗГА БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ В ДЕБЮТЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ И В ХОДЕ ЛЕЧЕНИЯ

Петинати Н. А.¹, Шипунова И. Н.¹, Бигильдеев А. Е.¹, Сац Н. В.¹, Чельшева Е. Ю.², Шухов О. А.², Петрова А. Н.², Туркина А. Г.², Дризе Н. И.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии», лаборатория физиологии кроветворения Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии», научно-консультативное отделение химиотерапии миелопролиферативных заболеваний Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. У больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) изменены свойства клеток-предшественниц стромального микроокружения — мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) и колониеобразующие единицы фибробластов (КОЕф).

Цель — сравнительное изучение клеток-предшественниц стромального микроокружения ММСК и КОЕф, полученных из костного мозга больных ХМЛ в дебюте заболевания, через год после начала лечения и на длительных сроках лечения ингибиторами тирозинных киназ (ИТК).

Материалы и методы. Были проанализированы характеристики ММСК и концентрация КОЕф в костном мозге больных ХМЛ, а также относительный уровень экспрессии генов (*REL*), связанных с дифференцировкой и участвующих в регуляции кроветворения. Анализ проводили в дебюте заболевания, через год после начала лечения, через 3–8 лет и через 9–16 лет терапии ИТК. В качестве контроля использовали ММСК и КОЕф здоровых доноров.

Результаты. Концентрация КОЕф в дебюте заболевания не отличалась от таковой у доноров, однако в колониях из КОЕф был увеличен относительный уровень экспрессии генов, относящихся к дифференцировке. Через год после начала лечения ИТК концентрация КОЕф снижалась в 4 раза, а затем увеличивалась и достигала нормальных значений через 8 лет приема ИТК. Суммарная клеточная продукция ММСК не была изменена в дебюте заболевания, но снижалась через год приема ИТК с последующим восстановлением. В ММСК больных была изменена экспрессия многих генов: экспрессия *REL LIF* была увеличена в 10, а *JAG1* — в 2 раза, экспрессия *REL LIF* снижалась по мере лечения, но всегда оставалась выше, чем в ММСК доноров, а экспрессия *JAG1* нормализовывалась. В ММСК больных, достигших глубокого молекулярного ответа (ГМО) в течение 17 месяцев лечения, экспрессия *REL LIF* в дебюте заболевания была в три раза ниже, чем у тех, кто не достиг ГМО за 50 месяцев, а *JAG1* не отличался от доноров.

Заключение. Изменения в стромальных клетках предшественницах связаны не только с влиянием опухолевых клеток, но и с лечением ИТК. Нормальный уровень экспрессии *JAG1* и сниженный уровень экспрессии *LIF* в ММСК больных ХМЛ в дебюте заболевания могут быть предикторами достижения ГМО.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, хронический миелолейкоз, относительный уровень экспрессии генов (ОУЭ), глубокий молекулярный ответ

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Благодарности. Авторы благодарят Т.В. Сорокину за предоставление РНК из ММСК первичных больных и Н.М. Капанова за предоставление графического изображения результатов иммунофенотипирования ММСК.

Для цитирования: Петинати Н.А., Шипунова И.Н., Бигильдеев А.Е., Сац Н.В., Чельшева Е.Ю., Шухов О.А., Петрова А.Н., Туркина А.Г., Дризе Н.И. Изменения в клетках-предшественницах стромального микроокружения костного мозга больных хроническим миелолейкозом в дебюте заболевания и в ходе лечения. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 424–435. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-424-435>

CHANGES IN STROMAL PROGENITOR CELLS DERIVED FROM BONE MARROW IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOGENOUS LEUKAEMIA AT THE ONSET OF THE DISEASE AND DURING TREATMENT

Petinati N. A.¹, Shipunova I. N.¹, Bigildeev A. E.¹, Sats N. V.¹, Chelysheva E. Yu.², Shukhov O. A.², Petrova A. N.², Turkina A. G.², Drize N. I.¹

¹National Research Center for Hematology, Laboratory for Physiology of Hematopoiesis, 125167, Moscow, Russia

²National Research Center for Hematology, Scientific Advisory Department for Chemotherapy of Myeloproliferative Disorders, 125167, Moscow, Russia

ABSTRACT

Introduction. The properties of progenitor cells in the stromal microenvironment, i.e. multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) and fibroblast colony-forming units (CFU-F), undergo changes in patients with chronic myelogenous leukaemia (CML).

Aim. To compare the progenitor cells of the stromal microenvironment (MMSCs and CFU-Fs) obtained from the bone marrow of CML patients at the onset of the disease, one year after the start of the treatment and during the long-term treatment with tyrosine kinase inhibitors (TKI).

Materials and methods. The study involved an analysis of the characteristics of MMSCs, the concentration of CFU-Fs in the bone marrow of CML patients, as well as the relative expression level of genes (REL) associated with differentiation and involved in the regulation of haematopoiesis. The analysis was performed at the onset of the disease, one year after the start of the treatment, as well as 3–8 and 9–16 years after the TKI therapy. MMSCs and CFU-Fs of healthy donors were used for control purposes.

Results. The concentration of CFU-Fs at the onset of the disease did not differ from that in donors; however, the relative expression level of genes associated with differentiation was increased in the CFU-F colonies. A year after the start of TKI treatment, the concentration of CFU-Fs decreased by four times. Subsequently, the concentration increased to reach normal values following 8 years of TKI treatment. The total production of MMSCs was not changed at the onset of the disease; however, it decreased after a year of TKI treatment, subsequently returning to normal. The expression of many genes was altered in the MMSCs of patients, i.e. the REL of *LIF* and *JAG1* increased by 10 and 2 times, respectively; in the course of treatment, the REL of *LIF* in MMSCs decreased, always remaining higher than in those of the donors, whereas the expression of *JAG1* returned to normal. At the onset of the disease, the REL of *LIF* in the MMSCs of patients, who achieved a deep molecular response (DMR) within 17 months of the treatment, was three times lower than in the MMSCs of those patients who did not reach DMR within 50 months, with *JAG1* not differing from that of donors.

Conclusion. Changes in stromal progenitor cells are associated with the influence of tumour cells, as well as with TKI therapy. A normal expression level of *JAG1* and a decreased expression level of *LIF* in the MMSCs of CML patients at the onset of the disease may be predictive of DMR achievement.

Keywords: multipotent mesenchymal stromal cells, chronic myelogenous leukaemia, relative gene expression level, deep molecular response

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

Acknowledgement. The authors would also like to thank T. Sorokin for providing RNA from the MMSCs of patients extracted prior to their treatment, as well as to N. Kapranov for providing a graphic image showing the results of MMSC immunophenotyping

For citation: Petinati N.A., Shipunova I.N., Bigildeev A.E., Sats N.V., Chelysheva E. Yu., Shukhov O.A., Petrova A.N., Turkina A.G., Drize N.I. Changes in stromal progenitor cells derived from bone marrow in patients with chronic myelogenous leukaemia at the onset of the disease and during treatment. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(4):424–435 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-424-435>

Введение

Кроветворение обеспечивается стволовыми кроветворными клетками (СКК). СКК локализуются в костномозговых нишах, где происходит их регуляция [1]. Костномозговая ниша состоит из множества компонентов: остеобласты, остеокласты, адипоциты, эндотелиальные клетки, обильные хемокиновыми рецепторами 12-го типа ретикулярные клетки (C-X-C chemokine receptor type 12-abundant reticular cells — CAR cells), швановские клетки, мезенхимальные стволовые клетки [2]. В состав кроветворного микроокружения также входят потомки мезенхимальных стволовых клеток — мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) и их производные колониеобразующие единицы фибробластов (КОЕ-Ф) [3]. Клеточные элементы ниши регулируют кроветворение, в свою очередь, качественные изменения в кроветворении влияют на компоненты кроветворного микроокружения. Показано, что у больных острыми лейкозами происходят значительные изменения в компонентах ниши. В костном мозге больных острыми лейкозами концентрация КОЕ-Ф некоторые свойства ММСК, экспрессия генов в этих стромальных клетках-предшественниках изменены [4–7]. У больных хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ) уменьшена частота встречаемости ММСК в костном мозге [8] и увеличена экспрессия некоторых генов [9].

В настоящее время более 90 % больных ХМЛ благодаря клинической эффективности ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) выживают, имея хорошее качество жизни [10]. Наличие лейкозных стволовых клеток (ЛСК) обуславливает развитие лейкоза. ЛСК имеют очень много таких же свойств, как у СКК: они резистентны к действию цитостатиков за счет повышенной способности удалять из клетки чужеродные вещества, т.е. обладают множественной лекарственной устойчивостью [11]. Повышенная лекарственная устойчивость ЛСК определяет резистентность их к терапии [12]. Немногие ЛСК, оставшиеся после терапии, вызывают рецидив заболевания примерно у 50 % больных ХМЛ после отмены ИТК [13]. Функционирование и устойчивость ЛСК связаны со стромальным микроокружением костного мозга, поддерживающим и защищаю-

щим ЛСК [14]. Опухолевые клетки-предшественники при ХМЛ измененно взаимодействуют с микроокружением костного мозга, и их состояние непрерывной пролиферации может происходить из-за разрегулированных функций важных молекул межклеточной адгезии на поверхности ЛСК [15, 16]. В работе W.A. Sands и соавт. [17] было показано, что ЛСК могут изменять нишу, секретирующую различные костимулирующие молекулы и супрессирующие цитокины, которые нацелены на метаболические пути и облегчают уход от иммунного надзора и индукцию резистентности к химиотерапевтическим препаратам. Эти цитокины включают CXCL12, фактор роста стволовых клеток 1 (stem cell factor-1, SCF-1), интерлейкин-6 (ИЛ-6), несколько факторов роста, таких как фактор роста опухоли бета (transforming growth factor beta, TGF- β), основной фактор роста фибробластов (basic fibroblast growth factor, bFGF) и фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF). Во время лейкогенеза злокачественные клоны постепенно становятся независимыми от физиологического контроля ниши [10]. Более того, ММСК экспрессируют различные факторы, участвующие в поддержании ЛСК как в хронической фазе заболевания, так и при наличии глубокого молекулярного ответа (ГМО) [9].

Цель работы — сравнительное изучение клеток-предшественниц стромального микроокружения ММСК и КОЕф, полученных из костного мозга больных ХМЛ в дебюте заболевания, через год после начала лечения и на длительных сроках лечения ИТК.

Материалы и методы

Больные и доноры костного мозга

В исследование были включены 73 больных: 18 больных в дебюте ХМЛ (12 из них также были обследованы через год), 32 — через 3–8 лет и 23 — через 9–16 лет после начала лечения ИТК. Данные больных представлены в таблице 1.

Все больные и доноры подписали информированное согласие на забор костного мозга. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ гема-

Таблица 1. Характеристики больных, включенных в исследование
Table 1. Characteristics of CML patients included in the study

Группы Groups	Мужчины/ женщины Males/Females	Медиана возраста, (разброс), лет Median age, (range), years	Время лечения ИТК, медиана, лет Median duration of TKI treatment, years
Больные ХМЛ в дебюте заболевания и через 1 год терапии <i>Patients before treatment and 1 year after the TKI treatment</i>	10/8	40,5 (19–74)	0–1
ГМО и лечение 3–8 лет <i>DMR and TKI treatment for 3–8 years</i>	19/13	34,5 (23–63)	5
ГМО и лечение 9–16 лет <i>DMR and TKI treatment for 9–16 years</i>	10/13	53 (32–80)	11

тологии» МЗ РФ. Образцы костного мозга получали в момент рутинных диагностических пункций костного мозга. Все больные после длительного лечения ИТК имели ГМО, пункции костного мозга выполнялись в связи с планируемой отменой ИТК.

Поскольку характеристики ММСК и КОЕф зависят от возраста, в качестве контроля для ММСК и КОЕф больных в дебюте заболевания, больных через 1 и 3–8 лет после начала терапии использовали ММСК и КОЕф из костного мозга 60 здоровых доноров (24 мужчины и 36 женщин), в возрасте от 20 до 78 лет (медиана 49 лет), для больных через 9–16 лет после начала терапии использовали ММСК и КОЕф из костного мозга 43 здоровых доноров лет (21 мужчина, 21 женщина) в возрасте от 31 до 78 лет (медиана 50 лет).

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки

ММСК выделяли из 3–5 мл костного мозга больных и здоровых доноров. Для выделения мононуклеаров костный мозг смешивали с равным объемом среды aMEM media (ICN), содержащей 0.2 % метилцеллю-

лозы (1500 cP, Sigma-Aldrich). Через 40 мин большинство эритроцитов и гранулоцитов оседали, в то время как мононуклеарные клетки оставались в суспензии. Затем верхнюю фракцию (суспензию) отбирали и центрифугировали в течение 10 мин при 450 G. Клеточный осадок ресуспендировали в стандартной среде для культивирования, состоящей из среды aMEM с 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) Hyclone, 2 mM L-глутамин (ICN), 100 ЕД/мл пенициллина (Ferein) и 50 мкг/мл стрептомицина (Ferein). Клетки культивировали по 3×10^6 клеток на флакон T25 cm² (Corning-Costar). После формирования конфлюэнтного монослоя клетки отмывались 0,02 % ЭДТА (ICN) в физиологическом растворе (Sigma-Aldrich), а затем обрабатывались трипсином (ICN). Клетки рассаживали по 4×10^5 клеток на см² площади флакона. Культуры при 37 °C в атмосфере с 5 % CO₂.

ММСК были иммунофенотипированы [18] для определения поверхностных молекул [19] (рис. 1А) и получены данные по дифференцировке клеток *in vitro* в остеобласты и адипоциты стандартным методом [20] (рис. 1Б).

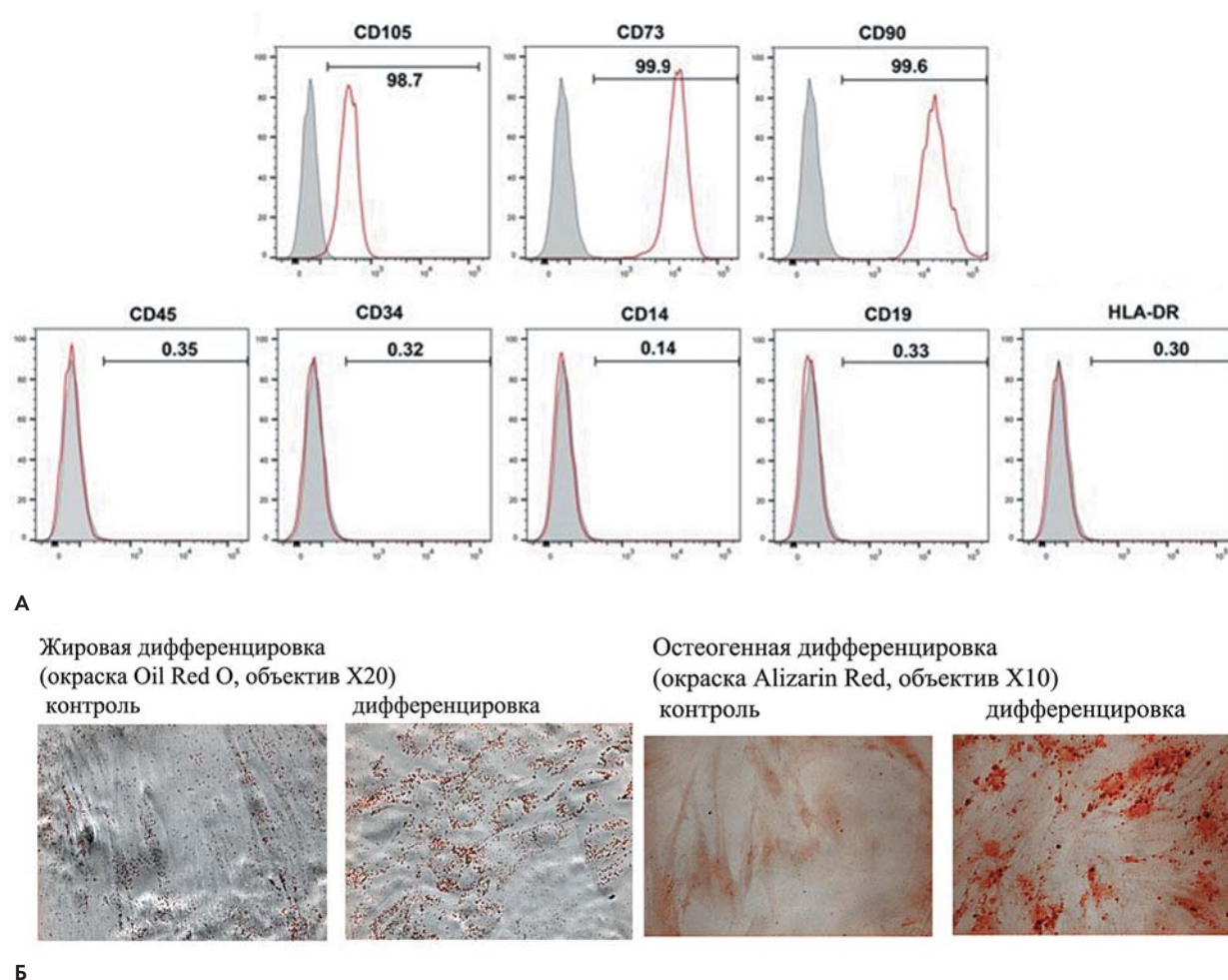


Рисунок 1. Характеристики ММСК: А — иммунофенотип ММСК, экспрессированы антигены CD105, CD73, CD90; не экспрессированы маркеры кроветворных клеток CD45, CD34, CD14, CD19 и HLA-DR; Б — дифференцировка ММСК в остеогенном и адипогенном направлениях

Figure 1. Characteristics of MSCs. A. Immunophenotype of MSCs, antigens CD105, CD73, CD90 are expressed; hematopoietic cell markers CD45, CD34, CD14, CD19 and HLA-DR are not expressed. B. Differentiation of multipotent MSCs in osteogenic and adipogenic directions

Анализ колониеобразующих единиц фибробластов (КОЕф) из костного мозга

Для анализа КОЕф ядродержащие клетки полученных образцов костного мозга культивировали по 10^6 и 5×10^5 на флакон с площадью дна 25 см^2 в среде альфа-МЕМ с 20 % ЭТС (Nuclease, США), 2 мМ L-глутамин (ICN, США), 100 ед/мл пенициллина («Ферейн», Россия), 50 мкг/мл стрептомицина («Ферейн», Россия) в течение 14 дней. Подсчет колоний производили под бинокулярной лупой (Opton, Германия) после окрашивания в 1 % кристаллвиолете на 20 % метаноле.

Определение относительного уровня экспрессии генов

Определение уровня экспрессии генов проводилось методом обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени (модификация Taq-Man) на приборе Rotor-Gene (Corbett, Australia). Для выделения РНК был использован стандартный протокол с небольшими модификациями [21]. Для построения первых цепей ДНК после гибридизации мРНК со смесью поли-Т-праймеров и случайных гексамеров использовали обратную транскриптазу (М-MLV, Promega) в соответствии с рекомендациями производителя. Для нормализации образцов использовали гены «домашнего хозяйства»

BACT (бета-актин) и GAPDH (глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа), относительный уровень экспрессии генов рассчитывали методом $\Delta\Delta\text{Ct}$ [22].

Статистический анализ. Данные представлены в виде среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего. Достоверность различий средних значений определялась с помощью критерия Манна—Уитни для распределений, отличных от нормального и t -критерия Стьюдента для нормальных распределений (достоверными считались при $p < 0,05$).

Результаты

Концентрация КОЕф и ростовые характеристики ММСК

Изучили концентрацию КОЕф и ростовые характеристики ММСК больных ХМЛ в дебюте заболевания и в течение терапии ИТК до 16 лет. В дебюте заболевания и в самом начале лечения концентрация КОЕф в костном мозге больных не отличалась от таковой у доноров (табл. 2). Через год после начала лечения концентрация КОЕф снижалась почти в 4 раза, а затем постепенно увеличивалась в группе больных, которые получали терапию более 8 лет. В этой группе больных концентрация КОЕф в костном мозге не отличалась от концентрации в костном мозге здоровых доноров. Суммарная продукция ММСК за 4 пассажа достоверно снижалась в 2 раза через год после начала терапии, а затем посте-

Таблица 2. Концентрация КОЕ-Ф и культуральные характеристики ММСК больных ХМЛ до начала и во время лечения

Table 2. Concentration of CFU-Fs and the cultural characteristics of MMSCs in CML patients prior to and during TKI treatment

Характеристики Characteristics	Доноры (n = 60) (M = 42 года) Donors (n = 60) (M = 42 years)	Больные до лечения (n = 18) Patients prior to treatment	Лечение ИТК в течение 1 года дебют (n = 18) 1 year of TKI treatment (n = 18)	Лечение ИТК меньше 8 лет (n = 32) Less than 8 years of TKI treatment (n = 32)	Доноры (n = 43) (M = 49 лет) Donors (n = 43) (M = 49 years)	Лечение ИТК больше 8 лет (n = 23) More than 8 years of TKI treatment (n = 23)
Концентрация КОЕф на 10^6 клеток костного мозга Concentration of CFU-Fs per 10^6 bone marrow cells	$16,2 \pm 2,8$	$17,1 \pm 4,6$	$4,9 \pm 1,2^*$	$11,9 \pm 2,6$	$17,1 \pm 3,7$	$14,2 \pm 2,8$
Суммарная продукция ММСК за 3 пассажа, $\times 10^6$ Cumulative production of MMSCs during 3 passages, $\times 10^6$	$10,9 \pm 1,2$	$7,4 \pm 1,8$	$6,5 \pm 0,8^*$	$13,5 \pm 1,8$	$7,7 \pm 1$	$8,6 \pm 1,4$
Время до РО, дней Time before PO, days	$14,4 \pm 0,4$	$17,9 \pm 0,9^*$	$17,6 \pm 0,8^*$	$14,7 \pm 0,7$	$14,5 \pm 0,5$	$15,2 \pm 0,6$
Время удвоения популяции, дней Population doubling time, days	$2,9 \pm 0,2$	$6 \pm 0,8^*$	$5 \pm 0,5^*$	$2,7 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,3$

Примечание. М — медиана возраста; * — обозначает $p < 0,05$ при сравнении с соответствующей группой доноров при помощи t -критерия Стьюдента для независимых выборок.

Note. M — median age; * — denotes $p < 0.05$ when compared to the corresponding donor group using the Student's t -test for independent samples.

пенно увеличивалась и не отличалась от таковой у доноров. У больных в дебюте заболевания время до P0, т.е. достижения конфлюэнтного монослоя после установления культуры, было достоверно увеличено, что указывало на уменьшение концентрации стромальных предшественников в костном мозге. Далее время до P0 постепенно уменьшалось и после 8 лет лечения не отличалось от такового у доноров. Время удвоения популяции ММСК было в 2 раза больше в дебюте заболевания по сравнению с ММСК доноров и оставалось увеличенным в течение года лечения ИТК, после еще нескольких лет лечения оно нормализовалось и не отличалось от доноров соответственного возраста.

Анализ экспрессии генов в КОЕф и ММСК

Экспрессия многих генов изменялась в КОЕф в дебюте заболевания. К ним относятся гены, связанные с хрящевой, жировой и костной дифференцировкой (*SOX9*, *PPARG* и *BGLAP*, *SPPI*), экспрессия которых достоверно повышалась. Это означает, что КОЕф были индуцированы к дифференцировке и, скорее всего, обеспечивали взрослыми стромальными клетками костный мозг более интенсивно, что, в свою очередь, связано с повреждением стромального микроокружения опухолевыми клетками. Экспрессия генов, связанных с пролиферацией предшественников, сильно не изменялась. Экспрессия *BMP4* была значительно повышена, и достоверно отличалась от таковой у доноров.

Анализ относительного уровня экспрессии генов в ММСК больных ХМЛ показал, что в дебюте заболевания стромальные клетки-предшественницы были активированы по сравнению с таковыми у доноров. Относительный уровень экспрессии генов факторов, регулирующих кроветворные клетки и ЛСК (*IL6* и *LIF*), был достоверно повышен в 2,5 и 14 раз соответственно (табл. 4). По мере лечения экспрессия генов этих факторов постепенно снижалась, однако уровень экспрессии *IL6* все равно оставался выше, чем у доноров. Некоторые факторы роста ММСК (*FGF2*, его рецепторы — *FGFR1*, *FGFR2*, рецептор фактора роста из тромбоцитов — *PDGFR*) были повышены в дебюте заболевания, тогда как экспрессия фактора роста сосудистого эндотелия — *VEGF*, опухолевого фактора роста 1 и 2 — *TGFB1* и *TGFB2* не были из-

менены (табл. 4). Среди изученных молекул адгезии достоверное снижение в 2 раза было отмечено только для *MCAM*, остальные молекулы не были изменены. Экспрессия генов, участвующие в дифференцировке ММСК (*SPPI*, *SOX9*, *PPARG*), была повышена в дебюте заболевания. Относительный уровень экспрессии *PPARG* оставался повышенным через год после начала лечения, а затем постепенно нормализовался. Экспрессия гена маркера костной дифференцировки (*SPPI*) постепенно повышалась по мере лечения, экспрессия маркера хрящевой (*SOX9*) дифференцировки была увеличена в дебюте заболевания и в течение года лечения, однако при длительном лечении ИТК достоверно снижалась в 2 раза по сравнению с таковыми у доноров. Экспрессия генов, характерных для ММСК (*NES*, *JAG1* и *IGF1*), была повышена в дебюте заболевания и постепенно нормализовалась при длительном лечении за исключением *NES*, уровень экспрессии которого достоверно уменьшался по сравнению с таковым у доноров.

Таким образом, у больных ХМЛ профиль экспрессии генов изменен в дебюте заболевания и только частично нормализуется даже при длительной терапии.

Анализ ММСК у больных в зависимости от достижения ГМО

При анализе ММСК у больных в дебюте заболевания в зависимости от дальнейшего достижения ими ГМО были обнаружены закономерности. У больных, не достигших ГМО в течение 4-х лет, была меньше концентрация КОЕф в костном мозге, суммарная клеточная продукция за 4 пассажа также была меньше, а время до P0 увеличено (табл. 5). Все эти изменения не достоверны, однако прослеживалась тенденция, указывающая на более значительное повреждение стромальных клеток-предшественниц у группы больных, не достигших ГМО. В ММСК больных, достигших ГМО, относительный уровень экспрессии 3-х генов, отвечающих за регуляцию кроветворных клеток, был в 2 раза ниже, чем в ММСК больных, не достигших ГМО (табл. 5).

Таким образом, в работе выявлены существенные различия в стромальных клетках-предшественницах больных в зависимости от их ответа на лечение ИТК и достижения ГМО.

Таблица 3. Изменение относительного уровня экспрессии некоторых генов в КОЕ-Ф больных ХМЛ

Table 3. Changes in the REL of some genes in CFU-F in CML patients

Группы Groups	<i>BGLAP</i>	<i>SPPI</i>	<i>PPARG</i>	<i>SOX9</i>	<i>FGFR1</i>	<i>FGFR2</i>	<i>VEGF</i>	<i>FGF2</i>	<i>BMP4</i>
Доноры (n = 60) Donors (n = 60)	1,0 ± 0,2	6,3 ± 2,1	1,7 ± 0,5	0,1 ± 0,03	0,8 ± 0,1	0,4 ± 0,2	1,1 ± 0,3	5,3 ± 2,1	0,3 ± 0,1
ХМЛ дебют (n = 18) Primary CML patients (n = 18)	2,9 ± 0,3*	16,6 ± 3,8*	6,9 ± 1,7*	1,3 ± 0,4*	0,7 ± 0,04	0,4 ± 0,2	0,95 ± 0,1	7,3 ± 2,5	1,1 ± 0,3*

Примечание. * — $p < 0,05$ при сравнении с соответствующей группой доноров при помощи t-критерия Стьюдента для независимых выборок.

Note. * — $p < 0,05$ when compared with the corresponding donor group using the Student's t-test for independent samples.

Таблица 4. Относительный уровень экспрессии некоторых генов в ММСК больных ХМЛ до начала и в процессе лечения
Table 4. Relative expression level of some genes in the MMSCs of CML patients prior to and during TKI treatment

Гены Genes	Доноры Donors		Срок терапии больных ХМЛ Treatment duration of CML patients			
	(M = 42 года) (n = 60) (M = 42 years) (n = 60)	(M = 49 лет) (n = 43) (M = 49 years) (n = 43)	дебют заболевания (n = 18) onset of the disease	1 год (n = 18) 1 year	меньше 8 лет (n = 32) less than 8 years	больше 8 лет (n = 23) more than 8 years
IL6	14,3 ± 2,2	13,6 ± 2,5	34,9 ± 4,7*	27,8 ± 6,2	23,9 ± 13,2	28,1 ± 5,6
LIF	0,67 ± 0,09	0,55 ± 0,09	9,46 ± 1,81*	5,12 ± 0,75*	2,36 ± 0,67*●○	3,39 ± 1,43 ○
CSF1	1,0 ± 0,12	1,3 ± 0,14	0,8 ± 0,13	0,59 ± 0,11	0,2 ± 0,03●○	0,14 ± 0,04●○
FGF2	6,01 ± 0,56	5,74 ± 0,55	11,3 ± 1,53*	8,1 ± 2,16	14,17 ± 7,67	5,9 ± 0,58 ○
FGFR1	0,76 ± 0,04	0,81 ± 0,06	1,1 ± 0,14*	0,7 ± 0,07	0,5 ± 0,06●○	0,3 ± 0,04●○
FGFR2	2,14 ± 0,16	2,08 ± 0,2	3,95 ± 0,62*	2,61 ± 0,47	2,7 ± 0,4	1,9 ± 0,4
PDGFRA	1,64 ± 0,19	1,98 ± 0,23	8,11 ± 1,21*	4,55 ± 0,63*	2,25 ± 0,26●○	1,48 ± 0,25●○
PDGFRB	0,82 ± 0,05	0,82 ± 0,06	0,94 ± 0,16	0,65 ± 0,12	0,35 ± 0,08*○	0,19 ± 0,06*●○
VEGF	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,43 ± 0,09*	0,17 ± 0,03●○	0,2 ± 0,04●
BMP4	0,99 ± 0,1	1,04 ± 0,14	1,92 ± 0,3*	3,78 ± 0,95*	0,91 ± 0,17●○	1,39 ± 0,15●○
BMP2	1,0 ± 0,17	0,96 ± 0,26	0,01 ± 0,0*	0,02 ± 0,00*	0,03 ± 0,01*	0,02 ± 0,00*
SPP1	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,15 ± 0,09	0,28 ± 0,16	0,88 ± 0,56	0,53 ± 0,21
SOX9	1,06 ± 0,12	1,2 ± 0,16	3,51 ± 0,57*	3,03 ± 0,38*	0,53 ± 0,11*●○	0,54 ± 0,14*●○
PPARG	1,36 ± 0,19	1,37 ± 0,12	3,48 ± 0,9*	3,84 ± 1,07*	2,86 ± 0,95	1,46 ± 0,19
ICAM1	1,06 ± 0,14	1,11 ± 0,17	0,86 ± 0,21	0,43 ± 0,12*	0,29 ± 0,07 ○	0,33 ± 0,06 ○
MCAM	5,96 ± 0,82	5,91 ± 1,05	2,25 ± 0,44*	0,89 ± 0,11	2,76 ± 0,56*●	2,2 ± 0,45*●
MMP2	3,66 ± 0,21	3,56 ± 0,29	4,01 ± 0,47	4,93 ± 0,57	2,2 ± 0,15*●○	1,94 ± 0,2*●○
NES	0,86 ± 0,09	0,99 ± 0,11	1,8 ± 0,51	1,38 ± 0,28	0,44 ± 0,07*●○	0,34 ± 0,04*●○
IGF1	0,69 ± 0,11	0,8 ± 0,14	2,94 ± 0,85*	1,59 ± 0,41*	0,77 ± 0,25 ○	0,85 ± 0,24 ○
JAG1	2,56 ± 0,23	2,64 ± 0,3	5,1 ± 0,55*	3,77 ± 1,22	3,43 ± 0,4 ○	3,54 ± 0,45 ○
SDF1	1,07 ± 0,20	1,06 ± 0,2	2,8 ± 0,55	1,7 ± 0,3	1,8 ± 0,15 ○	1,02 ± 0,09 ●○

Примечание. * — обозначает $p < 0,05$ при сравнении с соответствующей группой доноров при помощи t-критерия Стьюдента для независимых выборок, ● — обозначает $p < 0,05$ при сравнении с 1 годом терапии ИТК при помощи t-критерия Стьюдента для независимых выборок, ○ — обозначает $p < 0,05$ при сравнении с дебютом заболевания при помощи t-критерия Стьюдента для независимых выборок.

Note. * — denotes $p < 0.05$ when compared with the corresponding donor group using the Student's t-test for independent samples, ● — denotes $p < 0.05$ when 1 year TKIs therapy compared long-term treatment with group using the Student's t-test for independent samples, ○ — denotes $p < 0.05$ when onset of the disease compared with long-term treatment using the Student's t-test for independent samples.

Обсуждение

Известно, что не только строма костного мозга определяет кроветворение, но и качество кроветворения влияет на стромальные клетки [23, 24]. Как опухолевые клетки, так и ИТК могут оказывать влияние на строму больных ХМЛ. Было показано [25], что ММСК больных ХМЛ в дебюте заболевания и в течение года лечения ИТК лучше поддерживают кроветворные клетки-предшественники, чем ММСК доноров и больных острыми лейкозами.

Целью настоящей работы было изучение стромальных клеток-предшественниц у больных ХМЛ в дебюте заболевания и по мере лечения ИТК. Известно, что стромальные и мезенхимальные клетки у этих больных не затронуты опухолевым клоном [26]. Исследование

концентрации КОЕф, основных характеристик ММСК, паттерна экспрессии некоторых генов, участвующих в дифференцировке стромальных клеток и поддержании кроветворения, определяют изменения в стромальных предшественниках. В работе показано, что концентрация КОЕф и суммарная клеточная продукция ММСК не отличаются от таковых у доноров в дебюте заболевания. Через год после начала лечения концентрация КОЕф в костном мозге больных уменьшалась в 4 раза, а суммарная клеточная продукция ММСК уменьшалась в 2 раза, что указывает на повреждающее влияние ИТК на стромальные предшественники. Далее, по мере длительного лечения, концентрация КОЕф и пролиферативный потенциал

Таблица 5. Характеристики ММСК у больных в зависимости от достижения ими ГМО
Table 5. Characteristics of MMSCs in patients at the onset of the disease depending on the DMR achievement

Достижение ГМО DMR	+		–
Количество больных Number of patients	5		8
Длительность терапии ИТК в момент анализа Time of TKI treatment at the moment of analysis	17,3 ± 3,2		50,2 ± 1,6
Концентрация КОЕф в костном мозге на 10⁶ клеток CFU-F concentration per 10 ⁶ bone marrow cell	29,5 ± 5,0		10,6 ± 3,6
Суммарная продукция ММСК, ×10⁶ Cumulative MMSCs production for 4 passages, ×10 ⁶	14,5 ± 2,0		5,3 ± 1,7
Время до РО, дней Time to PO, days	15,6 ± 0,2		18,9 ± 1,4
Достоверные отличия в REL генов в ММСК* Significant differences in REL in MMSCs	<i>Jag1</i>	3,6 ± 0,1*	6,0 ± 0,7
	<i>TGFb1</i>	0,6 ± 0,3*	1,7 ± 0,2
	<i>LIF</i>	4,6 ± 1,9*	12,5 ± 2,7

Примечание. * — обозначает $p < 0,05$ при сравнении групп больных достигших ГМО и не достигших при помощи *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок.

Note. * — indicates $p < 0.05$ when compared MSCs from patients with DMR with the patients without DMR using the Student's *t*-test for independent samples.

ММСК восстанавливались. Вероятно, стромальные клетки постепенно адаптируются к ингибированию тирозинных киназ. Анализ *REL* генов, участвующих в мезенхимальной дифференцировке КОЕф, выявил достоверное увеличение экспрессии генов-маркеров костной (*BGLAP* и *SPPI*), хрящевой (*SOX9*) и жировой (*PPARG*) дифференцировок. КОЕф больных в дебюте заболевания оказались более дифференцированными, чем у доноров. При этом в дебюте заболевания уменьшалась концентрация ММСК, что совпадает с данными других авторов [27, 28]. Опухолевые клетки адаптируют ниши костного мозга и, вероятно, индуцируют образование новых кроветворных территорий для опухолевых стволовых клеток. После длительного лечения у больных восстанавливаются количественные показатели стромальных клеток-предшественниц. В ММСК больных изменен профиль экспрессии некоторых генов. В дебюте заболевания в ММСК больных достоверно повышена экспрессия генов, участвующих в регуляции кроветворения, — *IL6*, *LIF*, *CSF1*, *IGF1*, *JAG1* и *SDF1*; ростовых факторов для ММСК — *FGF2*, *FGFR1*, *FGFR2*, *PDGFRA*, *BMP4* генов, участвующих в дифференцировке ММСК — *SOX9*, *PPARG*. Повышение экспрессии *SDF1* — гена цитокина, отвечающего за попадание кроветворных клеток в строму костного мозга, *JAG1* — гена белка, регулирующего пролиферацию и дифференцировку стволовых кроветворных клеток, указывает на повышенную способность ММСК поддерживать кроветворение, что подтверждается данными об улучшении способности ММСК больных поддерживать кроветворные клетки предшественницы доноров [25]. При этом экспрессия генов молекул адгезии также связанных с хомингом СКК (*ICAM* и *ICAM1*) снижена в ММСК больных

и не восстанавливается до уровня ММСК доноров по мере лечения. В работе D. Aggoune и соавт. [9] была показана повышенная экспрессия других генов, относящихся к статусу «стволовости» ММСК — *NANOG*, *FOXO3* по сравнению с ММСК доноров. К этим генам в нашей работе можно добавить *LIF* и *IGF1*. По мере лечения, в зависимости от его длительности, экспрессия всех этих генов уменьшалась и в некоторых случаях достигала таковой в ММСК доноров. Восстановление ростовых характеристик ММСК после длительного лечения можно объяснить частичной нормализацией экспрессии *FGF2*, *FGFR1*, *FGFR2*, *PDGFRA*, *BMP4* и генов, относящихся к дифференцировке, — *SOX9*, *PPARG*. Очевидно, что изменения в экспрессии генов не однозначны и затрагивают различные свойства ММСК. Суммарно можно заключить, что концентрация КОЕф и основные характеристики ММСК восстанавливаются после многих лет терапии ИТК. Вероятно, ИТК не оказывают фатального влияние на ростовые характеристики клеток-предшественниц стромального микроокружения.

Было показано, что ЛСК и СКК по-разному регулируются стромальным микроокружением костного мозга [29], однако по большинству характеристик эти клетки совпадают [30]. Анализ ММСК в 2-х группах больных в дебюте заболевания, достигших ГМО менее чем за 1,5 года и не достигших ГМО более чем за 4 года, выявил существенные изменения в экспрессии генов, участвующих в регуляции СКК. В ММСК группы больных, достигших ГМО, *REL LIF* был в 2 раза ниже, чем в общей группе, и в 3 раза ниже, чем в группе больных, не достигших ГМО, а *REL JAG1* и *TGFb1* был в 2 раза ниже. Очевидно, что ЛСК лучше поддерживаются ММСК с более высоким уровнем экс-

прессии этих регуляторных генов. Такие ЛСК более успешно выживают под действием ИТК, что не дает возможности получить ГМО у этих больных.

У больных увеличение количества ЛСК связано с изменением регуляции в сигнальном пути ВМР (костного морфогенетического белка), которое сохраняется у больных, резистентных к терапии ИТК [31, 32]. Сигналы ВМР контролируют стволовые клетки в нишах. Белки семейства ВМР (ВМР2 и ВМР4) важны как для нормального кроветворения, так и при опухолевой трансформации. Факторы семейства ВМР, первоначально описанные при формировании кости, оказались связанными с биологией большого числа органов и систем, от эмбриональных до взрослых тканей, и участвуют в пролиферации, дифференцировке и апоптозе стволовых клеток. Клетки опухолевого микроокружения —

основные источники растворимых ВМР. И наоборот, ЛСК отображают измененные рецепторы и сигнальные элементы ВМР [33, 34]. Показано, что ВМР 4 вовлечен в развитие резистентности к ИТК [35]. Разницы в экспрессии *ВМР2* и *ВМР4* в этих двух группах больных обнаружено не было. Однако в ММСК больных в дебюте заболевания *ВМР2* достоверно ниже, чем у доноров, а *ВМР4* — выше и в ММСК, и в КОЕф. Через год после начала лечения экспрессия обоих генов либо еще больше снижается, либо увеличивается.

Таким образом, важность стромального микроокружения для функционирования и сохранения ЛСК у больных ХМЛ не вызывает сомнений. Исследование стромальных клеток-предшественниц у этих больных в дебюте заболевания может иметь прогностическое значение.

Литература

1. Taichman R.S. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood*. 2005; 105: 2631–9.
2. Kumar S., Geiger H. HSC Niche Biology and HSC Expansion ex vivo. *Trends Mol. Med.* 2017; 23: 799–819.
3. Morrison S.J., Scadden D.T. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature*. 2014; 505: 327–34.
4. Chen Q., Yuan Y., Chen T. Morphology, differentiation and adhesion molecule expression changes of bone marrow mesenchymal stem cells from acute myeloid leukemia patients. *Mol. Med. Rep.* 2014; 9: 293–8.
5. Shipounova I.N., Petrova T.V., Svinareva D.A. et al. Alterations in hematopoietic microenvironment in patients with aplastic anemia. *Clin. Transl. Sci.* 2009; 2: 67–74.
6. Shipounova I.N., Petinati N.A., Bigildeev A.E. et al. Alterations of the bone marrow stromal microenvironment in adult patients with acute myeloid and lymphoblastic leukemias before and after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Leuk. Lymphoma*. 2017; 58: 408–17.
7. Zhao Z.-G., Liang Y., Li K. et al. Phenotypic and functional comparison of mesenchymal stem cells derived from the bone marrow of normal adults and patients with hematologic malignant diseases. *Stem. Cells Dev.* 2007; 16: 637–48.
8. Estrada-González P.K., Gómez-Ceja L., Montesinos J.J. et al. Decreased frequency, but normal functional integrity of mesenchymal stromal cells derived from untreated and Imatinib-treated chronic myeloid leukemia patients. *Leuk. Res.* 2014; 38: 594–600.
9. Aggoune D., Sorel N., Bonnet M.-L. et al. Bone marrow mesenchymal stromal cell (MSC) gene profiling in chronic myeloid leukemia (CML) patients at diagnosis and in deep molecular response induced by tyrosine kinase inhibitors (TKIs). *Leuk. Res.* 2017; 60: 94–102.
10. Arrigoni E., Del Re M., Galimberti S. et al. Concise Review: Chronic Myeloid Leukemia: Stem Cell Niche and Response to Pharmacologic Treatment. *Stem. Cells Transl. Med.* 2018; 7: 305–14.
11. Guzman M.L., Swiderski C.F., Howard D.S., et al. Preferential induction of apoptosis for primary human leukemic stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2002; 99 (25): 16220–5.
12. Horne G., Jackson L., Helgason V., Holyoake T. Stem Cell Guardians — Old and New Perspectives in LSC Biology. *Curr. Drug Targets*. 2017; 18: 405–13.
13. Rea D., Mahon F.-X. How I manage relapse of chronic myeloid leukaemia after stopping tyrosine kinase inhibitor therapy. *Br. J. Haematol.* 2018; 180: 24–32.

References

1. Taichman R.S. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood*. 2005; 105: 2631–9.
2. Kumar S., Geiger H. HSC Niche Biology and HSC Expansion Ex Vivo. *Trends Mol. Med.* 2017; 23: 799–819.
3. Morrison S.J., Scadden D.T. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature*. 2014; 505: 327–34.
4. Chen Q., Yuan Y., Chen T. Morphology, differentiation and adhesion molecule expression changes of bone marrow mesenchymal stem cells from acute myeloid leukemia patients. *Mol. Med. Rep.* 2014; 9: 293–8.
5. Shipounova I.N., Petrova T.V., Svinareva D.A. et al. Alterations in hematopoietic microenvironment in patients with aplastic anemia. *Clin. Transl. Sci.* 2009; 2: 67–74.
6. Shipounova I.N., Petinati N.A., Bigildeev A.E. et al. Alterations of the bone marrow stromal microenvironment in adult patients with acute myeloid and lymphoblastic leukemias before and after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Leuk. Lymphoma*. 2017; 58: 408–17.
7. Zhao Z.-G., Liang Y., Li K. et al. Phenotypic and functional comparison of mesenchymal stem cells derived from the bone marrow of normal adults and patients with hematologic malignant diseases. *Stem. Cells Dev.* 2007; 16: 637–48.
8. Estrada-González P.K., Gómez-Ceja L., Montesinos J.J. et al. Decreased frequency, but normal functional integrity of mesenchymal stromal cells derived from untreated and Imatinib-treated chronic myeloid leukemia patients. *Leuk. Res.* 2014; 38: 594–600.
9. Aggoune D., Sorel N., Bonnet M.-L. et al. Bone marrow mesenchymal stromal cell (MSC) gene profiling in chronic myeloid leukemia (CML) patients at diagnosis and in deep molecular response induced by tyrosine kinase inhibitors (TKIs). *Leuk. Res.* 2017; 60: 94–102.
10. Arrigoni E., Del Re M., Galimberti S. et al. Concise Review: Chronic Myeloid Leukemia: Stem Cell Niche and Response to Pharmacologic Treatment. *Stem. Cells Transl. Med.* 2018; 7: 305–14.
11. Guzman M.L., Swiderski C.F., Howard D.S., et al. Preferential induction of apoptosis for primary human leukemic stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2002; 99 (25): 16220–5.
12. Horne G., Jackson L., Helgason V., Holyoake T. Stem Cell Guardians — Old and New Perspectives in LSC Biology. *Curr. Drug Targets*. 2017; 18: 405–13.
13. Rea D., Mahon F.-X. How I manage relapse of chronic myeloid leukaemia after stopping tyrosine kinase inhibitor therapy. *Br. J. Haematol.* 2018; 180: 24–32.

14. Bhatia R. Novel approaches to therapy in CML. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr.* 2017; 2017: 115–20.
15. Bhatia R., McGlave P.B., Dewald G.W. et al. Abnormal function of the bone marrow microenvironment in chronic myelogenous leukemia: role of malignant stromal macrophages. *Blood.* 1995; 85: 3636–45.
16. Camacho V., McClearn V., Patel S., Welner R.S. Regulation of normal and leukemic stem cells through cytokine signaling and the microenvironment. *Int. J. Hematol.* 2017; 105: 566–77.
17. Sands W.A., Copland M., Wheadon H. Targeting self-renewal pathways in myeloid malignancies. *Cell Commun. Signal.* 2013; 11: 33.
18. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006; 8: 315–7.
19. Fong T.A., Mosmann T.R. Alloreactive murine CD8+ T cell clones secrete the Th1 pattern of cytokines. *J. Immunol.* 1990; 144: 1744–52.
20. Сви́нарева Д.А., Шипунова И.Н., Ольшанская И.В. и др. Основные свойства мезенхимальных стромальных клеток донорского костного мозга: поверхностные маркеры. *Терапевтический архив.* 2010; 82: 52–6.
21. Chomczynski P., Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat. Protoc.* 2006; 1 (2): 581–5. DOI: 10.1038/nprot.2006.83
22. Schmittgen T.D., Livak K.J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nat. Protoc.* 2008; 3: 1101–8.
23. Frisch B.J., Ashton J.M., Xing L. et al. Functional inhibition of osteoblastic cells in an in vivo mouse model of myeloid leukemia. *Blood.* 2012; 119: 540–50.
24. Lane SW. Bad to the bone. *Blood.* 2012; 119: 323–5.
25. Sorokina T., Shipounova I., Bigildeev A. et al. The ability of multipotent mesenchymal stromal cells from the bone marrow of patients with leukemia to maintain normal hematopoietic progenitor cells. *Eur. J. Haematol.* 2016; 97: 245–52.
26. Maniatis A.K., Amsel S., Mitus W.J., Coleman N. Chromosome pattern of bone marrow fibroblasts in patients with chronic granulocytic leukaemia. *Nature.* 1969; 222: 1278–9.
27. Dilanni M., Moretti L., Del Papa B. et al. Chronic myeloproliferative disorders: the bone marrow stromal component is not involved in the malignant clone. *Leukemia.* 2007; 21: 377–8.
28. Estrada-González P.K., Gómez-Ceja L. et al. Decreased frequency, but normal functional integrity of mesenchymal stromal cells derived from untreated and Imatinib-treated chronic myeloid leukemia patients. *Leuk. Res.* 2014; 38: 594–600.
29. Zhang B., Ho Y.W., Huang Q. et al. Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia. *Cancer Cell.* 2012; 21: 577–92.
30. Dick J.E. Stem cell concepts renew cancer research. *Blood.* 2008; 112: 4793–807.
31. Toofan P., Irvine D., Hopcroft L. et al. The role of the bone morphogenetic proteins in leukaemic stem cell persistence. *Biochem. Soc. Trans.* 2014; 42: 809–15.
32. Gerber J.M., Gucwa J.L., Esopi D. et al. Genome-wide comparison of the transcriptomes of highly enriched normal and chronic myeloid leukemia stem and progenitor cell populations. *Oncotarget.* 2013; 4(5): 715–28.
33. Laperrousaz B., Jeanpierre S., Sagorny K. et al. Primitive CML cell expansion relies on abnormal levels of BMPs provided by the niche and on BMPRIb overexpression. *Blood.* 2013; 122: 3767–77.
34. Zylbersztein F., Flores-Violante M., Voeltzel T. et al. The BMP pathway: A unique tool to decode the origin and progression of leukemia. *Exp. Hematol.* 2018; 61: 36–44.
35. Grockowiak E., Laperrousaz B., Jeanpierre S., et al. Immature CML cells implement a BMP autocrine loop to escape TKI treatment. *Blood.* 130: 2860–71.
14. Bhatia R. Novel approaches to therapy in CML. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr.* 2017; 2017: 115–20.
15. Bhatia R., McGlave P.B., Dewald G.W. et al. Abnormal function of the bone marrow microenvironment in chronic myelogenous leukemia: role of malignant stromal macrophages. *Blood.* 1995; 85: 3636–45.
16. Camacho V., McClearn V., Patel S., Welner R.S. Regulation of normal and leukemic stem cells through cytokine signaling and the microenvironment. *Int. J. Hematol.* 2017; 105: 566–77.
17. Sands W.A., Copland M., Wheadon H. Targeting self-renewal pathways in myeloid malignancies. *Cell Commun. Signal.* 2013; 11: 33.
18. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006; 8: 315–7.
19. Fong T.A., Mosmann T.R. Alloreactive murine CD8+ T cell clones secrete the Th1 pattern of cytokines. *J. Immunol.* 1990; 144: 1744–52.
20. Svinareva D.A., Shipunova I.N., Ol'shanskaia I.V. et al. The basic properties of mesenchymal stromal cells from the donor bone marrow: superficial markers. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2010; 82: 52–6 (In Russian).
21. Chomczynski P., Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat. Protoc.* 2006; 1 (2): 581–5. DOI: 10.1038/nprot.2006.83
22. Schmittgen T.D., Livak K.J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nat. Protoc.* 2008; 3: 1101–8.
23. Frisch B.J., Ashton J.M., Xing L. et al. Functional inhibition of osteoblastic cells in an in vivo mouse model of myeloid leukemia. *Blood.* 2012; 119: 540–50.
24. Lane SW. Bad to the bone. *Blood.* 2012; 119: 323–5.
25. Sorokina T., Shipounova I., Bigildeev A. et al. The ability of multipotent mesenchymal stromal cells from the bone marrow of patients with leukemia to maintain normal hematopoietic progenitor cells. *Eur. J. Haematol.* 2016; 97: 245–52.
26. Maniatis A.K., Amsel S., Mitus W.J., Coleman N. Chromosome pattern of bone marrow fibroblasts in patients with chronic granulocytic leukaemia. *Nature.* 1969; 222: 1278–9.
27. Dilanni M., Moretti L., Del Papa B. et al. Chronic myeloproliferative disorders: the bone marrow stromal component is not involved in the malignant clone. *Leukemia.* 2007; 21: 377–8.
28. Estrada-González P.K., Gómez-Ceja L. et al. Decreased frequency, but normal functional integrity of mesenchymal stromal cells derived from untreated and Imatinib-treated chronic myeloid leukemia patients. *Leuk. Res.* 2014; 38: 594–600.
29. Zhang B., Ho Y.W., Huang Q. et al. Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia. *Cancer Cell.* 2012; 21: 577–92.
30. Dick J.E. Stem cell concepts renew cancer research. *Blood.* 2008; 112: 4793–807.
31. Toofan P., Irvine D., Hopcroft L. et al. The role of the bone morphogenetic proteins in leukaemic stem cell persistence. *Biochem. Soc. Trans.* 2014; 42: 809–15.
32. Gerber J.M., Gucwa J.L., Esopi D. et al. Genome-wide comparison of the transcriptomes of highly enriched normal and chronic myeloid leukemia stem and progenitor cell populations. *Oncotarget.* 2013; 4(5): 715–28.
33. Laperrousaz B., Jeanpierre S., Sagorny K. et al. Primitive CML cell expansion relies on abnormal levels of BMPs provided by the niche and on BMPRIb overexpression. *Blood.* 2013; 122: 3767–77.
34. Zylbersztein F., Flores-Violante M., Voeltzel T. et al. The BMP pathway: A unique tool to decode the origin and progression of leukemia. *Exp. Hematol.* 2018; 61: 36–44.
35. Grockowiak E., Laperrousaz B., Jeanpierre S., et al. Immature CML cells implement a BMP autocrine loop to escape TKI treatment. *Blood.* 130: 2860–71.

Информация об авторах

Петинати Наталия Арнольдовна*, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: loel@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6591-3183>

Шипунова Ирина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: iranifontova@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1189-0283>

Бигильдеев Алексей Евгеньевич, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: bigildeev_ae@gmail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0215-9085>

Сац Наталья Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: nsats@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1559-9381>

Челышева Екатерина Юрьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-консультативного отделения химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: denve@bk.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6423-1789>

Шухов Олег Александрович, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения, врач-гематолог, e-mail: shuhov@list.ru, тел.: +7(495)612-16-36 ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5393-0816>

Петрова Анна Николаевна, аспирант научно-консультативного отделения химиотерапии миелопролиферативных заболеваний, врач-гематолог ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: ap996@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5730-2593>

Туркина Анна Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель научно-консультативного отделения химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: turkianna@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9947-2371>

Information about the authors

Natalya A. Petinati*, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory for Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology, e-mail: loel@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6591-3183>

Irina N. Shipunova, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory for Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology, e-mail: iranifontova@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1189-0283>

Alexey E. Bigildeev, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory for Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology, e-mail: bigildeev_ae@gmail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0215-9085>

Natalya V. Sats, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory for Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology, e-mail: nsats@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1559-9381>

Ekaterina Yu. Chelysheva, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Research and Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Diseases, National Research Center for Hematology, e-mail: denve@bk.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6423-1789>

Oleg A. Shukhov, Cand. Sci. (Med.), Researcher, Hematologist, e-mail: shuhov@list.ru, tel.: +7(495)612-16-36 ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5393-0816>

Anna N. Petrova, Postgraduate Researcher, Scientific Advisory Department for Chemotherapy of Myeloproliferative Disorders, Hematologist, National Research Center for Hematology, e-mail: ap996@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5730-2593>

Anna G. Turkina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Research and Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Diseases, National Research Center for Hematology, e-mail: turkianna@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9947-2371>

Дризе Нина Иосифовна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией физиологии кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: ndrize@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7150-0403>

Nina I. Drize, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory for Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology,
e-mail: ndrize@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7150-0403>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 18.06.2019

Принята к печати: 12.09.2019

*** Corresponding author**

Received 18 Jun 2019

Accepted 12 Sep 2019

ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКОЙ ПУРПУРЫ У ВЗРОСЛЫХ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Меликян А. Л.¹, Егорова Е. К.^{1*}, Пустовая Е. И.¹, Колошейнова Т. И.¹, Володичева Е. М.², Капорская Т. С.³, Ильясов Р. К.⁴, Шелехова Т. В.⁵, Федорова Н. А.⁶, Зотова И. И.⁷, Сычева Т. М.⁸, Контиевский И. Н.⁹, Шестопалова И. Л.¹⁰, Куркина Н. В.¹¹, Сырцева Е. Б.¹², Тарасенко Е. В.¹³, Мересий О. В.¹⁴, Черкашенко Ж. В.¹⁵, Чабая Ю. А.¹, Куликов С. М.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

² ГУЗ ТО «Тульская областная клиническая больница», Тула, Россия

³ ГБУЗ «Иркутская областного «Знак Почета» областная клиническая больница», Иркутск, Россия

⁴ ГБУЗ РК «Крымский республиканский онкологический клинический диспансер имени В.М. Ефетова», Симферополь, Россия

⁵ ФГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Саратов, Россия

⁶ ГБУЗ АО «Амурская областная клиническая больница», Амурск, Россия

⁷ ФГБУ «РосНИИГТ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

⁸ ГБУЗ АО «Александр-Мариинская ОКБ», Астрахань, Россия

⁹ ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского», Москва, Россия

¹⁰ КГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1», Хабаровск, Россия

¹¹ ГБУЗ РМ «Республиканская клиническая больница № 4», Саранск, Россия

¹² КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 7», Красноярск, Россия

¹³ ГБУЗС «Городская больница № 1 им. Пирогова», Севастополь, Россия

¹⁴ ГБУЗ ПК «Пермская краевая клиническая больница», Пермь, Россия

¹⁵ ГБУЗ «Волгоградская областная клиническая больница № 1», Волгоград, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Первичная иммунная тромбоцитопения (идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура — ИТП) — редкое аутоиммунное заболевание, основным клиническим проявлением которого является геморрагический синдром различной степени тяжести. Терапия ИТП направлена на купирование геморрагических проявлений и сохранение качества жизни больного. В Российской Федерации (РФ) данные о заболеваемости, особенностях клинического течения и ответе на терапию больных ИТП отсутствуют.

Цель — оценка эпидемиологических и клинических характеристик ИТП у взрослого населения РФ.

Материалы и методы. Клинические и лабораторные данные электронной индивидуальной карты больного ИТП, включенного в многоцентровое проспективное наблюдательное когортное исследование «Эпидемиологические и клинические характеристики ИТП у взрослых в России» с 2014 по 2017 гг. Обработка данных проводилась с использованием методов описательной статистики, частотного, дисперсионного и событийного анализа. Расчеты проводились с помощью процедур статистического пакета SAS V9.4.

Результаты. Заболеваемость ИТП в трех выбранных регионах РФ среди взрослого населения в среднем составила 2,09 на 100 тыс. человек в год. Наибольшая заболеваемость в половозрастных группах была отмечена у женщин моложе 40 лет и составила 2,7 на 100 тыс. У мужчин отмечено постепенное увеличение заболеваемости с 1,09 до 2,5 на 100 тыс. в группе старше 60 лет. Обнаружена достоверная взаимосвязь между риском развития, тяжестью геморрагического синдрома и количеством тромбоцитов крови в дебюте заболевания ($p < 0,0001$). В 92,2 % случаев в качестве первой линии терапии назначались глюкокортикостероидные гормоны. Анализ методов, используемых в качестве второй линии терапии, показал, что хотя спленэктомия выполняется относительно часто, вероятность ее выполнения в течение последних трех лет снизилась с 26 до 17 %, при этом доля больных, получающих агонисты тромбоцетиновых рецепторов, увеличилась с 5,9 до 45,7 %.

Заключение: заболеваемость ИТП в трех выбранных регионах РФ сопоставима с таковой в других странах Европы.

Ключевые слова: идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, взрослые, заболеваемость, геморрагический синдром, спленэктомия, регистр больных ИТП

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Национального гематологического общества.

Благодарность. Выражаем благодарность за участие в проекте Соколовой И.С., Костинову К.М., Зотиной Е.Н., Пятковой О.А., Бабаевой Т.Н., Боговой В.С., Сухаревой А.М.

Для цитирования: Меликян А.Л., Егорова Е.К., Пустовая Е.И., Колошейнова Т.И., Володичева Е.М., Капорская Т.С., Ильясов Р.К., Шелехова Т.В., Федорова Н.А., Зотова И.И., Сычева Т.М., Контневский И.Н., Шестопалова И.Л., Куркина Н.В., Сырцева Е.Б., Тарасенко Е.В., Мересий О.В., Черкашенко Ж.В., Чабаяева Ю.А., Куликов С.М. Промежуточные результаты эпидемиологического исследования идиопатической тромбоцитопенической пурпуры у взрослых в Российской Федерации. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 436–446. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-436-446>

INTERIM RESULTS OF EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA IN ADULTS IN THE RUSSIAN FEDERATION: INTERMEDIATE RESULTS

Melikyan A. L.¹, Egorova E. K.¹, Pustovaya E. I.¹, Kolosheynova T. I.¹, Volodicheva E. M.², Kaporskaya T. S.³, Ilyasov R. K.⁴, Shelekhova T. V.⁵, Fedorova N. A.⁶, Zotova I. I.⁷, Sycheva T. M.⁸, Kontievsky I. N.⁹, Shestopalova I. L.¹⁰, Kurkina N. V.¹¹, Syrtseva E. B.¹², Tarasenko E. V.¹³, Meresiy O. V.¹⁴, Cherkashenko Zh. V.¹⁵, Chabaeva Yu. A.¹, Kulikov S. M.¹

¹National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

²Tula Regional Clinical Hospital, Tula, Russian Federation

³Irkutsk Regional Clinical Hospital, Irkutsk, Russian Federation

⁴Crimean Republican Clinical Oncology Dispensary named after V.M. Efetov, Simferopol, Russian Federation

⁵Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Saratov, Russian Federation

⁶Amursk Regional Clinical Hospital, Amursk, Russian Federation

⁷Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, Russian Federation

⁸Aleksandro-Mariinsky Regional Clinical Hospital, Astrakhan, Russian Federation

⁹M.F. Vladimirov Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI), Moscow, Russian Federation

¹⁰Territorial Clinical Hospital No.1, Khabarovsk, Russian Federation

¹¹Republican Clinical Hospital No.4, Saransk, Russian Federation

¹²Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Hospital No.7, Krasnoyarsk, Russian Federation

¹³Pirogov City Hospital No.1, Sevastopol, Russian Federation

¹⁴Perm Territorial Clinical Hospital, Perm, Russian Federation

¹⁵Volgograd Regional Clinical Hospital No.1, Volgograd, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Primary immune thrombocytopenia (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP) is a rare autoimmune disorder, whose main clinical manifestation consists in the hemorrhagic syndrome of varying severity. The therapy for ITP is aimed at eliminating hemorrhagic manifestations and maintaining patients' quality of life. There is no information on the incidence of ITP, as well as on the clinical course and response to the treatment of ITP patients, in the Russian Federation.

Aim. To estimate the epidemiological and clinical characteristics of ITP in the adult population of the Russian Federation.

Materials and methods. We studied clinical and laboratory data derived from electronic medical records of ITP patients having participated in a multi-centre, prospective, observational, cohort study "Epidemiological and Clinical Characteristics

of ITP in Adults in Russia” carried out from 2014 to 2017. The data was processed employing methods of descriptive statistics, as well as frequency analysis, event analysis and analysis of variance. The calculations were performed using the SAS V9.4 statistical package.

Results. The incidence of ITP in the adult population in three selected regions of the Russian Federation averaged 2.09 per 100 thousand people per year. The highest incidence rate in gender-age groups was observed in women under 40 years of age amounting to 2.7 per 100 thousand. A gradual increase in the incidence rate from 1.09 to 2.5 per 100 thousand was noted in the men over 60 years of age. A significant correlation was found between the risk of developing the hemorrhagic syndrome, its severity and the platelet count at the onset of the disease ($p < 0.0001$). In 92.2 % of cases, glucocorticosteroid hormones were prescribed as the first line of therapy. The analysis of methods used as the second line of therapy revealed that, although splenectomy is performed relatively frequently, its likelihood has decreased from 26 to 17 % over the past three years. In addition, the proportion of patients being treated with thrombopoietin receptor agonists has increased from 5.9 to 45.7 %.

Conclusion: The incidence of ITP in three selected regions of the Russian Federation is comparable to that in other European countries.

Keywords: idiopathic thrombocytopenic purpura, adults, incidence, hemorrhagic syndrome, splenectomy, registry of ITP patients

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

Financial disclosure. The study was supported by the National Hematology Society.

Acknowledgments. The authors express their sincere gratitude to Sokolova I.S., Kostikov K.M., Zotina E.N., Pyatkova O.A., Babaeva T.N., Bogotova V.S., Sukhareva A.M. for participating in the project.

For citation: Melikyan A.L., Egorova E.K., Pustovaya E.I., Kolosheina T.I., Volodicheva E.M., Kaporskaya T.S., Ilyasov R.K., Shelekhova T.V., Fedorova N.A., Zotova I.I., Sycheva T.M., Kontievsky I.N., Shestopalova I.L., Kurkina N.V., Syrtseva E.B., Tarasenko E.V., Meresiy O.V., Cherkashenko Zh.V., Chabaeva Yu.A., Kulikov S.M. Interim results of epidemiological study of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults in the Russian Federation: intermediate results. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(4):436–446 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-436-446>

Введение

Первичная иммунная тромбоцитопения (идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура — ИТП) — аутоиммунное заболевание, обусловленное выработкой аутоантител к структурам мембраны тромбоцитов и их предшественников — мегакариоцитов (МКЦ), вызывающих не только повышенную деструкцию тромбоцитов, но и неадекватный тромбоцитопоз, характеризующееся изолированной тромбоцитопенией с количеством тромбоцитов в крови менее $100 \times 10^9/\text{л}$ с наличием/отсутствием геморрагического синдрома различной степени выраженности [1–3].

В настоящее время первичные и вторичные иммунные тромбоцитопении все чаще объединяют в одну группу. Однако в отличие от вторичных тромбоцитопений, при которых этиология и патогенез известны, при ИТП продолжается поиск этиопатогенетических механизмов развития данной редкой патологии, а также молекулярных и генетических маркеров, которые могли бы стратифицировать больных на группы риска для индивидуализации лечебной тактики. Для достижения данных целей оптимальным рабочим инструментом могут послужить регистры больных, созданные в определенном регионе/стране.

Заболеваемость ИТП, то есть количество новых случаев заболевания среди населения исследуемого региона за определенный период, среди взрослого и детского

населения в России и во всем мире изучена недостаточно полно и варьирует в широких пределах — от 1,6 до 12,5 на 100 тыс. в год [4–5]. Широкий интервал оценок показателей заболеваемости ИТП обусловлен прежде всего сложностью выделения и регистрации первичных случаев болезни. В ряде регионов и стран в оцениваемую статистику включали только случаи, когда больные ИТП госпитализировались, или случаи, когда больным ИТП потребовалось назначения специфической терапии, часто анализ проводился только на основании ретроспективных данных [4–5].

Наименьший показатель заболеваемости ИТП в Европе был получен в Великобритании (1,6 на 100 тыс. населения в год) в пятилетнем проспективном исследовании 245 больных старше 16 лет с количеством тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$ [6]. Максимально высокий для Европы показатель заболеваемости (3,9 на 100 тыс. населения в год) был зарегистрирован в другой работе из Великобритании, в которой выполнен ретроспективный анализ когорты, состоявшей из 840 больных ИТП [7].

Мониторинг заболеваемости ИТП в Дании проводился на базе Датского национального реестра, который содержит информацию о больных с 1977 г., получавших как амбулаторную, так и стационарную помощь. Возможность собирать информацию о больных на протяжении 22 лет позволила оценить показатель заболева-

емости (в среднем 2,25/100 тыс. населения в год), изменение структуры заболеваемости с возрастом, смертность и ее причины при ИТП [4, 8–10].

Анализ большой группы больных ИТП (3771 человек) из Французской национальной медицинской страховой базы показал, что общенациональная заболеваемость во Франции составила около 2,9/100 тыс. населения в год с пиком заболеваемости среди населения старше 60 лет и преобладанием в этой группе мужчин. Заболеваемость была ниже в карибских провинциях Франции, что, возможно, обусловлено социально-административными причинами и особенностями национального состава. Также было отмечено изменение заболеваемости с севера на юг в континентальной Франции и сезонные колебания показателя (пик зимой и спад летом) [5].

В настоящее время проводится проспективное многоцентровое (22 медицинских центра) исследование эпидемиологии ИТП в одном регионе Франции с населением 3 млн человек, наблюдение за популяцией и больными планируется вести в течение 10 лет [11].

Заболеваемость в Азии наиболее точно оценивалась в Японии, где все больные регистрируются в централизованной базе данных. При анализе данных 523 больных всех возрастов показатель заболеваемости ИТП составил 2,28 на 100 тыс. населения в год, отмечается удвоение заболеваемости у лиц старше 60 лет [12].

Первое ретроспективное исследование данных 235 больных ИТП в Италии было выполнено на базе медицинского университета Падуи. Диагноз ИТП кодировался в соответствии с МКБ-9, и заболеваемость составила 6,8 случаев на 100 тыс. населения в год. Во втором исследовании был проведен анализ 40 больных с уточненным диагнозом ИТП в соответствии с МКБ-10, при котором заболеваемость составила 2,6 случая на 100 тыс. населения в год, что соответствовало средневропейским показателям [13].

Показатель заболеваемости в США составляет 6,6 на 100 тыс. населения в год, а количество новых случаев хронической рефрактерной ИТП — 1,0 на 100 тыс. Половозрастные показатели соответствовали таковым в Европе: соотношение мужчины : женщины составляет 1:2,6, отмечается преобладание больных в возрасте 20–50 лет [14].

Максимальный показатель заболеваемости ИТП в мире зафиксирован в Кувейте и составляет 12,5 на 100 тыс. населения в год [14].

Эпидемиологические исследования ИТП показали, что средний показатель заболеваемости у женщин выше, чем у мужчин (3,03 на 100 тыс. человек против 2,77 на 100 тыс. населения соответственно) [5, 11]. Отмечается рост числа заболевших среди больных старше 60 лет [5, 13] с максимумом в интервале от 70 до 80 лет [5, 12, 13].

Среди больных женского пола первый пик заболеваемости регистрируется в возрасте до 4 лет, второй — в 20–

34 года и третий — в интервале от 50 до 89 лет, группа старше 50 лет составляет более 50 % случаев [9, 10]. У лиц мужского пола рост заболеваемости отмечается в педиатрической группе и в возрастном интервале 65–79 лет, максимум в возрасте от 75 до 89 лет. Таким образом, среди молодых больных наблюдается преобладание женщин, а среди пожилых больных — мужчин [11]. У больных в возрасте от 15 до 49 и старше 50 лет соотношение мужчины : женщины составляет 1:2,62 и 1:1,39 соответственно, тогда как в группе от 65 до 74 лет наблюдается заметное превалирование мужчин [11, 12].

Эпидемиологических исследований с целью оценки заболеваемости и распространенности ИТП у взрослых в Российской Федерации не проводилось. Общей информации о количестве первичных случаев, необходимости терапии и ее эффективности, а также числе больных с хронической формой заболевания нет. Для решения этих проблем под эгидой Национального гематологического общества с декабря 2014 г. стартовало многоцентровое проспективное наблюдательное когортное исследование «Эпидемиологические и клинические характеристики ИТП у взрослых в России» на базе специально разработанного под эти цели регистра.

Целью настоящей работы была оценка эпидемиологических и клинических характеристик ИТП у взрослого населения РФ.

Материалы и методы

Данные о каждом впервые диагностированном случае ИТП вносили в специально разработанную электронную систему с использованием утвержденной электронной индивидуальной регистрационной карты больного (electronic Case Report Form — e-CRF). В проекте принимали участие врачи-гематологи из регионов РФ. Мониторинг статуса больных осуществляли не реже 1 раза в 6 мес. Для контроля качества аналитической группой проекта проводили промежуточный статистический анализ.

Главным условием включения больного в исследование было наличие диагноза ИТП, установленного на основании следующих критериев:

- 1) наличие изолированной тромбоцитопении менее $100 \times 10^9/\text{л}$ минимум в двух последовательных анализах крови, подтвержденной подсчетом их количества по Фонию;
- 2) отсутствие морфологических и функциональных аномалий тромбоцитов;
- 3) отсутствие патологии лимфоцитов, гранулоцитов и эритроцитов;
- 4) наличие повышенного или нормального числа МКЦ в пунктате костного мозга;
- 5) отсутствие спленомегалии;
- 6) отсутствие других заболеваний и состояний, протекающих со вторичной тромбоцитопенией [1].

Обязательными условиями были возраст старше 18 лет и наличие подписанного больным информированного согласия.

Статистическая обработка выполнялась аналитической группой проекта. Анализ проводили с использованием статистического пакета SAS 9.4. Использовали методы описательной статистики, частотный и дисперсионный анализ. Методы событийного анализа применяли для оценки вероятности и сроков выполнения спленэктомии. Результаты представлены преимущественно в виде медианы (Me), 95 %-го доверительного интервала (ДИ). Расчеты заболеваемости проводили в соответствии со стандартными процедурами демографической статистики. Данные по численности жителей регионов в половозрастных группах для оценки заболеваемости были получены с сайта Федеральной службы государственной статистики (РосСтат www.gks.ru). С 01.01.2014 по 15.12.2017 в регистр были внесены данные 1475 больных из 21 региона РФ как с длительным анамнезом болезни (ретроспективная группа), так и впервые установленным диагнозом ИТП (проспективная группа).

В ходе отработки методологии исследования во время первичного тестирования регистра для анализа качества диагностики, качества полноты вводимых данных и определения репрезентативности e-CRF была отмечена неконтролируемая селекция в ретроспективной группе больных. Это снижало качество внесенной информации, а именно не обеспечивало полноту вносимых данных, соблюдение временного регламента по мониторингу клинического, терапевтического, событийного и жизненного статуса больных, что потребовало внесения существенных корректировок в e-CRF. В связи с этим для дальнейшего анализа и расчета эпидемиологических характеристик заболеваемости и распространенности ИТП в РФ использовались данные 866 больных с впервые диагностированным заболеванием (проспективная группа), среди них 239 (27,6 %) мужчин и 627 (72,4 %) женщин, соотношение мужчины : женщины составило 1 : 2,6.

Медиана возраста больных в дебюте заболевания составила 47 лет (диапазон 18–89 лет), без статистически достоверных различий между мужчинами и женщинами.

Наибольшая доля больных (350 человек — 40,4 %) находилась в возрастной группе от 21 до 40 лет, 46 больных (5,3 %) в группе моложе 20 лет; 223 (25,8 %) больных — в группе от 41 до 60 лет и 247 больных (28,5 %) были старше 60 лет. Наибольшая частота встречаемости ИТП была зарегистрирована у женщин в возрастной группе 21–40 лет.

По характеру и степени выраженности геморрагический синдром оценивался согласно классификации ВОЗ [3]:

- 0-й степени — отсутствие геморрагического синдрома;
- 1-й степени — петехии и экхимозы (единичные);
- 2-й степени — незначительная потеря крови (мелена, гематурия, кровохарканье);

- 3-й степени — выраженная потеря крови (кровотечения, требующие переливания крови или кровезаменителей);

- 4-й степени — тяжелая кровопотеря (кровоизлияния в головной мозг и сетчатку глаза, кровотечения, заканчивающиеся летальным исходом).

В данной работе для определения степени геморрагического синдрома использовали термины: легкая степень — 0–1-я степень по ВОЗ классификации, средней тяжести — 2-я степень по ВОЗ классификации, тяжелая (жизнеугрожающая) — 3–4-я степень по ВОЗ классификации.

К тяжелой форме заболевания отнесены случаи, сопровождающиеся в дебюте кровоточивостью 3–4-й степени по шкале ВОЗ, требующие назначения лечения, а также случаи с развитием геморрагических осложнений на фоне проводимой терапии, требующие изменения дозировок или назначения альтернативных терапевтических подходов.

Результаты

Проведена экспертная оценка активности, полноты заполнения и покрытия популяции региона. На основании этих данных были выбраны три региона: Тульская, Иркутская и Смоленская области. Заболеваемость взрослого населения ИТП составила 4,2, 1,6 и 1,4 на 100 тыс. населения в год соответственно (табл. 1).

Таким образом, заболеваемость ИТП среди взрослого населения в выбранных регионах РФ в среднем составляла 2,0 на 100 тыс. населения в год.

Анализ заболеваемости в половозрастных стратах показал, что у мужчин отмечалась тенденция к возрастанию частоты развития ИТП от 1,09 в возрасте до 40 лет до 2,5 в возрасте старше 60 лет. Подобных изменений заболеваемости у женщин разных возрастных групп не выявлено. В возрастной группе старше 60 лет заболеваемость у мужчин и женщин была практически одинакова (рис. 1).

Анализ данных показал, что не все внесенные в регистр случаи соответствовали диагнозу ИТП согласно указанным в разделе «Материалы и методы» критериям (рис. 2).

У 666 (77 %) больных диагноз ИТП был установлен согласно всем рекомендованным критериям. В 23 % случаев отсутствовали данные о количестве МКЦ в костном мозге и проведении дополнительных серологических исследований на наличие/отсутствие антител к двуспиральной ДНК, к бета2-гликопротеину, к кардиолипинам, к нуклеарному фактору, тромбоцитассоциированным антител, что возможно связано с неполнотой внесения данных.

Прогноз течения заболевания зависит от степени тяжести геморрагического синдрома. Риск развития кровотечений у больных ИТП оценивается по количеству тромбоцитов в анализе периферической крови, подсчитанному по Фонио. Однако не всегда тяжесть

Таблица 1. Оценка заболеваемости впервые диагностированной ИТП в половозрастных группах с 2014 по 2017 гг.
Table 1. Incidence of newly diagnosed ITP in age and gender groups from 2014 to 2017

Регион Region	Заболеваемость (случаев на 100 000 населения в год) Incidence (cases per 100 000 people per year)	Пол больных и возрастные группы Gender of patients and age groups					
		мужчины men			женщины women		
		<40 лет (years)	40–60 лет (years)	>60 лет (years)	<40 лет (years)	40–60 лет (years)	>60 лет (years)
Иркутская область Irkutsk region	1,6	0,911	0,59	2,47	1,51	1,92	3,69
Тульская область Tula region	4,239	2,32	2,77	4,64	7,24	4,23	4,19
Смоленская область Smolensk region	1,43	1,43	0,97	1,27	2,51	0,53	2,58
Всего Total	2,01	1,09	1,1	2,5	2,7	2,08	2,98

геморрагических проявлений соответствует степени тромбоцитопении. Это было показано и в настоящем исследовании.

Медиана количества тромбоцитов в дебюте заболевания составила $18 \times 10^9/\text{л}$ с диапазоном от $3 \times 10^9/\text{л}$ до $100 \times 10^9/\text{л}$. При дальнейшем анализе больные были разделены на подгруппы в зависимости от количества тромбоцитов: у 272 (37,9 %) больных количество тромбоцитов составило от $3 \times 10^9/\text{л}$ до $10 \times 10^9/\text{л}$, у 222 (31,0 %) больных — от $11 \times 10^9/\text{л}$ до $30 \times 10^9/\text{л}$, у 108 (15,1 %) — от $31 \times 10^9/\text{л}$ до $50 \times 10^9/\text{л}$, у 115 (16,1 %) — от $51 \times 10^9/\text{л}$ до $100 \times 10^9/\text{л}$.

Геморрагический синдром разной степени тяжести был зарегистрирован у 663 (76,6 %) из 866 больных, у 184 (21,2 %) больных проявления геморрагического синдрома отсутствовали, у 19 (2,2 %) больных данные о развитии кровотечений или геморрагий не были представлены. Наиболее частыми геморрагическими проявлениями были: кожные геморрагии — 77 % случаев, кровоточивость слизистых полости рта — в 39 %, носовое кровотечение — 31 %, менометроррагии — 15 % (среди женщин), желудочно-кишечное кровотечение — 7 %, гематурия — 4 %, внутримозговое кровотечение — 0,9 %, другие — 1 % (кровоизлияние в сетчатку глаз, геморроидальное кровотечение).

Наибольший интерес представляла группа больных тяжелой формой ИТП, поскольку они требовали экстренной госпитализации и проведения неотложной терапии.

Была выявлена достоверная ассоциация между степенью кровотечения и количеством тромбоцитов в дебюте заболевания ($p < 0,0001$). При отсутствии кровотечений медиана количества тромбоцитов составляла $50 \times 10^9/\text{л}$ (95 %-ный ДИ $43\text{--}58 \times 10^9/\text{л}$), при геморрагическом синдроме легкой степени медиана количества тромбоцитов — $15 \times 10^9/\text{л}$ (95 % ДИ $12\text{--}20 \times 10^9/\text{л}$), при средней и тяжелой степенях — $10 \times 10^9/\text{л}$ (95 % ДИ $8\text{--}12 \times 10^9/\text{л}$) (рис. 3).

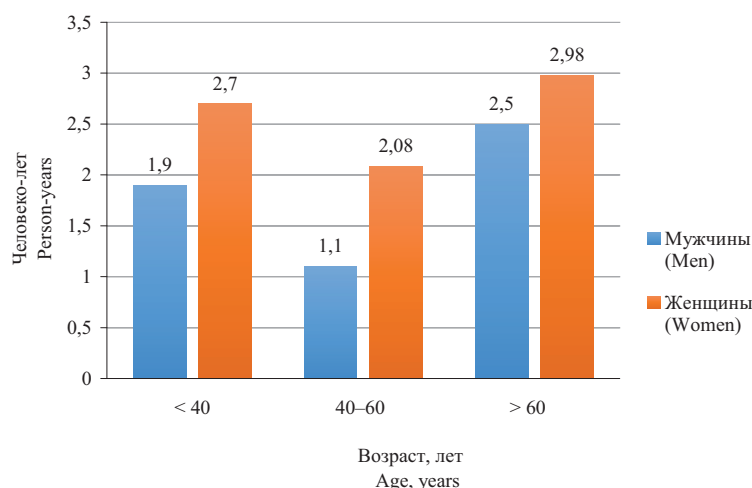


Рисунок 1. Заболеваемость больных в зависимости от возраста и пола
Figure 1. Morbidity in patients by age and sex

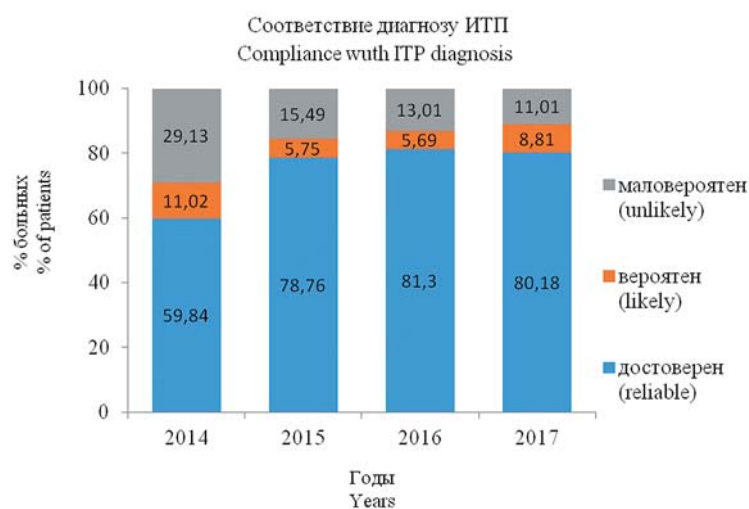


Рисунок 2. Распределение больных по годам согласно соответствию критериям диагноза ИТП

Figure 2. Distribution of the patients by the years according to the criteria for ITP diagnosis

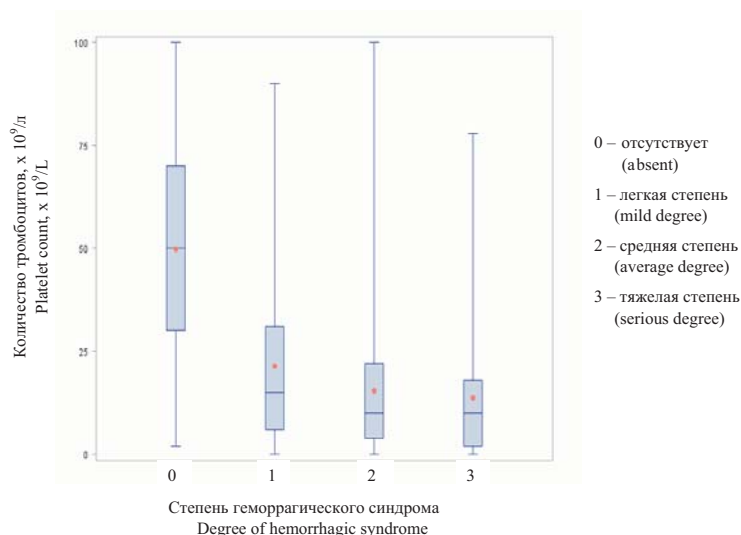


Рисунок 3. Корреляция степени геморрагического синдрома с количеством тромбоцитов. По степени выраженности геморрагический синдром оценивался согласно классификации ВОЗ [3]

Figure 3. Correlation between the severity of the hemorrhagic syndrome and the platelet count. The severity of the hemorrhagic syndrome was assessed according to the WHO classification [3]

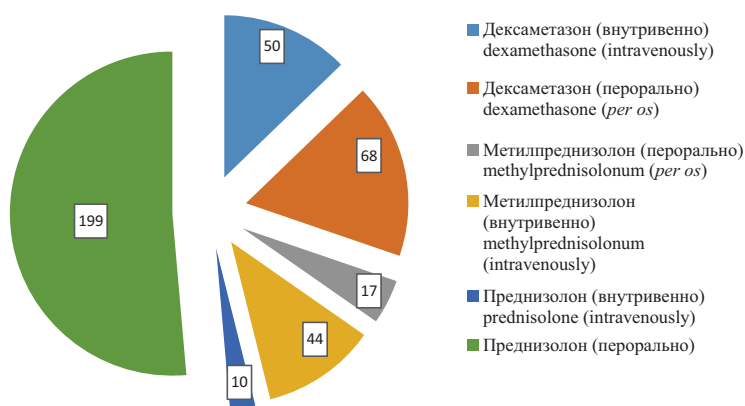


Рисунок 4. Распределение больных в зависимости от выбранного глюкокортикоидного препарата

Figure 4. Distribution of patients by selected glucocorticosteroid drug

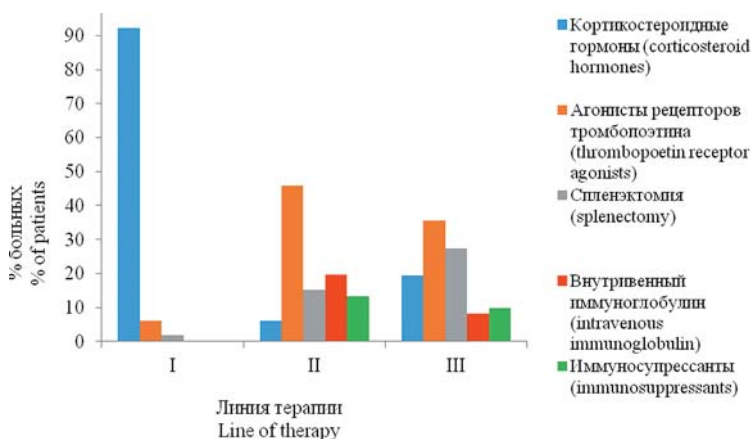


Рисунок 5. Распределение больных в зависимости от линии и метода терапии

Figure 5. Distribution of patients by the line and method of therapy

В задачи исследования входило описание используемых методов лечения больных ИТП в РФ. Согласно Национальным клиническим рекомендациям по диагностике и терапии ИТП у взрослых [1], к основным препаратам первой линии терапии относятся глюкокортикостероидные гормоны (ГКС), внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ), в urgent-ных ситуациях — спленэктомия.

Информация о терапии первой линии имелась для 421 (48,6 %) из 866 больных. В остальных случаях данные о лечении представлены не были, что связано в ряде случаев с несвоевременным заполнением e-CRF и/или наличием у больного геморрагического синдрома 0–1-й степени, не требовавшего проведения терапии.

В качестве первой линии ГКС получали 388 больных (92,2 %), агонисты тромбопоэтиновых рецепторов (агонисты ТПО) — 25 (5,9 %), спленэктомия была выполнена у 8 (1,9 %) больных.

В подавляющем большинстве (199 (51,3 %) из 388) случаев в качестве препарата первой линии терапии применяли перорально преднизолон в дозе 1 мг/кг массы тела, на втором месте по частоте использования у 68 (17,5 %) больных — пероральный прием дексаметазона. Менее популярными вариантами лечения были: в 50 (12,9 %) случаях — дексаметазон внутривенно в дозе 40 мг в течение 4 дней, в 44 (11,3 %) — препараты метилпреднизолона для внутривенного введения, у 17 (4,4 %) больных был использован пероральный метилпреднизолон и в 10 (2,6 %) — преднизолон внутривенно (рис. 4).

Наблюдение за больными показало, что в качестве второй линии терапии наиболее часто применялись агонисты ТПО — 45,7 % случаев, на втором месте по частоте использования оказались ВВИГ — 19,5 %, на третьем в 15,2 % — спленэктомия, в 13,4 % случаев были назначены другие иммуносупрессивные препараты (рис. 5).

Роль спленэктомии в качестве терапии второй линии постепенно уменьшается. Это может быть обусловлено наличием противопоказаний к спленэктомии и/или отказом больного, информированного о появлении новых методов терапии, обладающих высокой эффективностью и минимальным количеством побочных действий.

Изменение соотношения используемых во второй линии терапевтических подходов в пользу агонистов ТПО было подтверждено и путем оценки вероятности выполнения спленэктомии как первой опции у больных с хронической формой заболевания и/или при резистентности к препаратам первой линии, рассчитанной до и после 2015 г. До 2015 г. вероятность выполнения спленэктомии достигала 26 % к двум годам от момента установления диагноза, медиана срока выполнения операции у тех, кому она была сделана, составила 15 мес. После 2015 г. спленэктомия выполнялась ко второму году лечения только у 17 % больных и, как правило, раньше — медиана срока

выполнения операции у тех, кому она была сделана, составила 7 мес.

Обсуждение

Иммунная тромбоцитопения — это гетерогенная группа заболеваний с различными патофизиологическими механизмами, влияющими на течение болезни, выбор варианта и определяющими эффективность лечения. Для применения индивидуализированного подхода к лечению необходимо больше знаний об этиологии, патогенезе, факторах риска возникновения и течении болезни. В решении этих вопросов могут помочь эпидемиологические исследования ИТП. Такое исследование было проведено с использованием регистра взрослых больных с ИТП, основанного в 2014 г. Основная цель исследования — дать предварительную количественную оценку эпидемиологической и демографической ситуации ИТП у взрослых пациентов в РФ, а также выявить особенности клинического течения болезни и применяемой лечебной тактики.

Изучение половозрастных эпидемиологических характеристик было проведено среди 866 больных с впервые диагностированным заболеванием, среди них 239 мужчин и 627 женщин. Исследуемая когорта, ее объем и структура соответствовали результатам европейских и азиатских исследований [4–6, 9–13]. Заболеваемость взрослого населения первичной иммунной тромбоцитопенией в РФ в среднем составила 2,0 на 100 тыс. населения в год. Полученный результат сопоставим с данными регистров других стран Европы [4–8, 10–13].

В настоящем исследовании показано, что у мужчин отмечалась тенденция к возрастанию заболеваемости ИТП от 1,1 на 100 тыс. населения в год в возрасте 40 лет, до 2,5 на 100 тыс. населения в год в возрасте старше 60 лет. Подобных возрастных изменений заболеваемости у женщин не выявлено. В возрастной группе старше 60 лет заболеваемость у мужчин и женщин была практически одинакова, тогда как данные эпидемиологических исследований в других странах Европы и США демонстрируют значительное превы-

шение заболеваемости у мужчин в этом возрасте [5, 11–13], что может быть обусловлено административными причинами, особенностями ранней диагностики и различиями обращаемости у мужчин и женщин в старших возрастных группах в России.

В 92,2 % случаев в качестве первой линии терапии назначались глюкокортикостероидные гормоны. В качестве второй линии терапии все чаще (45,7 %) стали применяться агонисты ТПО, роль спленэктомии уменьшилась (15,2 %). Это обусловлено, появлением новых терапевтических опций, применяемых у больных с хронической, резистентной или рецидивирующей формами заболевания. Отмечено изменение соотношения используемых методов терапии внутри линий в связи с внедрением в клиническую практику новых лекарственных препаратов — агонистов ТПО. Такая же тенденция наблюдается и за рубежом, где частота выполнения спленэктомии меньше, чем в РФ [11–14].

На данном этапе работы регистра не удалось дать эпидемиологическую характеристику во всех включенных регионах по причине отсутствия полноты регистрации впервые заболевших больных. С целью повышения качества и полноты вносимой в регистр информации была проведена корректировка структуры электронной истории больного, было улучшено взаимодействие и проведена работа с гематологами в регионах для обеспечения полноты внесения данных о больных ИТП. Улучшение менеджмента проведения исследования и дальнейшее накопление данных позволит при проведении следующих этапов анализа более точно и полно оценить показатели заболеваемости и программ терапии больных ИТП в регионах РФ.

Таким образом, проведенный промежуточный анализ работы регистра ИТП позволил подтвердить необходимость создания централизованных систем учета заболеваемости определенной нозологической единицей в популяции. Одновременно были выявлены недоработки в ведении регистра, предприняты меры по их устранению и стандартизации внесения данных для оптимизации дальнейшей работы.

Литература

1. Меликян А.Л., Пустовая Е.И., Цветаева Н.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (первичной иммунной тромбоцитопении) у взрослых (редакция 2016 г.). Гематология и трансфузиология. 2017; 62(S1): 1–24.
2. Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T. et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from international working group. Blood. 2009; 113(11): 2386–93. DOI: 10.1182/blood-2008-07-162503
3. Provan D., Stasi R., Newland A.S. et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. Blood. 2010; 115(2): 168–86. DOI: 10.1182/blood-2009-06-225565
4. Fogarty P.F. Chronic immune thrombocytopenia in adults: epidemiology and clinical presentation. Hematol. Oncol. Clin. North Am. 2009; 23(6): 1213–21. DOI: 10.1016/j.hoc.2009.08.004

References

1. Melikyan A.L., Pustovaya E.I., Cvetaeva N.V. et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura (primary immune thrombocytopenia) in adults (edition 2016). Hematologiya i Transfusiologiya. 2017; 62(S1): 1–24.
2. Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T. et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from international working group. Blood. 2009; 113(11): 2386–93. DOI: 10.1182/blood-2008-07-162503
3. Provan D., Stasi R., Newland A.S. et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. Blood. 2010; 115(2): 168–86. DOI: 10.1182/blood-2009-06-225565
4. Fogarty P.F. Chronic immune thrombocytopenia in adults: epidemiology and clinical presentation. Hematol. Oncol. Clin. North Am. 2009; 23(6): 1213–21. DOI: 10.1016/j.hoc.2009.08.004

5. Moulis G., Palmaro A., Montastruc J.L. et al. Epidemiology of incident immune thrombocytopenia: a nationwide population-based study in France. *Blood*. 2014; 124(22): 3308–15. DOI: 10.1182/blood-2014-05-578336
6. Neylor A.J., Saunders P.W., Howard M.R. et al. Clinically significant newly presenting autoimmune thrombocytic purpura in adults: a prospective study of population-based cohort of 245 patients. *Br. J. Haematol.* 2003; 122(6): 966–74.
7. Abrahamson P.E., Hall S.A., Feudjo-Tepie M.A. et al. The incidence of ITP in adults: a population based study and literature review. *Eur. J. Haematol.* 2009; 83(2): 83–9. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2009.01247
8. Frederiksen H., Schmidt K. The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults increases with age. *Blood*. 1999; 94(3): 909–13.
9. Frederiksen H., Maegback M.L., Norgaard M. Twenty-year mortality of adult patients with primary immune thrombocytopenia: a Danish population-based cohort study. *Br. J. Haematol.* 2014; 166(2): 260–7. DOI: 10.1111/bjh.12869
10. Terrell D.R., Beebe L.A., Vesely S.K., et al. The incidence of immune thrombocytopenic purpura in children and adults: A critical review of published reports. *Am. J. Hematol.* 2010; 85(3): 174–80. DOI: 10.1002/ajh
11. Moulis G., Germain J., Comont T. et al. Newly diagnosed immune thrombocytopenia in adults: clinical epidemiology, exposure to treatments and evolution. Results of the CARMEN multicenter prospective cohort. *Am J Hematol.* 2017; 92(6): 493–500. DOI: 10.1002/ajh.24702
12. Kurata Y., Fujimura K., Kuwana M. et al. Epidemiology of primary immune thrombocytopenia in children and adults in Japan: a population-based study and literature review. *Int. J. Hemat.* 2011; 93(3): 329–35. DOI: 10.1007/s12185-011-0791-1
13. Galdarossa M., Vianello F., Tezza F. et al. Epidemiology of primary and secondary thrombocytopenia: first analysis of an administrative database in major Italian institution. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 2012; 23(4): 271–7. DOI: 10.1097/MBC.0b013e328351882d
14. Kistangari G., McCrae K.R. Immune thrombocytopenia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2013; 27(3): 495–520. DOI: 10.1016/j.hoc.2013.03.001

Информация об авторах

Меликян Анаит Левоновна, доктор медицинских наук, заведующая отделением стандартизации методов лечения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: anoblood@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2119-3775>

Егорова Елена Константиновна*, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения стандартизации методов лечения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: Egorova.e@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6038-9474>

Пустовая Елена Игоревна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения стандартизации методов лечения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: elenapustov@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1099-8092>

5. Moulis G., Palmaro A., Montastruc J.L. et al. Epidemiology of incident immune thrombocytopenia: a nationwide population-based study in France. *Blood*. 2014; 124(22): 3308–15. DOI: 10.1182/blood-2014-05-578336
6. Neylor A.J., Saunders P.W., Howard M.R. et al. Clinically significant newly presenting autoimmune thrombocytic purpura in adults: a prospective study of population-based cohort of 245 patients. *Br. J. Haematol.* 2003; 122(6): 966–74.
7. Abrahamson P.E., Hall S.A., Feudjo-Tepie M.A. et al. The incidence of ITP in adults: a population based study and literature review. *Eur. J. Haematol.* 2009; 83(2): 83–9. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2009.01247
8. Frederiksen H., Schmidt K. The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults increases with age. *Blood*. 1999; 94(3): 909–13.
9. Frederiksen H., Maegback M.L., Norgaard M. Twenty-year mortality of adult patients with primary immune thrombocytopenia: a Danish population-based cohort study. *Br. J. Haematol.* 2014; 166(2): 260–7. DOI: 10.1111/bjh.12869
10. Terrell D.R., Beebe L.A., Vesely S.K., et al. The incidence of immune thrombocytopenic purpura in children and adults: A critical review of published reports. *Am. J. Hematol.* 2010; 85(3): 174–80. DOI: 10.1002/ajh
11. Moulis G., Germain J., Comont T. et al. Newly diagnosed immune thrombocytopenia in adults: clinical epidemiology, exposure to treatments and evolution. Results of the CARMEN multicenter prospective cohort. *Am J Hematol.* 2017; 92(6): 493–500. DOI: 10.1002/ajh.24702
12. Kurata Y., Fujimura K., Kuwana M. et al. Epidemiology of primary immune thrombocytopenia in children and adults in Japan: a population-based study and literature review. *Int. J. Hemat.* 2011; 93(3): 329–35. DOI: 10.1007/s12185-011-0791-1
13. Galdarossa M., Vianello F., Tezza F. et al. Epidemiology of primary and secondary thrombocytopenia: first analysis of an administrative database in major Italian institution. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 2012; 23(4): 271–7. DOI: 10.1097/MBC.0b013e328351882d
14. Kistangari G., McCrae K.R. Immune thrombocytopenia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2013; 27(3): 495–520. DOI: 10.1016/j.hoc.2013.03.001

Information about the authors

Anait L. Melikyan, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department for the Standardization of Treatment Methods, National Research Center for Hematology,
e-mail: anoblood@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2119-3775>

Elena K. Egorova*, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Department for the Standardization of Treatment Methods, National Research Center for Hematology,
e-mail: Egorova.e@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6038-9474>

Elena I. Pustovaya, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Department for the Standardization of Treatment Methods, National Research Center for Hematology,
e-mail: elenapustov@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1099-8092>

Колошейнова Тамара Ивановна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения стандартизации методов лечения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: Kolosheinova.t@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4580040X>

Володичева Елена Михайловна, кандидат медицинских наук, заведующая гематологическим отделением ГУЗ ТО «Тульская областная клиническая больница»,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3011-9729>

Капорская Татьяна Семеновна, кандидат медицинских наук, заведующая гематологическим отделением ГБУЗ «Иркутская ордена “Знак Почета” областная клиническая больница»,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-8209>

Ильясов Ридван Казимович, врач-гематолог, ГБУЗ РК «КРОКД им. В.М. Ефетова»,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0626-697X>

Шелехова Татьяна Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой гематологии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского»,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4737-7695>

Федорова Наталья Анатольевна, врач-гематолог, ГАУЗ АО «Амурская областная клиническая больница»,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6277-9521>

Зотова Ирина Ивановна, кандидат медицинских наук, заведующая клинико-диагностическим отделением, ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3401-3662>

Сычева Татьяна Михайловна, заведующая гематологическим отделением, Александрo-Мариинская областная клиническая больница,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3224-702X>

Контиевский Илья Николаевич, врач-гематолог ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского»,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9337-6784>

Шестопалова Инна Леонидовна, врач-гематолог КГБУЗ ККБ № 1 ОГ и ХТ,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1325-4152>

Куркина Надежда Викторовна, доцент ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева»,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1264-102X>

Сырцева Екатерина Беязитовна, врач-гематолог, краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Красноярская межрайонная клиническая больница №7»,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5850-0695>

Tamara I. Kolosheinova, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Department for the Standardization of Treatment Methods, National Research Center for Hematology,
e-mail: Kolosheinova.t@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4580040X>

Elena M. Volodicheva, Cand. Sci. (Med.), Head of the Hematology Department, Tula Regional Clinical Hospital,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3011-9729>

Tatyana S. Kaporskaya, Cand. Sci. (Med.), Head of the Hematology Department, Irkutsk Regional Clinical Hospital,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-8209>

Ridvan K. Ilyasov, Hematologist, Crimean Republican Clinical Oncology Dispensary named after V.M. Efetov,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0626-697X>

Shelekhova Tatyana Vladimirovna, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Hematology Department, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4737-7695>

Natalya A. Fedorova, Hematologist, Amursk Regional Clinical Hospital,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6277-9521>

Irina I. Zotova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Clinical Diagnostic Department, Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3401-3662>

Tatyana M. Sycheva, Head of the Hematology Department, Aleksandro-Mariinsky Regional Clinical Hospital,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3224-702X>

Ilya N. Kontievsky, Hematologist, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI),
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9337-6784>

Inna L. Shestopalova, Hematologist, Territorial Clinical Hospital No.1,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1325-4152>

Nadezhda V. Kurkina, Assoc. Prof., Ogarev Mordovia State University
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1264-102X>

Ekaterina B. Syrtseva, Hematologist, Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Hospital No.7,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5850-0695>

Тарасенко Елена Викторовна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением терапии, врач-гематолог ГБУЗ «Городская больница №1»,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3445-5631>

Мересий Олимпиада Валерьевна, врач-гематолог ГБУЗ ПК «Пермская краевая клиническая больница»,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6176-232X>

Черкашенко Жанна Владимировна, врач-гематолог первой категории ГБУЗ ВОКБИН №1,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7205-3991>

Чабаяева Юлия Александровна, кандидат технических наук, старший научный сотрудник информационно-аналитического отдела ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8044-598X>

Куликов Сергей Михайлович, кандидат технических наук, руководитель информационно-аналитического отдела, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6288-7570>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 04.02.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Elena V. Tarasenko, Cand. Sci. (Med.), Head of the Therapy Department, Hematologist, Pirogov City Hospital No.1,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3445-5631>

Olimpiada V. Meresiy, Hematologist, Perm Territorial Clinical Hospital,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6176-232X>

Zhanna V. Cherkashenko, Hematologist (first category), Volgograd Regional Clinical Hospital No.1,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7205-3991>

Yulia A. Chabaeva, Cand. Sci. (Tech.), Senior Researcher, Information and Analysis Department, National Research Center for Hematology,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8044-598X>

Sergey M. Kulikov, Cand. Sci. (Tech.), Head of the Information and Analysis Department, National Research Center for Hematology,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6288-7570>

*** Corresponding author**

Received 04 Feb 2019

Accepted 12 Sep 2019

ВЫСОКОДОЗНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ ПЕРВИЧНОЙ ДИФфуЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ. ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОТОКОЛА CNS-2015

Звонков Е. Е.^{1,*}, Королева Д. А.¹, Габеева Н. Г.¹, Гаврилина О. А.¹, Федорова С. Ю.¹, Губкин А. В.², Ковригина А. М.¹, Яцык Г. А.¹, Клясова Г. А.¹, Савенко Т. А.¹, Савченко В. Г.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

²ЦКБ им. Н. А. Семашко ОАО «РЖД», 129128, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Основой индукционной химиотерапии (ХТ) первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомы центральной нервной системы (ПДВККЛ ЦНС) является применение метотрексата в высоких дозах. Оптимальной стратегией консолидации является высокодозная ХТ с последующей трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). Наиболее эффективным режимом кондиционирования являются комбинации химиопрепаратов с включением тиотепа.

Цель: предоставить собственный опыт применения ауто-ТГСК/ТВС у больных ПДВККЛ ЦНС.

Методы. С 2015 по 2019 г. в проспективное исследование CNS-2015 было включено 20 больных в возрасте от 20 до 52 лет (медиана 42 года). Соотношение мужчины/женщины = 13/7. Соматический статус у 17 (85 %) больных соответствовал 0–1 баллу по шкале ECOG и только у 3 (15 %) — 4 баллам. Согласно критериям прогностической системы MSKCC, 18 (90 %) больных были отнесены к группе низкого риска и 2 (10 %) больных — к группе среднего риска.

Результаты. Всем больным, включенным в исследование, было проведено 3–5 циклов ХТ с метотрексатом в высоких дозах, винкристином, прокарбазином и ритуксимабом (R-MPV) и выполнена ауто-ТГСК с режимом кондиционирования ТВС (тиотепа, бусульфид, циклофосфамид). Перед началом ауто-ТГСК у 15 из 20 больных, у которых полностью завершили индукционную ХТ, была достигнута полная ремиссия, а у 5 — частичная ремиссия. У 5 больных с исходным частичным ответом после ауто-ТГСК удалось достичь полной ремиссии. Всем больным проводилась поддерживающая терапия темозоломидом в течение 2 лет. При медиане наблюдения 17 (1–46) месяцев 18 больных живы и находятся в ремиссии заболевания. Двое больных, у которых развился рецидив заболевания (+4 и +5 месяцы после ауто-ТГСК) и не было ответа на вторую линию ХТ и лучевую терапию, умерли через 24 и 26 месяцев после ауто-ТГСК.

Заключение. Режим R-MPV является эффективным методом лечения больных ПДВККЛ ЦНС, не сопровождающийся тяжелой токсичностью. Применение высокодозной ХТ по программе ТВС позволяет достичь высокой частоты ремиссий, при этом смертность, связанная с лечением, в группе больных, включенных в протокол, была равна 0 %.

Ключевые слова: первичная диффузная В-крупноклеточная лимфома центральной нервной системы, трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток крови, высокодозная химиотерапия

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства здравоохранения РФ (Клиническая апробация «Метод улучшения эффективности программной химиотерапии первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомы ЦНС»).

Благодарность. Авторы выражают благодарность коллективу ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко» за оказанную помощь в проведении исследования.

Для цитирования: Звонков Е.Е., Королева Д.А., Габеева Н.Г., Гаврилина О.А., Федорова С.Ю., Губкин А.В., Ковригина А.М., Яцык Г.А., Клясова Г.А., Савенко Т.А., Савченко В.Г. Высокодозная химиотерапия первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомы центральной нервной системы. Промежуточные результаты протокола CNS-2015. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 447–461. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-447-461>

HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY FOR PRIMARY DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM. INTERIM RESULTS OF THE CNS-2015 PROTOCOL

Zvonkov E. E.^{1,*}, Koroleva D. A.¹, Gabeeva N. G.¹, Gavrilina O. A.¹, Fedorova S. Yu.¹, Gubkin A. V.², Kovrigina A. M.¹, Yatsyk G. A.¹, Klyasova G. A.¹, Savenko T. A.¹, Savchenko V. G.¹

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

²N.A. Semashko Central Clinical Hospital No. 2, JSC "Russian Railways", 129128, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Induction chemotherapy (CT) for primary diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) of the central nervous system (CNS) is based on the use of methotrexate in high doses. An optimal consolidation strategy involves high-dose chemotherapy followed by autologous haematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT). The most effective conditioning regimen comprises a combination of chemotherapy agents including thiotepa.

Aim. To present the authors' experience of applying auto-HSCT/TBC in patients with primary DLBCL of the CNS.

Methods. The prospective study CNS-2015 was carried out among 20 patients aged 20–52 years (median 42 years old) from 2015 to 2019. The male/female ratio came to 13/7. The somatic status of 17 (85 %) patients was 0–1 on the ECOG scale. Only 3 (15 %) patients showed the somatic status of 4 points. According to the criteria of the MSKCC prognostic system, 18 (90 %) and 2 (10 %) patients were assigned to the low-risk and medium-risk groups, respectively.

Results. All patients included in the study received 3–5 cycles of chemotherapy with high doses of methotrexate, vincristine, procarbazine and rituximab (R-MPV), as well as underwent auto-HSCT following TBC-based conditioning regimen (thiotepa, busulfan, cyclophosphamide). Prior to auto-HSCT, 15 and 5 out of 20 patients having completed induction chemotherapy achieved complete remission and partial remission, respectively. Following auto-HSCT, complete remission was achieved in 5 patients with an initial partial response to treatment. All patients underwent temozolomide maintenance therapy for 2 years. With a median follow-up of 17 (1–46) months, 18 patients are alive and in remission. Two patients, who relapsed 4 and 5 months after auto-HSCT and achieved no response to the second line of chemotherapy and radiation therapy, died 24 and 26 months after auto-HSCT.

Conclusion. R-MPV is an effective treatment for patients with primary DLBCL of CNS, which is not accompanied by severe toxicity. The use of high-dose chemotherapy with TBC allows a high remission rate to be achieved. The mortality associated with treatment in the group of patients included in the study came to 0 %.

Keywords: primary DLBCL, CNS, auto-HSCT, high-dose chemotherapy

Financial disclosure. This study was supported by the Ministry of Health of the Russian Federation (Clinical testing "Method for Improving the Efficacy of the Chemotherapy Regimen for Primary Diffuse Large B-cell Lymphoma of the Central Nervous System")

Acknowledgments. The authors express their gratitude to the staff of the N. N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery for their assistance in conducting the study.

For citation: Zvonkov E.E., Koroleva D.A., Gabeeva N.G., Gavrilina O.A., Fedorova S.Yu., Gubkin A.V., Kovrigina A.M., Yatsyk G.A., Klyasova G.A., Savenko T.A., Savchenko V.G. High-dose chemotherapy for primary diffuse large B-cell lymphoma of the central nervous system. Interim results of the CNS-2015 protocol. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(4): 447–461 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-447-461>

Введение

Первичная диффузная В-крупноклеточная лимфома центральной нервной системы (ПДВККЛ ЦНС) составляет от 1 до 3 % всех лимфом и не более 3 % всех опухолей головного мозга [1–5]. Медиана возраста больных на момент установления диагноза составляет 65 лет. Редкая встречаемость, особенности первичной локализации, агрессивное клиническое течение ПДВККЛ ЦНС создают объективные сложности диагностики и лечения. Длительное время считалось, что в основе химиорезистентности этой опухоли лежит ее уникальная локализация, а все химиотерапевтические подходы были связаны с преодолением гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Многочисленные попытки применения химиотерапии (ХТ) с максимальным набором цитостатических препаратов, способных преодолеть ГЭБ, не привели к существенному успеху [1, 2, 4–10]. Рецидивы заболевания, возникающие как в ранние сроки после ХТ, так и через несколько лет после ее окончания, выделяли ПДВККЛ ЦНС среди других форм диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ). На протяжении последних лет, благодаря морфологическим, иммуногистохимическим, кариологическим и молекулярно-генетическим исследованиям, были выявлены уникальные биологические особенности ПДВККЛ ЦНС, радикально отличающие ее от других нодальных и экстра nodальных форм ДВККЛ [11–22]. Факты, полученные при изучении нейроиммунологических свойств опухоли, также изменили стереотипное понимание «иммунопривилегированности» ПДВККЛ ЦНС. Стало понятным, что ГЭБ в условиях опухолевого поражения не является существенной «преградой» не только для большинства цитостатических препаратов, но и моноклональных антител [23], «малых молекул» [24] Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR-T клетки) [25], что существенно изменило тактику лечения ПДВККЛ ЦНС.

Улучшить показатели безрецидивной (БРВ) и общей выживаемости (ОВ) ПДВККЛ ЦНС удалось после введения в протоколы лечения миелоаблативных режимов кондиционирования, включающего в себя высокие дозы тиофосфамида, бусульфана и циклофосфамида (ТВС режим) с последующей трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток крови (ауто-ТГСК) [26–33].

Изменилась тактика индукционной терапии ПДВККЛ ЦНС, целью которой стало не достижение длительной ремиссии за счет интенсификации химиотерапевтического воздействия, а максимально быстрая кинетическая редукция опухоли, восстановление неврологического статуса и возможность заготовить достаточное количество стволовых клеток крови (СКК) [26].

А. Omuro и соавт. [26] из Memorial Sloan Kettering Cancer Center удалось объединить эти новые терапев-

тические подходы в одном протоколе и достигнуть показателей БРВ и ОВ ПДВККЛ ЦНС, сопоставимых с таковыми при других экстра nodальных диффузных В-крупноклеточных лимфомах (ДВККЛ). Авторами [26] было показано, что достижение 97 % общего ответа и 66 % полных ремиссий (ПР) у 32 больных ПДВККЛ ЦНС возможно на относительно нетоксичной четырехкомпонентной терапии (схема R-MPV — ритуксимаб, высокие дозы метотрексата, прокарбазин, винкристин). Эффективность терапии зависела не от способности этих препаратов, прежде всего ритуксимаба и винкристина, преодолевать ГЭБ, а скорее от кинетической противоопухолевой активности данной схемы. Применение высоких доз тиофосфамида, бусульфана, циклофосфамида (режим ТВС) позволило добиться 81 % пятилетней БРВ в общей группе и 100 % БРВ у 11 больных моложе 50 лет. Однако даже такая двухэтапная тактика не исключает развития рецидива примерно у 20 % больных. Многими авторами [34–36] обсуждается рациональность проведения поддерживающей терапии ПДВККЛ ЦНС (темозоломид, леналидомид, ниволумаб, ибрутиниб), однако утвержденных протоколов пока не разработано. J. Glass и соавт. [36] показали преимущества поддерживающей терапии темозоломидом у больных ПДВККЛ ЦНС после индукционного этапа, однако эффективность такого подхода после высокодозной ХТ не изучена.

Целью данной работы была проспективная оценка эффективности и токсичности высокодозной ХТ (R-MPV + ауто-ТГСК/ТВС) с последующей двухлетней поддерживающей терапией темозоломидом у больных ПДВККЛ ЦНС моложе 60 лет (протокол CNS-2015) [4].

Материалы и методы

В период с июля 2015 г. по май 2019 г. в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России в проспективное исследование CNS-2015 было включено 20 больных с впервые установленным диагнозом ПДВККЛ ЦНС: 7 (35 %) женщин и 13 (65 %) мужчин. Медиана возраста на момент установления диагноза составила 42 года (20–62 года). Соматический статус у 17 (85 %) больных соответствовал 0–1 баллу по шкале ECOG и только у 3 (15 %) — 4 баллам [37]. Согласно критериям прогностической системы MSKCC [26], 18 (90 %) больных были отнесены к группе низкого риска и 2 (10 %) больных — к группе среднего риска. Характеристики больных представлены в таблице 1.

Для установления диагноза больным выполнялись стереотаксическая биопсия ($n = 10$) и хирургическое удаление опухоли ($n = 10$).

Протокол CNS-2015 был утвержден локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. Больные включались в прото-

Таблица 1. Характеристики больных ($n = 20$)**Table 1.** Patient characteristics ($n = 20$)

Возраст, медиана (диапазон), лет Age, median (range), years <60, n (%) ≥ 60, n (%)	42 (20–62) 18 (90) 2 (10)
Мужчины : Женщины, n Males : Females, n	13:7
ECOG = 0–1, n (%) ECOG = 0–1, n (%)	17 (85) 3 (15)
Прогностическая шкала МСК: MSK prognostic score: Низкий риск, n (%) Low risk, n (%) Средний риск, n (%) Intermediate risk, n (%) Высокий риск, n (%) High risk, n (%)	18 (90) 2 (10) 0
Морфология ДВБКЛ, n (%) Morphology: DLBCL, n (%)	20 (100)
Статус заболевания на момент ауто-ТГСК: Disease status at the moment auto-HSCT: ПР, n (%) CR, n (%) ЧР, n (%) PR, n (%)	15 (75) 5 (25)

кол при наличии впервые установленного диагноза ПДВБКЛ ЦНС, подтвержденного результатами гистологического и иммуногистохимического исследований биоптата опухоли. К другим критериям включения были отнесены возраст от 18 до 60 лет, фракция сердечного выброса >50 %, клиренс эндогенного креатинина >50 мл/мин, концентрация общего билирубина <20 мкмоль/л, негативные тесты на ВИЧ, отсутствие очагов поражения вне ЦНС, тяжелых инфекционных осложнений, психических расстройств, второго активного опухолевого процесса и предшествующей длительной терапии глюкокортикостероидными препаратами [4]. Двое из 20 больных, включенных в исследование, не соответствовали критериям включения: один больной в возрасте 62 лет был включен в протокол с учетом отсутствия коморбидности и одна больная — после предшествующей ХТ: ей было проведено два курса R-СНОР.

Всеми больными было подписано добровольное информированное согласие на включение в исследовательский протокол лечения.

При гистологическом и иммуногистохимическом исследованиях биоптатов опухолей все случаи были отнесены к поп-GCB — иммуногистохимическому варианту ДВБКЛ с высокой пролиферативной активностью по экспрессии Ki-67.

С целью исключения вторичного характера поражения ЦНС всем больным было проведено обследование, включавшее трепанобиопсию костного мозга, иммунохимическое исследование сыворотки крови и мочи,

компьютерную томографию (КТ) органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза, магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного мозга, ультразвуковое исследование органов мошонки (для мужчин), фиброгастродуоденоскопию. В результате проведенного обследования признаков опухолевой инфильтрации оболочек мозга, поражения спинного мозга выявлено не было. Офтальмологическое исследование было проведено у 16 больных, признаков специфической инфильтрации задних камер глаза не выявлено ни в одном случае. По данным МРТ головного мозга перед выполнением оперативного вмешательства у 10 (50 %) из 20 больных было выявлено более двух опухолевых очагов (рис. 1). У 2 из 10 больных с единичным опухолевым очагом выявлено поражение ствола головного мозга (рис. 2). Одному больному в связи с развитием внутричерепной гипертензии вследствие прорастания опухолью правого бокового желудочка и нарушения ликвородинамики выполнено вентрикулоцистернальное шунтирование по Торкильдсену.

Исследование ликвора было возможным провести только у 12 из 20 больных. Лишь у 1 больной в ликворе при нормальном цитозе методом проточной флуориметрии было обнаружено 10 % В-лимфоцитов с опухолевым иммунофенотипом. Всем 12 больным с профилактической целью было выполнено интратекальное введение трех цитостатических препаратов (дексаметазон 4 мг, метотрексат 15 мг, цитарабин 30 мг) [4]. Остальным 8 больным в связи с высоким риском осложнений спинномозговые пункции не выполнялись.

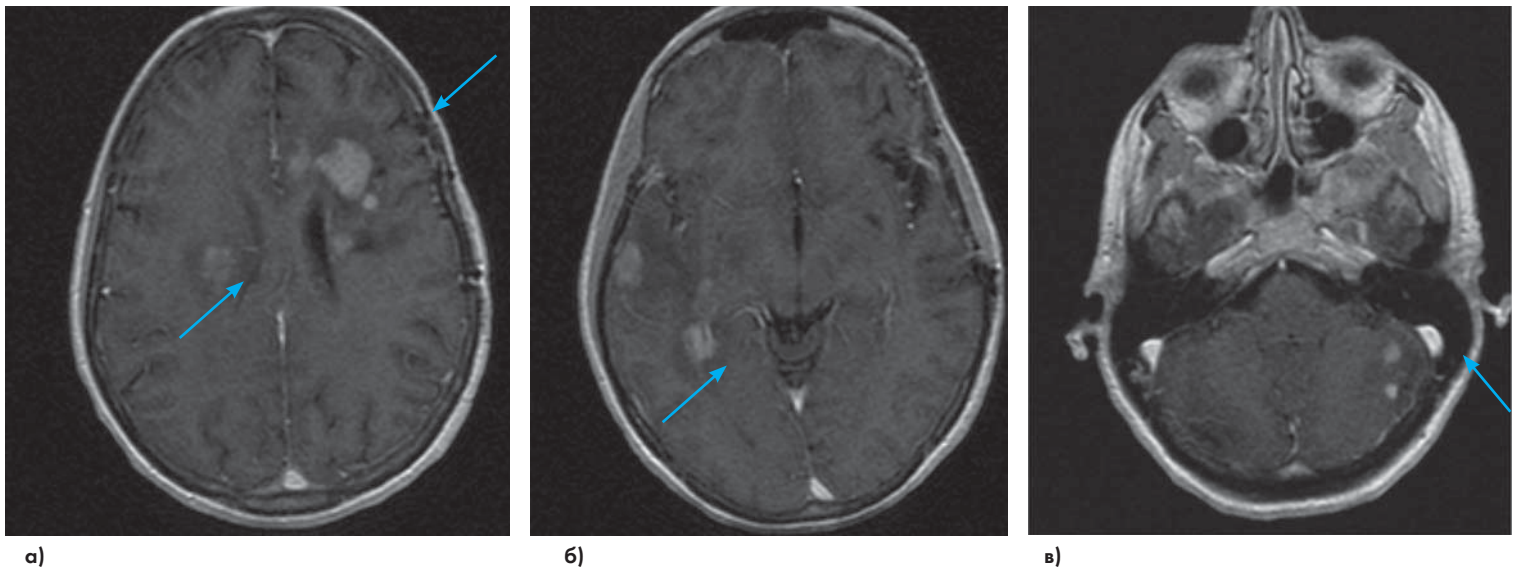


Рисунок 1. Больная М. 52 г. МРТ головного мозга с в/в контрастным усилением (мультифокальное поражение ЦНС)

Figure 1. Patient M., 52 years old. Brain MRI with intravenous contrast enhancement (multiple foci of lymphoma)

Примечание. а) срез на уровне боковых желудочков; б) срез на уровне четверохолмия; в) срез на уровне мозжечка.

Note. a) slice at the level of the lateral ventricles; б) slice at the level of the quadrigeminal bodies; в) slice at the level of the cerebellum.

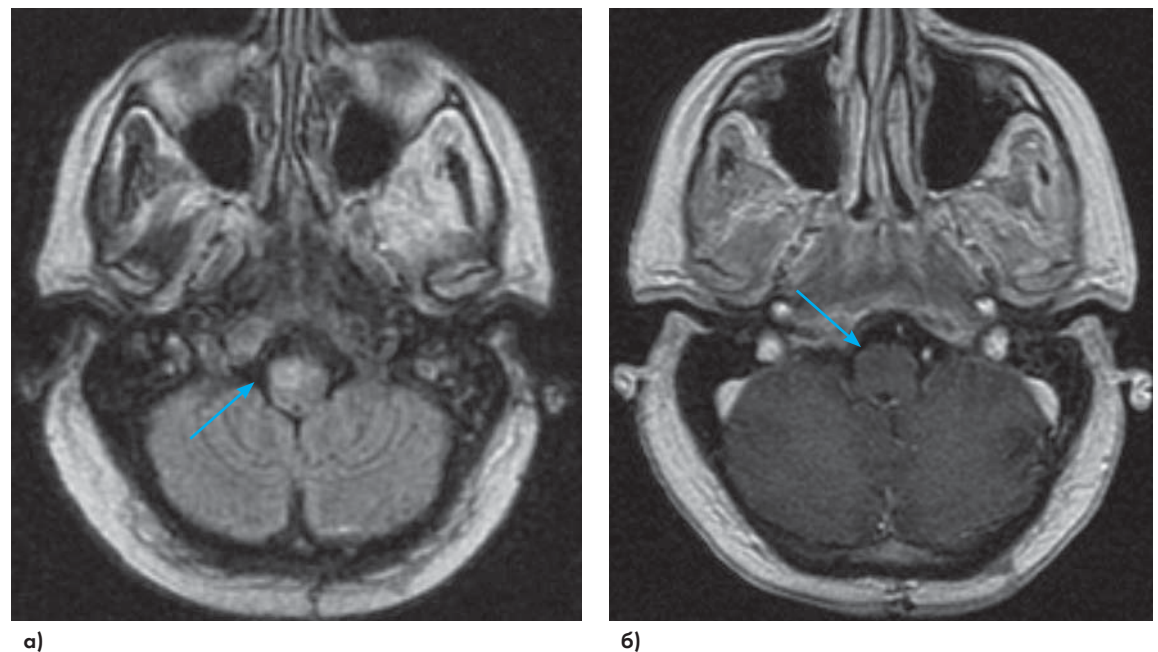


Рисунок 2. Больная К. 41 г. Лимфома ЦНС, поражение стволовых структур мозга, МРТ головного мозга ИП T2 FLAIR; с в/в контрастным усилением

Figure 2. Patient K., 41 years old. CNS lymphoma, lesion of brain stem structures, brain MRI, T2-FLAIR PS; with intravenous contrast enhancement

Примечание. а) ИП T2FLAIR, очаг в продолговатом мозге справа; б) слабоинтенсивное постконтрастное усиление. ИП — импульсная последовательность. МРТ — магнитно-резонансная томография.

Note. a) T2-FLAIR PS, lesion in the medulla oblongata, on the right; б) low-intensity post-contrast enhancement. PS — pulse sequence. MRI — magnetic resonance imaging.

Перед началом терапии всем больным была выполнена электроэнцефалография, и на всех этапах терапии проводилась противосудорожная терапия.

Оценку токсичности проводили по шкале NCIC-CTC (National Cancer Institute — Common Toxicity Criteria, National Cancer Institute) [38].

Оценка МРТ-ответа проводилась с применением критериев RANO [39].

Статистический анализ данных проводили с использованием анализа выживаемости. Для расчетов использованы статистические программы StatView и 4 SAS 9.4. Для бессобытийной выживаемости событием являлась прогрессия заболевания, рецидив или смерть от любой причины, время отсчитывалось от начала ХТ. Для общей выживаемости событием являлась смерть от любой причины, время отсчитывалось от начала ХТ.

Результаты

Лечение по протоколу CNS-2015 проведено у 20 больных (16 больным проводится поддерживающая терапия темозоломидом). Характеристики гематологической и негематологической токсичности приведены в таблицах 2 и 3.

Индукция ремиссии

В качестве индукции ремиссии больным было проведено от 3 до 5 курсов по программе R-MPV (ритуксимаб 375 мг/м² в/в — 1-й день, метотрексат 3500 мг/м² в/в — 2-й день, винкристин 2 мг в/в — 2-й день, прокарбазин 100 мг/м² — 2–8-й дни перорально в нечетных курсах). В качестве сопроводительной терапии всем больным проводили противосудорожную (леветирацетам), противоотечную (маннитол) и антикоагулянтную терапию [4]. Тяжелой гематологической токсичности выявлено не было. Ни у одного больного на индукционном этапе не было миелотоксического

агранулоцитоза, выраженной анемии, тромбоцитопении и зависимости от заместительной трансфузионной терапии.

У 18 из 20 больных было проведено четыре индукционных курса ХТ. У 1 больного после третьего курса ХТ при использовании высоких доз метотрексата отмечалось развитие острой почечной недостаточности (ОПН). Несмотря на комплекс проводимых мероприятий, включавших форсированный диурез, терапию фолином кальция, у больного в течение трех недель сохранялась гиперазотемия, отечный синдром и тенденция к олигурии. Учитывая высокий риск развития повторного эпизода ОПН и достижение максимальной редукции опухоли, четвертый курс R-MPV проведен не был.

Одному больному, у которого в связи с сохраняющимися признаками внутричерепной гидроцефалии был установлен вентрикулоцистернальный шунт, было выполнено повторное вентрикулоперитонеальное шунти-

Таблица 2. Гематологическая токсичность (критерии токсичности по шкале NCIC-CTC) [37], %

Table 2. Hematological toxicity (NCIC-CTC) [37], %

Параметры Parameters	R-MPV	Ауто-ТГСК/ТВС Auto-HSCT/TBC
Нейтропения III–IV степени, % Neutropenia grade III–IV, %	0	100
Тромбоцитопения III–IV степени, % Thrombocytopenia grade III–IV, %	0	100
Анемия II–III степени, % Anemia grade III–IV, %	0	100

Таблица 3. Негематологическая токсичность (критерии токсичности по шкале NCIC-CTC) [37], %

Table 3. Non-hematological toxicity (NCIC-CTC) [37], %

Параметры Parameters	R-MPV	Ауто-ТГСК/ТВС Auto-HSCT/TBC
Тошнота/рвота, % Nausea/vomit, %	0	50
Мукозит, % Mucositis, %	0	100
Энтеропатия, % Enteropathy, %	0	60
Пневмония, % Pneumonia, %	5	0
Повышение температуры тела ≥ 38 °C, % Fever ≥ 38 °C, %	15	100
Инфекции кровотока, % Bloodstream infections, %	0	10
Герпесвирусные инфекции, % herpesvirus infections, %	0	50
Повышение АСТ/АЛТ, % Increase of ALT, AST, %	10	0
Острая почечная недостаточность, % Acute renal failure, %	5	0
Периферическая полинейропатия, % Peripheral polyneuropathy, %	50	0

Примечание. АСТ — аспартатаминотрансфераза, АЛТ — аланинаминотрансфераза.

Notes. AST — aspartate aminotransferase, ALT — alanine aminotransferase.

рование. В связи с необходимостью релаксации, требующего перерыва в лечении, больному перед операцией был проведен пятый курс индукционной ХТ.

Из наиболее частых негематологических осложнений было отмечено развитие периферической полинейропатии легкой степени у 50 % больных, вероятно, обусловленное токсическим действием винкристина. Вторым по частоте (10 %) осложнением являлось изолированное транзиторное повышение активности аминотрансфераз, максимально у одной больной до 40 норм после первого курса ХТ. В результате гепатопротекторной терапии удалось достичь полного регресса печеночной дисфункции, что позволило полностью выполнить программу лечения. У 1 больного после четырех курсов ХТ развилась двусторонняя нижнедолевая пневмония. По результатам исследования бронхоальвеолярного лаважа этиологию пневмонии установить не удалось. В результате противомикробной и противовирусной терапии удалось достичь полного обратного развития воспалительных изменений в легких. У 2 больных развилась фебрильная лихорадка без установленного очага инфекции. Наиболее вероятной причиной предполагалось побочное действие приема прокарбазина, при отмене которого у обоих больных температура тела нормализовалась.

Всем больным удалось эффективно выполнить мобилизацию и сбор СКК. Стимуляция гемопоэза гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ в дозе 10 мг/кг/сут) проводилась с 5-го дня межкурсового перерыва после 2-го цикла R-MPV. Среднее количество заготовленных СКК составило $7,8 \times 10^6$ /кг CD34⁺-клеток ($3,4\text{--}12,4 \times 10^6$ /кг).

После каждого цикла R-MPV всем больным выполняли МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием. На этапе индукции ни у одного больного не наблюдалось прогрессии заболевания. У 15 больных была достигнута ПР и у 5 — частичная ремиссия (ЧР). Размеры резидуальных очагов составили от 6 до 17 мм.

Высокодозная ХТ и ауто-ТГСК

Всем 20 больным была выполнена ауто-ТГСК с режимом кондиционирования ТВС (тиофосфамид 250 мг/м² в/в с –8 по –6-й дни, бусульфид 4 мг/кг с –5 по –4-й дни перорально, циклофосфамид 60 мг/кг в/в с –3 по –2-й дни) [4]. У 2 больных при проведении кондиционирования отмечались тошнота и рвота на фоне приема бусульфона. Признаков развития веноокклюзионной болезни и тяжелых токсических осложнений не было. Гематологическая токсичность III–IV степени развивалась в 100 % случаев после ауто-ТГСК. Среднее время восстановления количества нейтрофилов составило 9 дней (от 8 до 14 дней). Всем больным с +1 дня после ауто-ТГСК проводилась стимуляция лейкопоэза Г-КСФ в дозе 5 мг/кг/сут [4]. У всех 20 больных после ауто-ТГСК на фоне миелотоксического агрануло-

цитоза отмечалось развитие инфекционных осложнений. В 100 % случаев наблюдалось развитие мукозита III–IV степени, в 2 случаях болевой синдром вследствие мукозита потребовал применения наркотических анальгетиков. У половины больных отмечалось развитие герпесвирусных инфекций с различными клиническими проявлениями: мукозиты (5), цистит (1), поражение кожи (3) и ЦМВ-виремия (3). Случаи некротической энтеропатии наблюдались у 11 больных, и у 1 больного была доказана диарея, ассоциированная с *Clostridium difficile*. У 2 больных развились инфекции кровотока, в обоих случаях грамотрицательной этиологии (*Klebsiella pneumoniae* — 2), которые были купированы на фоне терапии противомикробными препаратами.

Среднее время восстановления количества тромбоцитов составило 13 дней (от 9 до 23 дней). В результате трансфузий концентратов тромбоцитов ни у одного больного не было тяжелых геморрагических осложнений.

У всех больных по данным МРТ головного мозга, выполненной после ауто-ТГСК, была констатирована ПР заболевания. У 2 из 20 больных был выявлен ранний рецидив заболевания (+4 и +5 месяцы) после ауто-ТГСК. В обоих случаях проведение противорецидивной таргетной терапии (леналидомид, ибрутиниб, ниволумаб) и лучевой терапии оказали только временный эффект. Спустя 24 и 26 месяцев после ауто-ТГСК больные умерли от прогрессии заболевания. Остальные 18 больных находятся в ПР заболевания. Средний срок наблюдения — 17 месяцев (от 1 до 46 месяцев) (рис. 3).

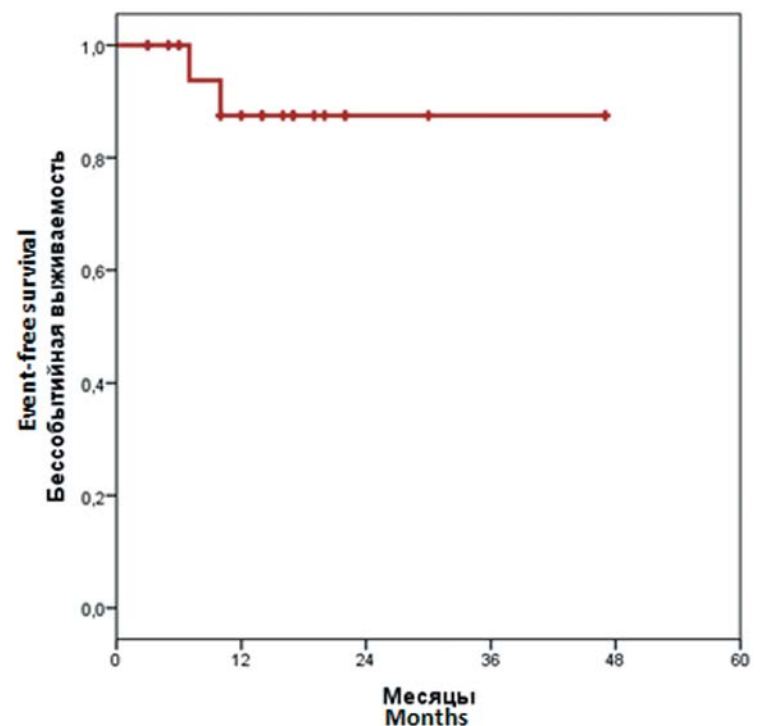


Рисунок 3. Бессобытийная выживаемость
Figure 3. Event-free survival

Поддерживающая терапия и контрольное обследование

Поддерживающая терапия включала в себя пероральный прием темозоломида в дозе 150 мг/м² в течение 5 дней, каждые 3 месяца, в течение 2 лет. Переносимость была удовлетворительной. Закончили поддерживающую терапию 2 больных. Контрольная МРТ головного мозга проводилась каждые три месяца в течение 1-го года наблюдения, каждые шесть месяцев в течение 2-го года и далее 1 раз в год.

Обсуждение

Основным критерием диагноза первичной лимфомы центральной нервной системы является изолированное поражение головного или спинного мозга, задней камеры глаза или мозговых оболочек. Спектр лимфатических опухолей, локализующихся в ЦНС, невелик. Почти в 100 % случаев при поражении вещества головного и спинного мозга, а также задних камер глаза устанавливается диагноз ДВККЛ. Поражение мозговых оболочек и передней камеры глаза в большей степени характерно для лимфомы из клеток маргинальной зоны (МАЛТ-лимфомы) [1–10]. Изучением лимфом ЦНС занимаются с начала прошлого века, однако остается множество нерешенных вопросов в их диагностике и лечении [40].

Предрасполагающими факторами развития первичной лимфомы центральной нервной системы являются иммунодефицитные состояния и аутоиммунные заболевания (синдром приобретенного иммунодефицита; проведение иммуносупрессивной терапии после органной трансплантации, рассеянный склероз и т. д.), однако причина развития опухоли у иммунокомпетентных больных до сих пор не установлена [1–8]. Почти все лимфатические опухоли ЦНС В-клеточной природы, однако в норме В-лимфоцит не способен преодолеть ГЭБ. Этот феномен также пока не объяснен [41].

Сложности диагностики и получения достаточного объема биопсийного материала, длительное время ограничивали изучение биологии ПДВККЛ ЦНС. Морфологическая диагностика не давала возможности выделить черты, отличающие ПДВККЛ ЦНС от других форм ДВККЛ, хотя ответ на терапию этих опухолей сильно отличался. Развитие методов молекулярной генетики и изучение профиля экспрессии генов позволили установить, что почти 100 % ПДВККЛ ЦНС относится к постгерминальному типу ДВККЛ (АВС-тип), который по сравнению с герминальным вариантом (GCB) ассоциируется с плохим прогнозом [8, 22]. В 2017 г. S. Mareschal и соавт. [12], применив метод секвенирования нового поколения (next generation sequencing — NGS), показали, что при ПДВККЛ ЦНС мутации в генах *MYD88*, *CD79b* и *CARD11* обнаружены в 80, 32 и 8 % случаев соответственно. Для сравнения,

при системной ДВККЛ АВС типа аналогичные мутации выявлены только в 28, 25 и 2 % случаев соответственно. Почти в 70 % случаев ПДВККЛ ЦНС была выявлена высокая сочетанная экспрессия белков с-Мус, Bcl-6 и Bcl-2 (трипл-экспрессия), что обычно нехарактерно для других форм ДВККЛ [14, 20]. Почти в 100 % случаев ПДВККЛ ЦНС отмечалась выраженная экспрессия белка IRF/MUM1, что дает основание для эффективного применения иммуномодулирующих агентов [22]. Японскими авторами [11] выявлен уникальный профиль метилирования ДНК ПДВККЛ ЦНС, отличный от других форм ДВККЛ. Кроме того, для ПДВККЛ ЦНС характерно выраженное реактивное микроокружение с большим количеством PD-1⁺ Т-клеток, а также редуцированная экспрессия белков комплекса гистосовместимости [21]. Все это представляет, с одной стороны, трудности для иммунологического надзора за опухолью, с другой — определяет эффективность применения ингибиторов контрольных точек в терапии ПДВККЛ ЦНС. Современные данные нейроиммунологических исследований дают основания предполагать возможность проникновения через ГЭБ практически всех клеток крови, кроме В-лимфоцитов, что позволяет иначе взглянуть на возможности Т-клеточной терапии ПДВККЛ ЦНС [25]. Следовательно, ПДВККЛ ЦНС представляет собой биологически уникальную группу ДВККЛ, что необходимо учитывать при разработке новых программ лечения помимо тактики цитостатического проникновения через ГЭБ. Редкая встречаемость затрудняет проведение проспективных рандомизированных исследований, а большая часть работ по ПДВККЛ ЦНС построена на ретроспективных пилотных наблюдениях сравнительно небольшого числа больных [8].

Несмотря на объективные трудности, удалось доказать, что хирургическая резекция опухоли, лучевая терапия, стандартные режимы ХТ, применяемые для других форм ДВККЛ (схемы R-СНОР, NHL-BFM-90 и т. д.), неэффективны в терапии ПДВККЛ ЦНС, поскольку пятилетняя БРВ не превышала 5 % [1–10]. Попытки увеличения концентрации цитостатических препаратов в ткани мозга путем интраартериального «разрыва» ГЭБ также оказались не только неэффективными, но и часто сопровождались тяжелыми, иногда смертельными, осложнениями [42].

До сих пор не существует утвержденного протокола лечения ПДВККЛ ЦНС. В ведущих онкогематологических руководствах в качестве терапии первой линии рекомендуется применение высоких доз метотрексата (≥ 3 г/м²) в виде монотерапии или в комбинации с другими цитостатическими препаратами, способными преодолеть ГЭБ (цитарабин, кармустин, этопозид, ифосфамид, винкристин, прокарбазин, темозоломид, пеметрексед, тиофосфамид и т. д.) [1, 2, 4–10]. Доказанная дополнительная эффективность сочета-

ния ХТ с ритуксимабом у больных ПДВККЛ ЦНС ставит под сомнение нормальную работу ГЭБ в условиях опухолевого поражения мозга с учетом большой молекулярной массы моноклонального антитела [23]. Большинство индукционных комбинаций ХТ оказываются эффективными в достижении первичного общего ответа (ОО), однако, почти у 40 % больных развивается рецидив заболевания в первые два года наблюдения, а пятилетняя БРВ и ОВ не превышают 40 %. Поиск оптимального индукционного курса привел к разработке схемы R-MPV, которая отвечала всем условиям необходимым для терапии этой категории больных [43]. Быстрый МРТ и неврологический ОО у 97 % больных (при достижении 66 % ПР), минимальная негематологическая и костномозговая токсичность, а также возможность заготовить адекватное количество СКК делают эту схему терапией выбора для большинства больных ПДВККЛ ЦНС [26]. У 20 больных в исследовании CNS-2015 также отмечена удовлетворительная переносимость схемы R-MPV. Костномозговая токсичность минимальна, всем больным заготовлено достаточное количество СКК. Повышение уровня креатинина отмечено только у 1 больного. Полная ремиссия, определяемая по результатам МРТ головного мозга, была достигнута у 15 (80 %) из 20 больных. В дальнейшем у 5 больных, находившихся в ЧР, произошла конверсия в ПР после проведения ауто-ТГСК с режимом кондиционирования ТВС, что не противоречит данным литературы [44].

Проведение консолидирующей высокодозной ХТ является сегодня необходимым условием достижения длительной БРВ и ОВ больных ПДВККЛ ЦНС [6–10, 26–33, 45–49]. По данным сравнительных исследований [1–10, 31], применение лучевой терапии в консолидации ремиссии менее эффективно, сопряжено с тяжелой ранней нейротоксичностью и значительно снижает качество и продолжительность жизни больных. Среди схем высокодозной ХТ, используемых в консолидации ремиссии, преимущества имеет терапия с включением высоких доз тиофосфамида и бусульфана [26–33]. Помимо нециклоспецифичной противоопухолевой активности эти препараты обладают высокой способностью проникать через ГЭБ (более 80 %). Рациональность добавления высоких доз циклофосфамида (схема ТВС) обсуждается. Эффективность схемы ТВС сначала была доказана у больных с рецидивами ПДВККЛ ЦНС (трехлетняя БРВ составила 37–53 %) [48], а затем и у больных, которым была проведена первая линия терапии (двухлетняя БРВ достигала 92 %) [26–33]. Были отмечены явные преимущества применения схемы ТВС у больных ПДВККЛ ЦНС в сравнении со схемой ВЕАМ [47–49]. Однако при сравнительной оценке режимов ТВС и ВЕАМ у больных нодальной ДВККЛ значимых отличий в эффективности выявлено не было [49]. Рецидивы

и резистентное течение после проведения схемы ТВС наблюдались у 10–20 % больных. По результатам проведенных 7 исследований (4 проспективных, 2 ретроспективных и 1 сравнительное) применения схемы ТВС у больных ПДВККЛ ЦНС [26–32], большинство рецидивов ПДВККЛ ЦНС развились в первые 2 года после ауто-ТГСК (в протоколе CNS-2015 констатировано 2 рецидива через 4 и 5 месяцев после ауто-ТГСК). Кроме того, высокая токсичность терапии и связанная с ней смертность, достигающая 12–14 %, затрудняют применение схемы ТВС у пожилых больных с высокой коморбидностью, больных с тяжелыми неврологическими дефектами, сопутствующими инфекционными осложнениями на фоне длительной терапии кортикостероидами. Есть только единичные сообщения в литературе о применении высокодозной ХТ у больных ПДВККЛ ЦНС старше 70 лет. В 2017 г. были опубликованы результаты исследования, включающего 52 больных, медиана возраста которых была 68,5 года. В качестве консолидации первой ремиссии высокодозная ХТ с ауто-ТГСК была проведена 15 больным и во второй или последующей линиях — 37 больным. При среднем сроке наблюдения 22 месяца медиана БРВ и ОВ составили 51,1 и 122,3 месяца соответственно. Смертность, связанная с лечением, составила всего 3,8 % [43]. Таким образом, у больных пожилого возраста протокол с применением высокодозной ХТ с последующей ауто-ТГСК эффективен и осуществим, но с учетом соматического статуса больного.

Большинство больных в протоколе CNS-2015 были из группы низкого риска, без тяжелых неврологических нарушений, без длительной терапии кортикостероидами и в возрасте до 60 лет. Смертей, связанных с токсичностью терапии, не было, что, вероятно, связано с селекцией больных и строгим выполнением протокола сопроводительной терапии [4].

Данные о поддерживающей терапии ПДВККЛ ЦНС ограничены. Онкологической группой RTOG 0227 было проведено исследование, в котором после индукции ритуксимабом, метотрексатом, темозоломидом и лучевой терапии была проведена ежемесячная поддерживающая терапия темозоломидом в течение 1 года. Вследствие этого было получено существенное улучшение показателей БРВ и ОВ в сравнении с историческим контролем [36]. Данные об эффективности темозоломида у больных с впервые выявленной опухолью, а также у больных с рецидивом ПДВККЛ ЦНС дали основание применить его в виде «предфазы» и поддерживающей терапии в протоколе CNS-2015 [50].

Перспективными представляются работы по применению таргетной терапии ПДВККЛ ЦНС. В протоколе CNS-2015 у 2 больных с рецидивом заболевания был достигнут ответ на терапии леналидомидом в течение 5 и 15 месяцев приема. В результате терапии

ибрутинибом и ниволумабом длительность полного ответа была меньше — 1 и 2,5 месяца соответственно. По данным литературы [35, 36, 51–56], применение леналидомида, ибрутиниба и ниволумаба у больных с рецидивами ПДВККЛ ЦНС также показало высокую эффективность. Перспективным кажется применение таргетной терапии у больных с впервые выявленной опухолью, в комбинации с существующими протоколами ХТ, а также в виде поддерживающей терапии под контролем оценки минимальной резидуальной болезни (МРБ).

Появление сверхчувствительных методов оценки МРБ в крови и ликворе в перспективе дает возможность проводить ориентированную на наличие остаточного опухолевого клона ХТ и таргетную терапию у больных ПДВККЛ ЦНС. По данным De Mattos-Arruda L. и соавт. [19], концентрация свободной опухолевой ДНК в ликворе значительно выше, чем в крови больных ПДВККЛ ЦНС. Кроме того, при использовании метода NGS отмечена почти 100 %-ная корреляция выявленных драйверных мутаций в ликворе и первичном биоптате опухоли [13, 15]. Применение метода NGS при ПДВККЛ ЦНС имеет и другие преимущества. Даже небольшое количество биопсийного материала, обычно полученное после стереотаксической биопсии, дает возможность получить полноценную молекулярно-генетическую характеристику опухоли, недоступную другими методами. По данным H.D. Munch-Peterson и соавт. [16] и N. Galanina и соавт. [15], у 30–100 % больных ПДВККЛ ЦНС в биоптатах опухоли выявляется мутация в гене *TP53* [15, 16]. Однако негативное прогностическое значение имели только мутации, расположенные в локусах, связанных с ДНК-контактированием (до 30 % больных) [15]. Возможно, это объясняет резистентное к химиотерапевтическому воздействию течение заболевания у 20–30 % больных ПДВККЛ ЦНС даже после высокодозной ХТ. В качестве преодоления первичной резистентности только небольшое число авторов рассматривает проведение трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных

ПДВККЛ ЦНС [57, 58]. Позитивный опыт даже единичных сообщений дает основания продолжить работу в этом направлении. Собственное наблюдение эффективной CAR-терапии у больной с первичной крупноклеточной В-клеточной медиастинальной лимфомой с поражением головного мозга в рецидиве заболевания дает основания предполагать о возможности трансплантированных донорских или модифицированных Т-клеток не только преодолевать ГЭБ, но и проявлять противоопухолевую активность.

Таким образом, по результатам проспективного исследования можно констатировать наличие в химиотерапевтическом арсенале высокоэффективного протокола высокодозной ХТ ПДВККЛ ЦНС. Достигнутые результаты значительно выше, чем в ранее применяемых протоколах лечения ПДВККЛ ЦНС. Эффективность и переносимость терапии зависит от адекватных диагностических и лечебных мероприятий после появления первых признаков заболевания. Осложненные «радикальные хирургические вмешательства», длительный прием кортикостероидов и сопутствующие инфекционные осложнения делают невозможным проведение высокодозной ХТ ПДВККЛ ЦНС. Выполнение высокодозной ХТ у больных старше 60 лет может рассматриваться с учетом их соматического статуса. Выполнение высокодозной ХТ ПДВККЛ ЦНС возможно в любых специализированных гематологических стационарах, проводящих ауто-ТГСК, при строгом соблюдении схем ХТ и сопроводительного лечения [4]. При ПДВККЛ ЦНС перспективным является применение высокочувствительных методов оценки МРБ (свободно циркулирующая опухолевая ДНК) в ликворе и плазме, с обязательной детекцией мутаций в гене *TP53*. С целью повышения эффективности и снижения токсичности рациональна разработка новых МРБ-ориентированных протоколов лечения ПДВККЛ ЦНС, с использованием таргетной терапии (леналидомид, ибрутиниб, ниволумаб). Также возможна разработка протоколов терапии с применением CAR-Т-клеток и трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток для резистентных случаев ПДВККЛ ЦНС.

Литература

1. Губкин А.В., Звонков Е.Е., Кременецкая А.М. и др. Первичные лимфопролиферативные заболевания центральной нервной системы. Клиническая онкогематология. М., 2008; 1(4): 323–32.
2. Губкин А.В., Звонков Е.Е., Кременецкая А.М. и др. Первичные лимфопролиферативные заболевания центральной нервной системы. Терапевтический архив. 2009; 81(7): 85–91.
3. Воробьев А.И., Кременецкая А.М. Атлас опухолей лимфатической системы. М.: Ньюамед, 2007. — 292 с.
4. Звонков Е.Е., Королева Д.А., Габеева Н.Г. и др. Исследовательский протокол лечения больных первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомой центральной нервной системы (протокол CNS-2015). Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови, под редакцией академика РАН В.Г. Савченко. М., 2018; 2: 609–22.

References

1. Gubkin A.V., Zvonkov E.E., Kremenetskaya A.M. et al. Primary lymphoproliferative diseases of the central nervous system. Clinicheskaya Oncohematologiya. Moscow. 2008; 1(4): 323–32 (In Russian).
2. Gubkin A.V., Zvonkov E.E., Kremenetskaya A.M. et al. Primary lymphoproliferative diseases of the central nervous system. Therapevticheskiy arkhiv. 2009; 81(7): 85–91 (In Russian).
3. Vorobyev A.I., Kremenetskaya A.M. Atlas of Tumors of the Lymphatic System. Moscow: Niyuamed; 2007: 292.
4. Zvonkov E.E., Koroleva D.A., Gabeeva N.G. et al. The research protocol for the treatment in patients of primary central nervous system lymphoma (CNS-2015). Diagnostic algorithms and protocols for treatment of diseases of the blood system. Moscow. 2018; 2: 609–22 (In Russian).

5. Grommes C., DeAngelis L. M. Primary CNS Lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2017; 35(21): 2410–18. DOI: 10.1200/JCO.2017.72.7602
6. Fox C.P., Phillips E.H., Smith J. et al. Guidelines for the diagnosis and management of primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma. *Br. J. Haematol.* 2019; 184(3): 348–63. DOI: 10.1111/bjh.15661
7. Paydas S. Primary central nervous system lymphoma: essential points in diagnosis and management. *Med. Oncol.* 2017; 34(61). DOI: 10.1007/s12032-017-0920-7
8. Löw S., Han C.H., Batchelor T.T. Primary central nervous system lymphoma. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders.* 2018; 11: 1–16. DOI: 10.1177/1756286418793562
9. Sethi T.K., Reddy N.M. Treatment of newly diagnosed primary central nervous system lymphoma: current and emerging therapies. *Leuk. Lymphoma.* 2019; 60(1): 6–18. DOI: 10.1080/10428194.2018.1466296
10. Grommes C., Rubenstein J.L., DeAngelis L.M. et al. Comprehensive approach to diagnosis and treatment of newly diagnosed primary CNS lymphoma. *Neuro Oncol.* 2019; 21(3): 296–305. DOI: 10.1093/neuonc/noy192
11. Nakamura T., Yamashita S., Fukumura K. et al. Genomewide DNA methylation profiling identifies primary central nervous system lymphoma as a distinct entity different from systemic diffuse large B-cell lymphoma. *Acta Neuropathol.* 2017; 133(2): 321–4. DOI: 10.1007/s00401-016-1664-8
12. Mareschal S., Pham-Ledard A., Viailly P.J. et al. Identification of somatic mutations in primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type by massive parallel sequencing. *J. Invest. Dermatol.* 2017; 137: 1984–94. DOI: 10.1016/j.jid.2017.04.010
13. Fontanilles M., Marguet F., Bohers É. et al. Non-invasive detection of somatic mutations using next-generation sequencing in primary central nervous system lymphoma. *Oncotarget.* 2017; 8(29): 48157–68. DOI: 10.18632/oncotarget.18325
14. Brunn A., Nagel I., Montesinos-Rongen M. et al. Frequent triple-hit expression of MYC, BCL2, and BCL6 in primary lymphoma of the central nervous system and absence of a favorable MYC^{low}BCL2^{low} subgroup may underlie the inferior prognosis as compared to systemic diffuse large B cell lymphomas. *Acta Neuropathol.* 2013; 126: 603–5. DOI: 10.1007/s00401-013-1169-7
15. Galanina N., Bejar R., Choi M. et al. Comprehensive genomic profiling reveals diverse but actionable molecular portfolios across hematologic malignancies: implications for next generation clinical trials. *Cancers.* 2018; 11(1). DOI: 10.3390/cancers11010011
16. Munch-Petersen H. D., Asmar F., Dimopoulos K. et al. TP53 hotspot mutations are predictive of survival in primary central nervous system lymphoma patients treated with combination chemotherapy. *Acta Neuropathol. Commun.* 2016; 4: 40. DOI: 10.1186/s40478-016-0307-6
17. Hickmann A.K., Frick M., Hadaschik D. et al. Molecular tumor analysis and liquid biopsy: a feasibility investigation analyzing circulating tumor DNA in patients with central nervous system lymphomas. *BMC Cancer.* 2019; 19: 192. DOI: 10.1186/s12885-019-5394-x
18. Nayyar N., White M. D., Gill C.M. et al. MYD88 L265P mutation and CDKN2A loss are early mutational events in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphomas. *Blood.* 2019; 3: 3. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018027672
19. De Mattos-Arruda L., Mayor R. et al. Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumors than plasma. *Nat. Commun.* 2015; 6: 8839. DOI: 10.1038/ncomms9839
20. Nosrati A., Monabati A., Sadeghipour A. et al. MYC, BCL2, and BCL6 rearrangements in primary central nervous system lymphoma of large B cell type. *Ann. Hematol.* 2019; 98(1):169–73. DOI: 10.1007/s00277-018-3498-z
5. Grommes C., DeAngelis L. M. Primary CNS Lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2017; 35(21): 2410–18. DOI: 10.1200/JCO.2017.72.7602
6. Fox C.P., Phillips E.H., Smith J. et al. Guidelines for the diagnosis and management of primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma. *Br. J. Haematol.* 2019; 184(3): 348–63. DOI: 10.1111/bjh.15661
7. Paydas S. Primary central nervous system lymphoma: essential points in diagnosis and management. *Med. Oncol.* 2017; 34(61). DOI: 10.1007/s12032-017-0920-7
8. Löw S., Han C.H., Batchelor T.T. Primary central nervous system lymphoma. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders.* 2018; 11: 1–16. DOI: 10.1177/1756286418793562
9. Sethi T.K., Reddy N.M. Treatment of newly diagnosed primary central nervous system lymphoma: current and emerging therapies. *Leuk. Lymphoma.* 2019; 60(1): 6–18. DOI: 10.1080/10428194.2018.1466296
10. Grommes C., Rubenstein J.L., DeAngelis L.M. et al. Comprehensive approach to diagnosis and treatment of newly diagnosed primary CNS lymphoma. *Neuro Oncol.* 2019; 21(3): 296–305. DOI: 10.1093/neuonc/noy192
11. Nakamura T., Yamashita S., Fukumura K. et al. Genomewide DNA methylation profiling identifies primary central nervous system lymphoma as a distinct entity different from systemic diffuse large B-cell lymphoma. *Acta Neuropathol.* 2017; 133(2): 321–4. DOI: 10.1007/s00401-016-1664-8
12. Mareschal S., Pham-Ledard A., Viailly P.J. et al. Identification of somatic mutations in primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type by massive parallel sequencing. *J. Invest. Dermatol.* 2017; 137: 1984–94. DOI: 10.1016/j.jid.2017.04.010
13. Fontanilles M., Marguet F., Bohers É. et al. Non-invasive detection of somatic mutations using next-generation sequencing in primary central nervous system lymphoma. *Oncotarget.* 2017; 8(29): 48157–68. DOI: 10.18632/oncotarget.18325
14. Brunn A., Nagel I., Montesinos-Rongen M. et al. Frequent triple-hit expression of MYC, BCL2, and BCL6 in primary lymphoma of the central nervous system and absence of a favorable MYC^{low}BCL2^{low} subgroup may underlie the inferior prognosis as compared to systemic diffuse large B cell lymphomas. *Acta Neuropathol.* 2013; 126: 603–5. DOI: 10.1007/s00401-013-1169-7
15. Galanina N., Bejar R., Choi M. et al. Comprehensive genomic profiling reveals diverse but actionable molecular portfolios across hematologic malignancies: implications for next generation clinical trials. *Cancers.* 2018; 11(1). DOI: 10.3390/cancers11010011
16. Munch-Petersen H. D., Asmar F., Dimopoulos K. et al. TP53 hotspot mutations are predictive of survival in primary central nervous system lymphoma patients treated with combination chemotherapy. *Acta Neuropathol. Commun.* 2016; 4: 40. DOI: 10.1186/s40478-016-0307-6
17. Hickmann A.K., Frick M., Hadaschik D. et al. Molecular tumor analysis and liquid biopsy: a feasibility investigation analyzing circulating tumor DNA in patients with central nervous system lymphomas. *BMC Cancer.* 2019; 19: 192. DOI: 10.1186/s12885-019-5394-x
18. Nayyar N., White M. D., Gill C.M. et al. MYD88 L265P mutation and CDKN2A loss are early mutational events in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphomas. *Blood.* 2019; 3: 3. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018027672
19. De Mattos-Arruda L., Mayor R. et al. Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumors than plasma. *Nat. Commun.* 2015; 6: 8839. DOI: 10.1038/ncomms9839
20. Nosrati A., Monabati A., Sadeghipour A. et al. MYC, BCL2, and BCL6 rearrangements in primary central nervous system lymphoma of large B cell type. *Ann. Hematol.* 2019; 98(1):169–73. DOI: 10.1007/s00277-018-3498-z

21. Chapuy B., Roemer G.M., Stewart C. et al. Targetable genetic features of primary testicular and primary central nervous system lymphomas. *Blood*. 2016; 127(7): 869–81. DOI: 10.1182/blood-2015-10-673236
22. Cai Q., Fang Yu, Young K.H. Primary central nervous system lymphoma: molecular pathogenesis and advances in Treatment. *Transl. Oncol.* 2019; 12: 523–38. DOI: 10.1016/j.tranon.2018.11.011
23. Holdhoff M., Ambady P., Abdelaziz A. et al. High-dose methotrexate with or without rituximab in newly diagnosed primary CNS lymphoma. *Neurology*. 2014; 83: 235–39. DOI: 10.1212/WNL.0000000000000593
24. Mendez J. S., Grommes C. Treatment of primary central nervous system lymphoma: from chemotherapy to small molecules. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ Book*. 2018; 23(38): 604–15. DOI: 10.1200/EDBK_200829
25. Abramson J.S., McGree B., Noyes S. et al. Anti-CD19 CAR T cells in CNS diffuse large-B-cell lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(8): 783–4. DOI: 10.1056/NEJMc1704610
26. Omuro A., Correa D.D., DeAngelis L.M. et al. R-MPV followed by high-dose chemotherapy with TBC and autologous stem-cell transplant for newly diagnosed primary CNS lymphoma. *Blood*. 2015; 125: 1403–10. DOI: 10.1182/blood-2014-10-604561
27. Scordo M., Bhatt V., Hsu M. et al. A comprehensive assessment of toxicities in patients with CNS lymphoma undergoing autologous stem cell transplantation using Thiotepa, Busulfan and Cyclophosphamide conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017; 23(1): 38–43. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.09.024
28. DeFilipp Z., Li S., El-Jawahri A. et al. High-Dose chemotherapy with Thiotepa, Busulfan, and Cyclophosphamide and autologous stem cell transplantation for patients with primary central nervous system lymphoma in first complete remission. *Cancer*. 2017; 123(16): 3073–9. DOI: 10.1002/cncr.30695
29. Cheng T., Forsyth P., Chaudhry A. et al. High-dose thiotepa, busulfan, cyclophosphamide and ASCT without whole-brain radiotherapy for poor prognosis primary CNS lymphoma. *Bone Marrow Transplant*. 2003; 31: 679–85. DOI:10.1038/sj.bmt.1703917
30. Chen Yi-Bin, Batchelor T., Li S. et al. Phase 2 Trial of High-Dose Rituximab with high-dose cytarabine mobilization therapy and high-dose thiotepa, busulfan, and cyclophosphamide autologous stem cell transplantation in patients with central nervous system involvement by Non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2015; 121(2): 226–33. DOI: 10.1002/cncr.29023
31. Houillier C., Taillandier L., Dureau S. et al. Radiotherapy or autologous stem-cell transplantation for primary CNS lymphoma in patients 60 years of age and younger: results of the intergroup ANOCEF-GOELAMS randomized phase II PRECIS study. *J. Clin. Oncol.* 2019; 37: 823–33. DOI: 10.1200/JCO.18.00306
32. Alimohamed N., Daly A., Owen C. et al. Upfront thiotepa, busulfan, cyclophosphamide, and autologous stem cell transplantation for primary CNS lymphoma: a single centre experience. *Leuk. Lymphoma*. 2012; 53(5): 862–67. DOI: 10.3109/10428194.2011.633250
33. Hu B. A Tale of two eras: The story of autologous stem cell transplantation with and without thiotepa for primary central nervous system lymphoma. *Biol. Blood Marrow Transplantat*. 2019; 25(5): 141–2. DOI: 10.1016/j.bbmt.2019.03.014
34. Terziev D., Hutter B., Klink B., et al. Nivolumab maintenance after salvage autologous stem cell transplantation results in long-term remission in multiple relapsed primary CNS lymphoma. *Eur. J. Haematol.* 2018; 101(1): 115–8. DOI: 10.1111/ejh.13072
35. Rubenstein J.L., Geng H., Vu K. et al. Maintenance Lenalidomide in Primary CNS Lymphoma. *Ann Oncol.* 2019; 30(8):1397–8. DOI: 10.1093/annonc/mdz142
36. Glass J., Won M., Schultz C.J. et al. Phase I and II study of induction chemotherapy with methotrexate, rituximab, and temozolomide, followed by whole-
21. Chapuy B., Roemer G.M., Stewart C. et al. Targetable genetic features of primary testicular and primary central nervous system lymphomas. *Blood*. 2016; 127(7): 869–81. DOI: 10.1182/blood-2015-10-673236
22. Cai Q., Fang Yu, Young K.H. Primary central nervous system lymphoma: molecular pathogenesis and advances in Treatment. *Transl. Oncol.* 2019; 12: 523–38. DOI: 10.1016/j.tranon.2018.11.011
23. Holdhoff M., Ambady P., Abdelaziz A. et al. High-dose methotrexate with or without rituximab in newly diagnosed primary CNS lymphoma. *Neurology*. 2014; 83: 235–39. DOI: 10.1212/WNL.0000000000000593
24. Mendez J. S., Grommes C. Treatment of primary central nervous system lymphoma: from chemotherapy to small molecules. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ Book*. 2018; 23(38): 604–15. DOI: 10.1200/EDBK_200829
25. Abramson J.S., McGree B., Noyes S. et al. Anti-CD19 CAR T cells in CNS diffuse large-B-cell lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(8): 783–4. DOI: 10.1056/NEJMc1704610
26. Omuro A., Correa D.D., DeAngelis L.M. et al. R-MPV followed by high-dose chemotherapy with TBC and autologous stem-cell transplant for newly diagnosed primary CNS lymphoma. *Blood*. 2015; 125: 1403–10. DOI: 10.1182/blood-2014-10-604561
27. Scordo M., Bhatt V., Hsu M. et al. A comprehensive assessment of toxicities in patients with CNS lymphoma undergoing autologous stem cell transplantation using Thiotepa, Busulfan and Cyclophosphamide conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017; 23(1): 38–43. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.09.024
28. DeFilipp Z., Li S., El-Jawahri A. et al. High-Dose chemotherapy with Thiotepa, Busulfan, and Cyclophosphamide and autologous stem cell transplantation for patients with primary central nervous system lymphoma in first complete remission. *Cancer*. 2017; 123(16): 3073–9. DOI: 10.1002/cncr.30695
29. Cheng T., Forsyth P., Chaudhry A. et al. High-dose thiotepa, busulfan, cyclophosphamide and ASCT without whole-brain radiotherapy for poor prognosis primary CNS lymphoma. *Bone Marrow Transplant*. 2003; 31: 679–85. DOI:10.1038/sj.bmt.1703917
30. Chen Yi-Bin, Batchelor T., Li S. et al. Phase 2 Trial of High-Dose Rituximab with high-dose cytarabine mobilization therapy and high-dose thiotepa, busulfan, and cyclophosphamide autologous stem cell transplantation in patients with central nervous system involvement by Non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2015; 121(2): 226–33. DOI: 10.1002/cncr.29023
31. Houillier C., Taillandier L., Dureau S. et al. Radiotherapy or autologous stem-cell transplantation for primary CNS lymphoma in patients 60 years of age and younger: results of the intergroup ANOCEF-GOELAMS randomized phase II PRECIS study. *J. Clin. Oncol.* 2019; 37: 823–33. DOI: 10.1200/JCO.18.00306
32. Alimohamed N., Daly A., Owen C. et al. Upfront thiotepa, busulfan, cyclophosphamide, and autologous stem cell transplantation for primary CNS lymphoma: a single centre experience. *Leuk. Lymphoma*. 2012; 53(5): 862–67. DOI: 10.3109/10428194.2011.633250
33. Hu B. A Tale of two eras: The story of autologous stem cell transplantation with and without thiotepa for primary central nervous system lymphoma. *Biol. Blood Marrow Transplantat*. 2019; 25(5): 141–2. DOI: 10.1016/j.bbmt.2019.03.014
34. Terziev D., Hutter B., Klink B., et al. Nivolumab maintenance after salvage autologous stem cell transplantation results in long-term remission in multiple relapsed primary CNS lymphoma. *Eur. J. Haematol.* 2018; 101(1): 115–8. DOI: 10.1111/ejh.13072
35. Rubenstein J.L., Geng H., Vu K. et al. Maintenance Lenalidomide in Primary CNS Lymphoma. *Ann Oncol.* 2019; 30(8):1397–8. DOI: 10.1093/annonc/mdz142
36. Glass J., Won M., Schultz C.J. et al. Phase I and II study of induction chemotherapy with methotrexate, rituximab, and temozolomide, followed by whole-

- brain radiotherapy and postirradiation temozolomide for primary CNS lymphoma: NRG Oncology RTOG 0227. *J. Clin. Oncol.* 2016; 34(14): 1620–5. DOI: 10.1200/JCO.2015.64.8634
37. Oken M., Creech R., Tormey D. et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am. J. Clin. Oncol.* 1982; 5: 649–55.
38. https://www.eortc.be/services/doc/ctc/CTCAE_v5_Quick_Reference_5x7.pdf
39. Wen P.Y., Chang S. M., Van den Bent M.J. et al. Response Assessment in Neuro-Oncology Clinical Trials. *J. Clin. Oncol.* 2017; 35(21): 2439–49. DOI: 10.1200/JCO.2017.72.7511
40. Russell S. and Rubinstein L. J. Pathology of Tumours of the Nervous System. *J. Pathol.* 1989; 158: 359–60. DOI: 10.1002/path.1711580413
41. Qian L., Tomuleasa C., Florian I. et al. Advances in the treatment of newly diagnosed primary central nervous system lymphomas. *Blood* 2017; 52: 159–66. DOI: 10.5045/br.2017.52.3.159
42. Angelov L., Doolittle N.D., Kraemer D.F. et al. Blood-brain barrier disruption and intra-arterial methotrexate-based therapy for newly diagnosed primary CNS lymphoma: a multi-institutional experience. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(21): 3503–9. DOI: 10.1200/JCO.2008.19.3789
43. Gavrilovic I.T., Hormigo A, Yahalom J. et al. Long-Term Follow-Up of High-Dose Methotrexate-Based Therapy With and Without Whole Brain Irradiation for Newly Diagnosed Primary CNS Lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24(28): 4570–4. DOI: 10.1200/JCO.2006.06.6910
44. Schorb E., Fox C.P., Fritsch K. et al. High-dose thiotepa-based chemotherapy with autologous stem cell support in elderly patients with primary central nervous system lymphoma: a European retrospective study. *Bone Marrow Transplant.* 2017; 52(8): 1113–9. DOI: 10.1038/bmt.2017.23
45. Gaut D., Schiller G.J. Hematopoietic stem cell transplantation in primary central nervous system lymphoma: a review of the literature. *International J. Hematol.* 2019; 109(3): 260–77. DOI: 10.1007/s12185-019-02594-1
46. Alnahhas I., Jawish M., Alsawas M. et al. Autologous stem cell transplant for primary central nervous system lymphoma: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2019; 19(3): 129–41. DOI: 10.1016/j.clml.2018.11.018
47. Dholaria B.R., Kumar A., Azzuqua A. et al. Autologous stem cell transplantation in central nervous system lymphoma: A multicenter retrospective series and a review of the literature. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2019; 19(6): 273–80. DOI: 10.1016/j.clml.2019.02.013
48. Soussain C., Suzan F., Hoang-Xuan K. et al. Results of intensive chemotherapy followed by hematopoietic stem-cell rescue in 22 patients with refractory or recurrent primary CNS lymphoma or intraocular lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2001; 19: 742–9. DOI: 10.1200/JCO.2001.19.3.742
49. Sellner L., Boumendil A., Finel H. et al. Thiotepa-based high-dose therapy for autologous stem cell transplantation in lymphoma: a retrospective study from the EBMT. *Bone Marrow Transplant.* 2016; 51: 212–8. DOI: 10.1038/bmt.2015.273
50. Osmani A.H., Masood N. Temozolomide for relapsed primary CNS lymphoma. *J Coll Physicians Surg. Pak.* 2012; 22(9): 594–5. DOI: 10.29272/JCPSP.594595
51. Kassa C., Reményi P., Sinkó J. et al. Successful nivolumab therapy in an allogeneic stem cell transplant child with post-transplant lymphoproliferative disorder. *Pediatr. Transplant.* 2018; 22(8): 13302. DOI: 10.1111/ptr.13302
52. Graham M.S., DeAngelis L. M. Improving outcomes in primary CNS lymphoma. *Best Pract Res. Clin. Haematol.* 2018; 31: 262–9. DOI: 10.1016/j.beha.2018.07.006
53. Nayak L., Iwamoto F. M, LaCasce A. et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed/refractory primary central nervous system and testicular lymphoma. *Blood.* 2017; 129(23): 3071–3. DOI: 10.1182/blood-2017-01-764209
- brain radiotherapy and postirradiation temozolomide for primary CNS lymphoma: NRG Oncology RTOG 0227. *J. Clin. Oncol.* 2016; 34(14): 1620–5. DOI: 10.1200/JCO.2015.64.8634
37. Oken M., Creech R., Tormey D. et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am. J. Clin. Oncol.* 1982; 5: 649–55.
38. https://www.eortc.be/services/doc/ctc/CTCAE_v5_Quick_Reference_5x7.pdf
39. Wen P.Y., Chang S. M., Van den Bent M.J. et al. Response Assessment in Neuro-Oncology Clinical Trials. *J. Clin. Oncol.* 2017; 35(21): 2439–49. DOI: 10.1200/JCO.2017.72.7511
40. Russell S. and Rubinstein L. J. Pathology of Tumours of the Nervous System. *J. Pathol.* 1989; 158: 359–60. DOI: 10.1002/path.1711580413
41. Qian L., Tomuleasa C., Florian I. et al. Advances in the treatment of newly diagnosed primary central nervous system lymphomas. *Blood* 2017; 52: 159–66. DOI: 10.5045/br.2017.52.3.159
42. Angelov L., Doolittle N.D., Kraemer D.F. et al. Blood-brain barrier disruption and intra-arterial methotrexate-based therapy for newly diagnosed primary CNS lymphoma: a multi-institutional experience. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(21): 3503–9. DOI: 10.1200/JCO.2008.19.3789
43. Gavrilovic I.T., Hormigo A, Yahalom J. et al. Long-Term Follow-Up of High-Dose Methotrexate-Based Therapy With and Without Whole Brain Irradiation for Newly Diagnosed Primary CNS Lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24(28): 4570–4. DOI: 10.1200/JCO.2006.06.6910
44. Schorb E., Fox C.P., Fritsch K. et al. High-dose thiotepa-based chemotherapy with autologous stem cell support in elderly patients with primary central nervous system lymphoma: a European retrospective study. *Bone Marrow Transplant.* 2017; 52(8): 1113–9. DOI: 10.1038/bmt.2017.23
45. Gaut D., Schiller G.J. Hematopoietic stem cell transplantation in primary central nervous system lymphoma: a review of the literature. *International J. Hematol.* 2019; 109(3): 260–77. DOI: 10.1007/s12185-019-02594-1
46. Alnahhas I., Jawish M., Alsawas M. et al. Autologous stem cell transplant for primary central nervous system lymphoma: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2019; 19(3): 129–41. DOI: 10.1016/j.clml.2018.11.018
47. Dholaria B.R., Kumar A., Azzuqua A. et al. Autologous stem cell transplantation in central nervous system lymphoma: A multicenter retrospective series and a review of the literature. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2019; 19(6): 273–80. DOI: 10.1016/j.clml.2019.02.013
48. Soussain C., Suzan F., Hoang-Xuan K. et al. Results of intensive chemotherapy followed by hematopoietic stem-cell rescue in 22 patients with refractory or recurrent primary CNS lymphoma or intraocular lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2001; 19: 742–9. DOI: 10.1200/JCO.2001.19.3.742
49. Sellner L., Boumendil A., Finel H. et al. Thiotepa-based high-dose therapy for autologous stem cell transplantation in lymphoma: a retrospective study from the EBMT. *Bone Marrow Transplant.* 2016; 51: 212–8. DOI: 10.1038/bmt.2015.273
50. Osmani A.H., Masood N. Temozolomide for relapsed primary CNS lymphoma. *J Coll Physicians Surg. Pak.* 2012; 22(9): 594–5. DOI: 10.29272/JCPSP.594595
51. Kassa C., Reményi P., Sinkó J. et al. Successful nivolumab therapy in an allogeneic stem cell transplant child with post-transplant lymphoproliferative disorder. *Pediatr. Transplant.* 2018; 22(8): 13302. DOI: 10.1111/ptr.13302
52. Graham M.S., DeAngelis L. M. Improving outcomes in primary CNS lymphoma. *Best Pract Res. Clin. Haematol.* 2018; 31: 262–9. DOI: 10.1016/j.beha.2018.07.006
53. Nayak L., Iwamoto F. M, LaCasce A. et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed/refractory primary central nervous system and testicular lymphoma. *Blood.* 2017; 129(23): 3071–3. DOI: 10.1182/blood-2017-01-764209

54. Grommes C., Nayak L., Tun H.W., Batchelor T.T. Introduction of novel agents in the treatment of Primary CNS Lymphoma. *Neuro-Oncol.* 2018; 21(3): 306–13. DOI: 10.1093/neuonc/noy193
55. Chamoun K., Choquet S., Boyle E. et al. Ibrutinib monotherapy in relapsed/refractory CNS lymphoma: A retrospective case series. *Neurology.* 2017; 88(1): 101–2. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003420
56. Houillier C., Choquet S., Touitou V. et al. Lenalidomide monotherapy as salvage treatment for recurrent primary CNS lymphoma. *Neurology.* 2015; 84(3): 325–6. DOI: 10.1212/WNL.0000000000001158
57. Atilla E., Sahin U., Atilla P.A. et al. Allogeneic stem cell transplantation for relapsed primary central nervous system lymphoma: Is it feasible? *Hematol. Oncol. Stem. Cell Ther.* 2018; 1658–3876(18): 30025–6. DOI: 10.1016/j.hemonc.2018.02.001
58. Varadi G., Or R., Kapelushnik J. et al. Graft-Versus-Lymphoma effect after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for primary central nervous system lymphoma. *Leuk. Lymph.* 1999; 34(1–2): 185–90. DOI: 10.3109/10428199909083396

Информация об авторах

Звонков Евгений Евгеньевич*, доктор медицинских наук, заведующий отделением интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dr.zvonkov@gmail.com, тел.: +7 (495) 612-44-72; 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2639-7419>

Королева Дарья Александровна, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: koroleva_12-12@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5762-8294>

Габеева Нэлли Георгиевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dr.gabeeva@gmail.com, тел.: +7 (495) 612-4382, доб. 16-97; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5171-0414>

Гаврилина Ольга Александровна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным стационаром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dr.gavrilina@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9669-8482>

54. Grommes C., Nayak L., Tun H.W., Batchelor T.T. Introduction of novel agents in the treatment of Primary CNS Lymphoma. *Neuro-Oncol.* 2018; 21(3): 306–13. DOI: 10.1093/neuonc/noy193
55. Chamoun K., Choquet S., Boyle E. et al. Ibrutinib monotherapy in relapsed/refractory CNS lymphoma: A retrospective case series. *Neurology.* 2017; 88(1): 101–2. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003420
56. Houillier C., Choquet S., Touitou V. et al. Lenalidomide monotherapy as salvage treatment for recurrent primary CNS lymphoma. *Neurology.* 2015; 84(3): 325–6. DOI: 10.1212/WNL.0000000000001158
57. Atilla E., Sahin U., Atilla P.A. et al. Allogeneic stem cell transplantation for relapsed primary central nervous system lymphoma: Is it feasible? *Hematol. Oncol. Stem. Cell Ther.* 2018; 1658–3876(18): 30025–6. DOI: 10.1016/j.hemonc.2018.02.001
58. Varadi G., Or R., Kapelushnik J. et al. Graft-Versus-Lymphoma effect after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for primary central nervous system lymphoma. *Leuk. Lymph.* 1999; 34(1–2): 185–90. DOI: 10.3109/10428199909083396

Information about the authors

Evgeny E. Zvonkov*, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: dr.zvonkov@gmail.com, tel.: +7 (495) 612-44-72; 125167, Moscow, Novyy Zыkovskiy proezd, 4. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2639-7419>

Daria A. Koroleva, Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: koroleva_12-12@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5762-8294>

Nelli G. Gabeeva, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: dr.gabeeva@gmail.com, tel.: +7 (495) 612-4382, ext. 16-97; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5171-0414>

Olga A. Gavrilina, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Intensive High-dose Chemotherapy of Lymphomas Department with a 24-hour Hospital, National Research Centre for Hematology, e-mail: dr.gavrilina@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9669-8482>

Федорова Светлана Юрьевна, врач-невролог лаборатории по изучению психических и неврологических расстройств при заболеваниях системы крови ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: neuro_blood@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8239-5442>

Губкин Андрей Владимирович, кандидат медицинских наук, главный гематолог Центральной дирекции здравоохранения — филиала ОАО «РЖД», заведующий отделением, врач-гематолог высшей квалификационной категории Центральной клинической больницы № 2 им. Н.А. Семашко ОАО «РЖД», e-mail: gubkinav@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3698-7751>

Ковригина Алла Михайловна, доктор биологических наук, заведующая патологоанатомическим отделением ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: kovrigina.alla@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1082-8659>

Яцк Галина Александровна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением магнитно-резонансной томографии и ультразвуковой диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: Yatsyk.g@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8589-6122>

Клясова Галина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: klyasova.g@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

Савенко Татьяна Александровна, кандидат медицинских наук, заместитель директора по лечебной работе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: tan.savenko@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5593-6058>

Савченко Валерий Григорьевич, доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: director@blood.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 05.07.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Svetlana Yu. Fedorova, Neurologist, Laboratory for the Study of Mental and Neurological Disorders in the Setting of Hematologic Diseases, National Research Center for Hematology, e-mail: neuro_blood@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8239-5442>

Andrey V. Gubkin, Cand. Sci. (Med.), Chief Hematologist, Central Directorate of Healthcare — brunch of JSC "Russian Railways", Head of Department, board-certified hematologist (highest category), N.A. Semashko Central Clinical Hospital No. 2, JSC "Russian Railways", e-mail: gubkinav@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3698-7751>

Alla M. Kovrigina, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Pathology Department, National Research Centre for Hematology, e-mail: kovrigina.alla@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1082-8659>

Galina A. Yatsyk, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department for Magnetic Resonance Imaging and Ultrasound Diagnostics, National Research Center for Hematology, e-mail: Yatsyk.g@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8589-6122>

Galina A. Klyasova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Laboratory for Clinical Bacteriology, Mycology and Antibiotic Therapy, National Research Center for Hematology, e-mail: klyasova.g@blood.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

Tatyana A. Savenko, Cand. Sci. (Med.), Deputy Director for Clinical Care, National Research Center for Hematology, e-mail: tan.savenko@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5593-6058>

Valery G. Savchenko, Dr. Sci. (Med.), RAS Academician, Prof., Head of the National Research Center for Hematology, e-mail: director@blood.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

*** Corresponding author**

Received 05 Jul 2019

Accepted 12 Sep 2019

АГРЕГАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ И ИХ РАЗМЕРЫ ПРИ ОЖГОВОЙ БОЛЕЗНИ У ДЕТЕЙ

Левин Г. Я.^{*}, Поповичева А. Н., Соснина Л. Н., Шереметьев Ю. А.

ФГБУ ВО «Приволжский медицинский исследовательский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 603005, Нижний Новгород, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Одним из основных факторов патогенеза ожоговой болезни являются нарушения микроциркуляции и гемостаза, причиной которых служит повышение агрегации тромбоцитов. Механизмы усиления агрегации тромбоцитов малоизучены. Основные результаты получены у взрослых больных в раннем периоде ожоговой болезни, поскольку у больных детского возраста аналогичные данные отсутствуют. Имеются данные о связи размеров тромбоцитов (MPV) с их функциональными возможностями.

Цель — исследование спонтанной и АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в зависимости от их размеров при ожоговой болезни у детей.

Материалы и методы. У детей в возрасте от 3 до 17 лет с площадью ожога от 10 до 70 % поверхности тела изучали агрегацию и размеры тромбоцитов в раннем периоде и до выписки. Спонтанную агрегацию тромбоцитов исследовали в условиях искусственного сдвигового потока, а АДФ-индуцированную агрегацию — турбидиметрическим методом. Изучение размеров тромбоцитов проводили кондуктометрическим методом.

Результаты. У детей при ожоговой болезни спонтанная агрегация тромбоцитов значительно возрастает. Впервые оценили интегральную оптическую плотность образующихся агрегатов, их площадь и периметр. Эти показатели оставались повышенными даже при полном закрытии ожоговых ран. Изменения АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов носили при ожоговой болезни разнонаправленный характер. Средний объем тромбоцитов (MPV) возрастал в остром периоде ожоговой болезни, снижался в периоде токсемии и нормализовался к моменту выписки больных. Изменения MPV не отражались на динамике агрегационных свойств тромбоцитов. Отсутствовала зависимость степени агрегации от выраженности гиперфибриногенемии. В крови ожоговых больных имелось большое количество активированных тромбоцитов, что являлось причиной усиления их спонтанной агрегации, не требовавшей участия экзогенных индукторов.

Заключение. У детей после термической травмы наблюдалось усиление спонтанной агрегации тромбоцитов, сохранявшееся до полного закрытия ожоговых ран. Причиной усиления спонтанной агрегации тромбоцитов являлось значительное увеличение количества активированных тромбоцитов.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, дети, агрегация тромбоцитов, средний объем тромбоцитов

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Левин Г.Я., Поповичева А.Н., Соснина Л.Н., Шереметьев Ю.А. Агрегация тромбоцитов и их размеры при ожоговой болезни у детей. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 462–470. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-462-470>

AGGREGATION AND SIZE OF PLATELETS IN CHILDREN WITH BURN DISEASE

Levin G. Ya.*, Popovicheva A.N., Sosnina L.N., Sheremetyev Yu. A.

Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, 603005, Russia

ABSTRACT

Introduction. One of the main factors involved in the pathogenesis of burn disease consists in the disturbance of microcirculation and haemostasis, caused by increased platelet aggregation. Mechanisms underlying the enhancement of platelet aggregation are poorly understood. Main results were obtained for adult patients at the onset of the burn disease, with no similar data on paediatric patients being available. There is evidence of a relationship between the size of platelets (MPV) and their functionality.

Aim. To undertake a study of spontaneous and ADP-induced platelet aggregation and their size in children with burn disease.

Materials and methods. We studied the aggregation and size of platelets in children aged 3–17 years, in whom burn areas covered 10–70 % of the body surface at the onset of the disease and before discharge. Spontaneous platelet aggregation was analysed under conditions of induced shear flow, whereas ADP-induced aggregation was studied employing a turbidimetric method. The study of platelet sizes was carried out using a conductometric method.

Results. Spontaneous platelet aggregation increases significantly in children with burn disease. The integrated optical density of the formed aggregates, their area and perimeter were estimated for the first time. These indicators remained elevated even after burn wounds had been completely closed. In burn disease, changes in ADP-induced platelet aggregation were multi-directional in nature. Mean platelet volume (MPV) was increased during the acute period of burn disease, decreased during the period of toxemia, and normalised by the time of patients' discharge. Changes in MPV did not affect the aggregation properties of platelets. There was no correlation between the degree of aggregation and the severity of hyperfibrinogenemia. The blood of burn patients contained a large number of activated platelets, which was the reason for the increase in their spontaneous aggregation, not requiring the participation of exogenous inducers.

Conclusion. An increase in spontaneous platelet aggregation was observed in children after a thermal injury, which remained elevated until the burn wounds were completely closed. A significant increase in the number of activated platelets constituted the reason for the increase in spontaneous platelet aggregation.

Keywords: burn disease; children; platelet aggregation; mean platelet volume

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Levin G.Ya., Popovicheva A.N., Sosnina L.N., Sheremetyev Yu.A. Aggregation and size of platelets in children with burn disease. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(4):462–470 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-462-470>

Введение

Нарушения микроциркуляции и гемостаза развиваются с первых часов после тяжелой термической травмы и определяют патогенез ее острых периодов [1]. Важной причиной этих нарушений является изменение функциональных свойств тромбоцитов, прежде всего повышение их агрегационной способности [2]. Агрегация тромбоцитов при ожоговой болезни исследовалась, в основном, с помощью экзогенных индукторов [3–5]. При этом она изучалась у взрослых больных и, главным образом, лишь в острый период ожоговой болезни. Механизмы изменения агрегации тромбоцитов при ожоговой болезни остаются недостаточно изученными.

Степень активации тромбоцитов при ожоговой болезни может быть велика за счет резкого повышения содержания в крови агонистов агрегации. Кроме плазменных факторов определенную роль в повышении агрегационных свойств тромбоцитов могут играть изменения их морфологии, в частности изменение их среднего объема (mean platelet volume, MPV). Считается, что маленькие тромбоциты имеют более низкие функциональные возможности, а большие тромбоциты являются метаболически и ферментативно более активными [6]. Однако вопрос о том, является ли средний объем тромбоцитов полезным маркером в оценке их функционального состояния при ожоговой болезни, остается открытым до настоящего времени. В литературе имеются лишь единичные сообщения об изменении спонтанной агрегации тромбоцитов [2] и их среднего объема при тяжелых ожогах у взрослых больных [7].

Изучение функциональных свойств тромбоцитов у больных детского возраста при ожоговой болезни не проводилось.

Цель работы — исследование спонтанной и АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в зависимости от их размеров при ожоговой болезни у детей

Материалы и методы

На проведение данной работы было получено разрешение локально-этического комитета федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Приволжский медицинский исследовательский университет» Минздрава России (ФГБОУ ВО ПМИУ). Информированное согласие на участие в исследовании было получено от родителей всех детей. В исследование были включены 28 больных ожогового центра ФГБОУ ВО ПМИУ обоих полов в возрасте от 3 до 17 лет с ожогами площадью от 10 до 70 % поверхности тела. Проведена серия наблюдений в период лечения больных от 3 суток после термической травмы до полного закрытия ожоговых ран и выписки больного.

Согласно принятой классификации [8], выделяли следующие периоды ожоговой болезни:

- ожоговый шок — до 3 сут;
- острая ожоговая токсемия — 3–9 сут;

- септикотоксемия — с 9-х суток до полного заживления ран;

- период реконвалесценции (до восстановления двигательных функций и возможности самообслуживания).

Полученные результаты сравнивались с соответствующими показателями 18 условно здоровых детей обоих полов того же возраста.

Кровь забирали на 3–8, 12–16-е сутки после травмы и после закрытия ожоговых ран (20-е сутки и более). Забор крови осуществляли утром, натощак, путем венепункции локтевой вены в вакуумные пробирки, содержащие 3,8 % цитрат натрия (в соотношении 9:1) и K_2 ЭДТА (для подсчета количества тромбоцитов и их среднего объема). Плазму, обогащенную тромбоцитами (ПОТ), получали путем центрифугирования цитратной крови в течение 7 мин при 800 об./мин. Бедную тромбоцитами плазму получали путем центрифугирования оставшейся крови в течение 20 мин при 3000 об./мин.

Спонтанную агрегацию тромбоцитов исследовали на реоскопе, сконструированном по принципу [9], в нашей модификации [10]. Для этого тромбоциты помещали между двумя плоскопараллельными пластинами, вращающимися навстречу друг другу, что приводило к спонтанной агрегации тромбоцитов в условиях искусственного сдвигового потока с видеозаписью процесса агрегации. ПОТ (количество тромбоцитов предварительно стандартизовали до концентрации $200\text{--}250 \times 10^9$ /л помещали между двумя плоскопараллельными пластинами и создавали поток со скоростью сдвига 40 с^{-1} . Далее производили видеозапись процесса агрегации в течение 400 с, а также его дискретную микротофосъемку с интервалом в 20 с после начала агрегации. Компьютерную обработку полученных данных осуществляли с помощью специально разработанной программы, рассчитывающей плотность ρ (усл. ед.), площадь S (усл. ед.) и периметр P (усл. ед.) агрегатов, которые дают представление об их объеме и размере, время появления максимальных агрегатов.

Индукционную АДФ (2×10^{-5} М) агрегацию тромбоцитов изучали турбидиметрическим методом Born [11] на лазерном анализаторе марки 230LA-2 производства НПФ «Биола» (Россия). Исследование проводили с использованием ПОТ (количество тромбоцитов предварительно стандартизовали до концентрации $200\text{--}250 \times 10^9$ /л. Процесс АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов оценивали по степени (максимальная амплитуда агрегатограммы M_a , процент светопропускания) и скорости агрегации (амплитуда агрегатограммы через 35 с после добавления индуктора, процент светопропускания).

Концентрацию фибриногена определяли по методу Клаусса. Количество тромбоцитов и их MPV определяли кондуктометрическим методом на гематологическом анализаторе Abacus Junior 30 ND (Diatron, Hungary) в течение 1 часа после венепункции.

Статистический анализ. Полученные результаты представлены как выборочное среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего. Количественные показатели прошли проверку на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро—Уилка (пакет программ Statistica 6.0). Результаты исследования обработаны методами непараметрической статистики с применением критериев Манна—Уитни и парных сравнений Уилкоксона. Для изучения взаимосвязей между изучаемыми параметрами применяли корреляционный анализ (метод Спирмена). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Скорость спонтанной агрегации тромбоцитов значительно возрастала при ожоговой болезни (табл. 1). Если у здоровых детей к 40-й секунде после помещения

ПОТ в условия искусственного сдвигового потока лишь в единичных случаях начинали образовываться мелкие агрегаты, то в остром периоде ожоговой болезни у всех больных в этих условиях уже образовалось большое количество агрегатов, количество которых осталось повышенным и до конца периода токсемии (табл. 1). Кроме того, впервые регистрировали и оценивали интегральную оптическую плотность образовавшихся агрегатов, их площадь и периметр, которые позволяли представить их объем и размер. Значительно увеличивались эти параметры как в остром периоде ожоговой болезни, так и через 12–16 суток после травмы. Важной особенностью агрегации является то, что эти показатели агрегации оставались увеличенными даже при полном закрытии ожоговых ран, при выписке больных (табл. 2).

Изменялся при ожогах и характер спонтанной агрегации тромбоцитов. Если у здоровых детей образование

Таблица 1. Влияние термической травмы на скорость спонтанной агрегации тромбоцитов (количество агрегатов, усл. ед.)

Table 1. Influence of a thermal injury on the rate of spontaneous platelet aggregation (number of aggregates, unit)

Время образования агрегатов Time of aggregate formation	Здоровые дети Healthy children	Время после термической травмы Days passed after a thermal injury		
		4–8 сут (n = 28) 4–8 days (n = 28)	12–16 сут. (n = 27) 12–16 days (n = 27)	≥ 20 сут (n = 16) ≥ 20 days (n = 16)
		Количество агрегатов, усл.ед number of aggregates, unit		
Через 40 с After 40 s	0,28 $\pm$ 0,019	2,4 $\pm$ 0,22 * (p = 0,01)	2,72 $\pm$ 0,21 * (p = 0,01)	1,75 $\pm$ 0,24 * (p = 0,01) ● (p = 0,02) ▲ (p = 0,03)
Через 80 с After 80 s	2,86 $\pm$ 0,31	5,1 $\pm$ 0,49 * (p = 0,01)	4,54 $\pm$ 0,52 * (p = 0,01)	2,83 $\pm$ 0,33 ● (p = 0,02) ▲ (p = 0,03)

Примечание: * $p < 0,05$ — сравнение с контролем, критерий Манна—Уитни, ● $p < 0,05$ — сравнение 4–8 и 12–16 сут и 4–8 и ≥20 сут, критерий Уилкоксона, ▲ $p < 0,05$ — сравнение 12–16 и ≥20 сут, критерий Уилкоксона.

Note: * $p < 0.05$ — comparison with the control group, Mann–Whitney test, ● $p < 0.05$ — comparison of data obtained after 4–8 and 12–16 days; comparison of data obtained after 4–8 and ≥ 20 days, Wilcoxon test, ▲ $p < 0.05$ — comparison of data obtained after 12–16 and ≥ 20 days, Wilcoxon test.

Таблица 2. Влияние термической травмы на плотность (ρ), площадь (S) и периметр (Π) агрегатов тромбоцитов

Table 2. Influence of a thermal injury on the density (ρ), area (S) and perimeter (Π) of platelet aggregates

Параметры Parameters	Здоровые дети Healthy children	Время после термической травмы Days passed after a thermal injury		
		4–8 сут (n = 28) 4–8 days (n = 28)	12–16 сут (n = 27) 12–16 days (n = 27)	≥ 20 сут (n = 16) ≥ 20 days (n = 16)
ρ, усл. ед. ρ, arb. unit	1355 $\pm$ 120,4	1556 $\pm$ 149,4	1896 $\pm$ 153,4 * (p = 0,01)	1706 $\pm$ 153,6* (p = 0,01)
S, усл. ед. S, unit	2298 $\pm$ 195,1	4842 $\pm$ 500,3 * (p = 0,01)	3930 $\pm$ 420,6 * (p = 0,01)	4265 $\pm$ 511,3* (p = 0,01)
Π, усл. ед. P, unit	1225 $\pm$ 100,3	2231 $\pm$ 231,2 * (p = 0,01)	2217 $\pm$ 200,1 * (p = 0,01)	1950 $\pm$ 182,4 * (p = 0,01)

Примечание: * $p < 0,05$ — сравнение с контролем, критерий Манна—Уитни, ● $p < 0,05$ — сравнение 4–8 и 12–16 сут и 4–8 и ≥20 сут, критерий Уилкоксона, ▲ $p < 0,05$ — сравнение 12–16 и ≥20 сут, критерий Уилкоксона.

Note: * $p < 0.05$ — comparison with the control group, Mann–Whitney test, ● $p < 0.05$ — comparison of data obtained after 4–8 and 12–16 days; comparison of data obtained after 4–8 and ≥ 20 days, Wilcoxon test, ▲ $p < 0.05$ — comparison of data obtained after 12–16 and ≥ 20 days, Wilcoxon test.

крупных агрегатов начиналось через $206,0 \pm 14,2$ с, то после 3–8 дней ожога оно происходило значительно раньше — через $115,1 \pm 12,4$ с ($p < 0,05$). Даже при выписке больных образование крупных агрегатов оставалось ускоренным и наблюдалось через $160,5 \pm 15,1$ с ($p < 0,05$). Три крупных агрегата образовались лишь у 20 % здоровых детей. При ожоге у 77 % больных три крупных агрегата образовались в период от 3 до 8 дней после ожоговой травмы и у 80 % обожженных — в период от 12 до 16 суток после ожога. В эти же сроки после ожога у 61 и 41 % детей образовались 4, а у 15 % детей — до шести крупных тромбоцитарных агрегатов (рис. 1). При выписке у 37,5 % детей сохранялась способность к образованию до трех крупных агрегатов, что было выше этого показателя у здоровых детей.

Изучение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов показало, что ожоги вызывают разнонаправленные изменения этого показателя. Скорость АДФ-индуцированной агрегации у 60 % больных во все периоды ожоговой болезни была ниже аналогичного показателя у здоровых детей, а у 45 % больных степень была выше, чем у здоровых. Статистически значимых различий между показателями АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у здоровых детей и при ожогах не обнаружено.

Значительно изменялась при ожоговой болезни у детей и концентрация тромбоцитов. В раннем постшоковом периоде (третьи сутки после ожоговой травмы) концентрация тромбоцитов ($248,4 \pm 17,65 \times 10^9/\text{л}$) была существенно ниже ($p < 0,05$), чем к восьмому дню после ожога. Более высокая концентрация тромбоцитов сохранялась и к моменту выписки больных, хотя и в меньшей степени, чем в период поздней токсемии (табл. 3). Эти данные согласуются с ранее полученными результатами у взрослых больных с ожоговой болезнью [12].

Средний объем тромбоцитов возрастал в остром периоде ожоговой болезни и значительно снижался

к 12–16-м суткам после травмы. К выписке средний объем тромбоцитов приближается к норме (табл. 3). Установлена достоверная обратная корреляция между концентрацией тромбоцитов и MPV через 3–8 суток после ожога ($r = -0,39$; $p = 0,04$).

Статистически достоверная зависимость количества тромбоцитов, их среднего объема и параметров агрегации от возраста и площади поражения больных не обнаружена. Однако это может быть связано с небольшим количеством больных в группах и требует дальнейшего исследования.

В остром периоде ожоговой болезни концентрация фибриногена значительно повышалась по сравнению со здоровыми детьми — до $6,21 \pm 0,40$ г/л ($p < 0,05$), а к 12–16 дням после ожога концентрация фибриногена составляла $4,51 \pm 0,33$ г/л ($p < 0,05$). При выписке концентрация фибриногена не отличалась от его уровня у здоровых детей и составляла $3,15 \pm 0,19$ г/л.

Обсуждение

В дополнение к их первичной гемостатической функции тромбоциты участвуют в патогенезе воспаления, инициируя и поддерживая воспалительные процессы путем секреции и высвобождения при агрегации многочисленных биологически активных веществ, таких как интерлейкин-1, фактор активации тромбоцитов, фактор тромбоцитов 4 [13]. В последнее время появилось достаточное количество исследований, указывающих на связь объема тромбоцитов (MPV) с рядом воспалительных состояний [14–16]. Однако каким образом отражаются изменения MPV на функциональных свойствах тромбоцитов, в частности на их агрегации, остается неизученным. Нами установлено, что уменьшение концентрации тромбоцитов и MPV в период ожоговой токсемии не сопровождается снижением спонтанной агрегации тромбоцитов. Не обнаружено корреляции между концентрацией тромбоцитов, MPV и всеми исследованными показате-

Таблица 3. Влияние термической травмы на количество тромбоцитов и их средний объем (MPV)

Table 3. Influence of a thermal injury on the number of platelets and their mean volume (MPV)

Параметры Parameters	Здоровые дети Healthy children	Время после термической травмы Days passed after a thermal injury		
		4–8 сут (n = 28) 4–8 days (n = 28)	12–16 сут. (n = 27) 12–16 days (n = 27)	≥ 20 сут (n = 16) ≥ 20 days (n = 16)
Концентрация тромбоцитов, $10^9/\text{л}$ Platelet concentration $10^9/\text{л}$	$269,20 \pm 8,35$	$322,04 \pm 26,25$	$557,08 \pm 36,91$ * ($p = 0,01$) • ($p = 0,02$)	$411,25 \pm 15,79$ * ($p = 0,01$) • ($p = 0,02$) ▲ ($p = 0,03$)
MPV, фл	$8,59 \pm 0,08$	$8,89 \pm 0,11$ * ($p = 0,01$)	$8,14 \pm 0,16$ * ($p = 0,01$) • ($p = 0,02$)	$8,53 \pm 0,18$ ▲ ($p = 0,03$)

Примечание: * $p < 0,05$ — сравнение с контролем, критерий Манна–Уитни, • $p < 0,05$ — сравнение 4–8 и 12–16 сут и 4–8 и ≥ 20 сут, критерий Уилкоксона, ▲ $p < 0,05$ — сравнение 12–16 и ≥ 20 сут, критерий Уилкоксона.

Note: * $p < 0,05$ — comparison with the control group, Mann–Whitney test, • $p < 0,05$ — comparison of data obtained after 4–8 and 12–16 days; comparison of data obtained after 4–8 and ≥ 20 days, Wilcoxon test, ▲ $p < 0,05$ — comparison of data obtained after 12–16 and ≥ 20 days, Wilcoxon test.

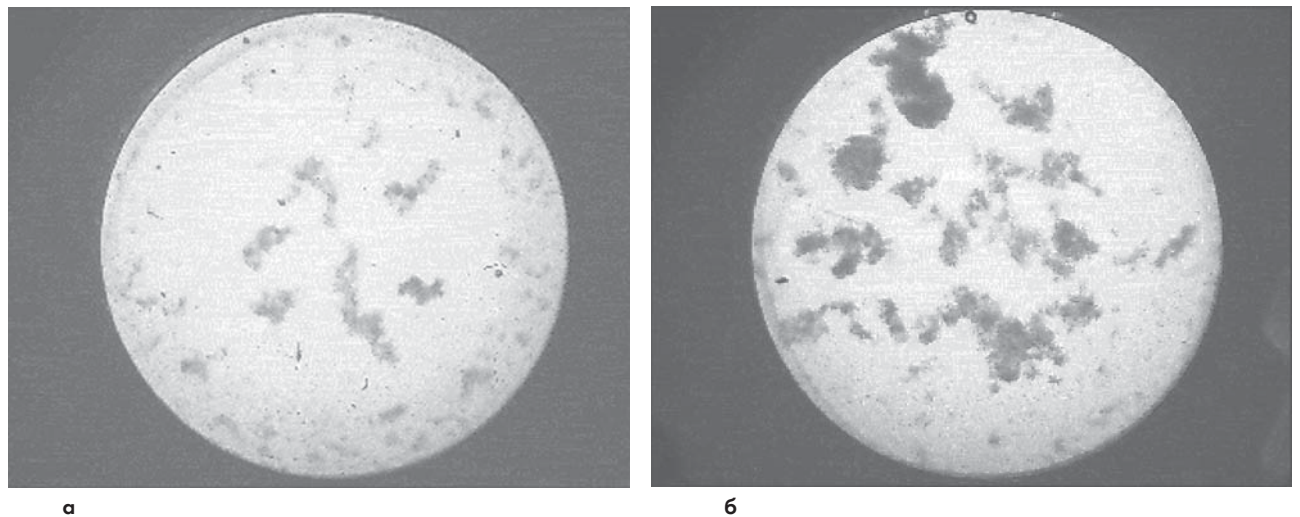


Рисунок 1. Спонтанная агрегация тромбоцитов (через 400 с после начала агрегации)
Figure 1. Spontaneous platelet aggregation (400 s after the onset of aggregation)

Примечание. а — здоровый ребенок В., 16 лет; б — больной П., 5 лет, площадь ожога 40 % поверхности тела, 16-е сутки после ожога.
Note. a — healthy child V., 16 years old; б — patient P., 5 years old, with burns covering 40 % of the body surface, 16th day after the thermal injury.

телями агрегации тромбоцитов при ожоговой болезни у детей.

Таким образом, изменения размеров, количества тромбоцитов и их агрегационной способности при ожоговой болезни не зависят друг от друга. Можно предположить, что динамика концентрации тромбоцитов вызвана тем, что в период шока происходит максимальное потребление тромбоцитов за счет гиперкоагуляции, а в ряде случаев — диссеминированного внутрисосудистого свертывания [17, 18]. После выхода из состояния шока начинал преобладать тромбоцитоз, что соответствует литературным данным [12, 19, 20]. В этот период уменьшается MPV. Известно, что уменьшение MPV происходит при ряде воспалительных процессов и может быть маркером их активности [21, 22].

Механизмы, регулирующие объем тромбоцитов, остаются в значительной степени неясными. Уменьшенный объем тромбоцитов в период ожоговой токсемии может быть связан с тем, что большие активированные тромбоциты потребляются в первую очередь [23]. Кроме того, уменьшение MPV может происходить за счет микровезикуляции, которая возникает при ожоговой болезни [24, 25]. Согласно литературным данным [26], множественные микровезикулы (МВ) в крови имеют тромбоцитарное происхождение. Высвобождение МВ не только сопровождается уменьшением MPV. Сами МВ играют важную роль в патогенезе различных заболеваний, особенно сопровождающихся риском тромботических осложнений и воспалительных состояний [27, 28].

Таким образом, усиление спонтанной агрегации тромбоцитов при ожоговой болезни у детей не связано с изменением MPV. Наиболее важным фактором гиперагрегации тромбоцитов является гиперфибриногенемия [2]. По нашим данным, концентрация фибри-

ногена значительно повышена в острый период ожоговой болезни. При выписке концентрация фибриногена в среднем не отличается от этого показателя у здоровых детей. Однако корреляции между концентрацией фибриногена и показателями агрегации тромбоцитов при ожоговой болезни у детей не обнаружено. Это свидетельствует о том, что в механизме гиперагрегации тромбоцитов важную роль играет наличие в крови ожоговых больных большого количества индукторов агрегации.

Важную роль в агрегации тромбоцитов при ожоговой болезни может играть тромбинемия. При этом спонтанная агрегация тромбоцитов осуществляется за счет взаимодействия рецепторов тромбоцитов GPIb с тромбином, который, имея два центра связывания, может служить мостиком между тромбоцитами [29, 30].

Таким образом, при наличии в плазме крови ожоговых больных большого количества индукторов агрегации тромбоцитов, прежде всего тромбина, активными (высокоаффинными) становятся многие рецепторы, в том числе PAR1 и PAR4. Активация рецепторов стимулирует передачу сигнала внутрь клетки, что ведет к активации фосфолипазы С, мобилизации Ca^{2+} , активации протеинкиназы С и, как следствие, к активации интегринов и агрегации тромбоцитов [31, 32]. При термической травме это, вероятнее всего, и происходит.

Для проверки этого положения проведены следующие исследования [33]. Кровь стабилизировали этилендиаминтетрауксусной кислотой (4,8 мкмоль/л), блокируя тем самым один из конечных путей активации тромбоцитов — увеличение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} . При этом спонтанная агрегация донорских тромбоцитов полностью предотвращалась. В этих условиях агрегация тромбоцитов ожоговых больных снижалась, но полностью не блокировалась.

Это подтверждало наличие большого количества активированных тромбоцитов в крови больных ожоговой болезнью (рис. 1).

В основе механизма агрегации тромбоцитов лежит взаимодействие GPIIb/IIIa со своими лигандами. Однако при ожоговой болезни значительный вклад в этот процесс вносят и иные пути активации и агрегации тромбоцитов, осуществляемые при непосредственном участии других рецепторов и лигандов [34].

Таким образом, при ожоговой болезни у детей происходило значительное увеличение скорости, степени

и характера спонтанной агрегации тромбоцитов, сохранявшейся повышенной и к периоду выписки больных. При ожоговой болезни у детей выявлены разнонаправленные изменения АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, статистически не отличающиеся от аналогичных показателей у здоровых детей. При ожоговой болезни у детей не обнаружено зависимости повышенной агрегации тромбоцитов от их измененного среднего объема (MPV) и развивающейся гиперфибриногенемии. В крови больных ожоговой болезнью обнаружено большое количество активированных тромбоцитов.

Литература

1. Lippi G., Ippolito L., Cervellin G. Disseminated intravascular coagulation in burn injury. *Semin. Thromb. Hemost.* 2010; 36(4): 429–36. DOI: 10.1055/s-0030-1254051
2. Levin G.Y., Egorihina M.N. The role of fibrinogen in aggregation of platelets in burn injury. *Burns*. 2010; 36(6): 806–10.
3. Шписман М.Н., Тютрин И.И., Евескин М.Ш. Инструментальная диагностика нарушений гемокоагуляционного гомеостаза при ожоговом шоке. *Бюллетень сибирской медицины*. 2003; (4): 103–10.
4. Bekyarova G. Relationship between enhanced platelet aggregation and oxidative alteration of erythrocytes in the early phase after thermal injury. *Pathophysiology*. 1998; 5(1): 188.
5. Kamel A.H., Ahmed Y.A.A., Thabet N.M., El-Haish M.K. Modulation by aspirin of platelet function in burn patients: clinical and laboratory assessment. *Ann. Burns Fire Disasters*. 1999; 3: 99–102.
6. Ranjith M.P., Divya R., Mehta V.K. et al. Significance of platelet volume indices and platelet count in ischaemic heart disease. *J. Clin. Pathol.* 2009; 62(9): 830–3.
7. Sen S., Hsei L., Tran N. et al. Early clinical complete blood count changes in severe burn injuries. *Burns*. 2019; 45(1): 97–102. DOI: 10.1016/j.burns.2018.09.004
8. Кочетыгов Н.И. Ожоговая болезнь (очерки по патологической физиологии). — Л.: Медицина, 1973. — 247 с.
9. Schmid-Schönbein H., von Gosen J., Heinich L. et al. A counter-rotating "rheoscope chamber" for the study of the microrheology of blood cell aggregation by microscopic observation and microphotometry. *Microvasc. Res.* 1973; 6(3): 366–76.
10. Левин Г.Я., Модин А.П., Кудрицкий С.Ю., Соснина Л.Н. Устройство для исследования агрегации тромбоцитов. Патент РФ № 2278381; 2006.
11. Born G.V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962; 194: 927–9.
12. Marck R.E., Montagne H.L., Tuinebreijer W.E., Breederveld R.S. Time course of thrombocytes in burn patients and its predictive value for outcome. *Burns*. 2013; 39(4): 714–22. DOI: 10.1016/j.burns.2013.01.015
13. Chu S.G., Becker R.C., Berger P.B. et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and metaanalysis. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8(1): 148–56.
14. Turhan O., Coban E., Inan D., Yalcin A.N. Increased mean platelet volume in chronic hepatitis B patients with inactive disease. *Med. Sci. Monit.* 2010; 16(4): CR202–5.
15. Sahin Ö.B., Bilen S., Ulusoy E.K. et al. Thrombopoietin and mean platelet volume in patients with ischemic stroke. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2013; 19(1): 92–5.
16. Albayrak Y., Albayrak A., Albayrak F. et al. Mean platelet volume: a new predictor in confirming acute appendicitis diagnosis. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2011; 17(4): 362–6.

References

1. Lippi G., Ippolito L., Cervellin G. Disseminated intravascular coagulation in burn injury. *Semin. Thromb. Hemost.* 2010; 36(4): 429–36. DOI: 10.1055/s-0030-1254051
2. Levin G.Y., Egorihina M.N. The role of fibrinogen in aggregation of platelets in burn injury. *Burns*. 2010; 36(6): 806–10.
3. Шписман М.Н., Тютрин И.И., Евескин М.Ш. Инструментальная диагностика нарушений гемокоагуляционного гомеостаза при ожоговом шоке. *Бюллетень сибирской медицины*. 2003; (4): 103–10.
4. Bekyarova G. Relationship between enhanced platelet aggregation and oxidative alteration of erythrocytes in the early phase after thermal injury. *Pathophysiology*. 1998; 5(1): 188.
5. Kamel A.H., Ahmed Y.A.A., Thabet N.M., El-Haish M.K. Modulation by aspirin of platelet function in burn patients: clinical and laboratory assessment. *Ann. Burns Fire Disasters*. 1999; 3: 99–102.
6. Ranjith M.P., Divya R., Mehta V.K. et al. Significance of platelet volume indices and platelet count in ischaemic heart disease. *J. Clin. Pathol.* 2009; 62(9): 830–3.
7. Sen S., Hsei L., Tran N. et al. Early clinical complete blood count changes in severe burn injuries. *Burns*. 2019; 45(1): 97–102. DOI: 10.1016/j.burns.2018.09.004
8. Kochetygov N.I. Burn disease (essays on pathological physiology). — Leningrad: Meditsina, 1973. — 247 s. (in Russian).
9. Schmid-Schönbein H., von Gosen J., Heinich L. et al. A counter-rotating "rheoscope chamber" for the study of the microrheology of blood cell aggregation by microscopic observation and microphotometry. *Microvasc. Res.* 1973; 6(3): 366–76.
10. Levin G.Ya., Modin A.P., Kudritskiy S.Yu., Sosnina L.N. Device for researching platelet aggregation. Patent RF N 2278381; 2006 (in Russian).
11. Born G.V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962; 194: 927–9.
12. Marck R.E., Montagne H.L., Tuinebreijer W.E., Breederveld R.S. Time course of thrombocytes in burn patients and its predictive value for outcome. *Burns*. 2013; 39(4): 714–22. DOI: 10.1016/j.burns.2013.01.015
13. Chu S.G., Becker R.C., Berger P.B. et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and metaanalysis. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8(1): 148–56.
14. Turhan O., Coban E., Inan D., Yalcin A.N. Increased mean platelet volume in chronic hepatitis B patients with inactive disease. *Med. Sci. Monit.* 2010; 16(4): CR202–5.
15. Sahin Ö.B., Bilen S., Ulusoy E.K. et al. Thrombopoietin and mean platelet volume in patients with ischemic stroke. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2013; 19(1): 92–5.
16. Albayrak Y., Albayrak A., Albayrak F. et al. Mean platelet volume: a new predictor in confirming acute appendicitis diagnosis. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2011; 17(4): 362–6.

17. Glas G.J., Levi M., Schultz M.J. Coagulopathy and its management in patients with severe burns. *J. Thromb. Haemost.* 2016; 14(5): 865–74. DOI: 10.1111/jth.13283
18. Mitra B., Wasiaik J., Cameron P.A. et al. Early coagulopathy of major burns. *Injury.* 2013; 44(1): 40–3. DOI: 10.1016/j.injury.2012.05.010
19. Cao X.-Li, Ouyang Y.-Qi. Dynamic Changes of Blood Platelet of Burn Patients and Its Significance. *J Chenzhou Med Col.* 2004; 03. http://en.cnki.com.cn/Journal_en/E-E000-CZYG-2004-03.htm
20. Wei L., Liu F. Variation and clinical significance of blood platelet count in serious burn children. *J. Clin. Sur.* 2005; 10. http://en.cnki.com.cn/Journal_en/E-E066-LCWK-2005-10.htm
21. Kapsoritakis A.N., Koukourakis M.I., Sfridakis A. et al. Mean Platelet Volume: A Useful Marker of Inflammatory Bowel Disease Activity. *Am. J. Gastroenterol.* 2001; 96(3): 776–81.
22. Öztürk Z.A., Dag M.S., Kuyumcu M.E. et al. Could platelet indices be new biomarkers for inflammatory bowel diseases? *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2013; 17(3): 334–41.
23. Collins C.E., Rampton D.S. Platelet dysfunction: a new dimension in inflammatory bowel disease. *Gut.* 1995; 36(1): 5–8.
24. Midura E.F., Kuethe J.W., Rice T.C. et al. Impact of Platelets and Platelet-Derived Microparticles on Hypercoagulability Following Burn Injury Shock. 2016; 45(1): 82–7. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000460
25. Porter J.R.S. Microvesicles as mediators of inflammation in severe burn injury. MD Thesis. 2015. 223 p.
26. Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д. Микровезикулы в крови. Функции и их роль в тромбообразовании. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 168 с.
27. Sabatier F., Darmon P., Hugel B. et al. Type1 and type2 diabetic patients display different patterns of cellular microparticles. *Diabetes.* 2002; 51(9): 2840–5.
28. Preston R.A., Jy W., Jimenez J.J. et al. Effects of severe hypertension on endothelial and platelet microparticles. *Hypertension.* 2003; 41(2): 211–7.
29. Stubbs M.T., Bode W. A player of many parts: the spotlight falls on thrombin's structure. *Thromb. Res.* 1993; 69(1): 1–58.
30. Fenton J.W. 2nd. Thrombin functions and antithrombotic intervention. *Thromb. Haemost.* 1995; 74(1): 493–8.
31. Jackson S.P., Nesbitt W.S., Kulkarni S. Signaling events underlying thrombus formation. *J. Thromb. Haemost.* 2003; 1(7): 1602–12.
32. Ruf W., Dorfleutner A., Riewald M. Specificity of coagulation factor signaling. *J. Thromb. Haemost.* 2003; 1(7): 1495–503.
33. Левин Г.Я., Егорихина М.Н. Способ определения внутрисосудистой активации тромбоцитов. Патент РФ № 2416796; 2011.
34. Macfarlane S.R., Seatter M.J., Kanke T., Hunter G.D., Plevin R. Proteinase-activated receptors. *Pharmacol. Rev.* 2001; 53(2): 245–82.
17. Glas G.J., Levi M., Schultz M.J. Coagulopathy and its management in patients with severe burns. *J. Thromb. Haemost.* 2016; 14(5): 865–74. DOI: 10.1111/jth.13283
18. Mitra B., Wasiaik J., Cameron P.A. et al. Early coagulopathy of major burns. *Injury.* 2013; 44(1): 40–3. DOI: 10.1016/j.injury.2012.05.010
19. Cao X.-Li, Ouyang Y.-Qi. Dynamic Changes of Blood Platelet of Burn Patients and Its Significance. *J Chenzhou Med Col.* 2004; 03. http://en.cnki.com.cn/Journal_en/E-E000-CZYG-2004-03.htm
20. Wei L., Liu F. Variation and clinical significance of blood platelet count in serious burn children. *J. Clin. Sur.* 2005; 10. http://en.cnki.com.cn/Journal_en/E-E066-LCWK-2005-10.htm
21. Kapsoritakis A.N., Koukourakis M.I., Sfridakis A. et al. Mean Platelet Volume: A Useful Marker of Inflammatory Bowel Disease Activity. *Am. J. Gastroenterol.* 2001; 96(3): 776–81.
22. Öztürk Z.A., Dag M.S., Kuyumcu M.E. et al. Could platelet indices be new biomarkers for inflammatory bowel diseases? *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2013; 17(3): 334–41.
23. Collins C.E., Rampton D.S. Platelet dysfunction: a new dimension in inflammatory bowel disease. *Gut.* 1995; 36(1): 5–8.
24. Midura E.F., Kuethe J.W., Rice T.C. et al. Impact of Platelets and Platelet-Derived Microparticles on Hypercoagulability Following Burn Injury Shock. 2016; 45(1): 82–7. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000460
25. Porter J.R.S. Microvesicles as mediators of inflammation in severe burn injury. MD Thesis. 2015. 223 p.
26. Zubairov D.M., Zubairova L.D. Mikrovezikuly v krovi. Funktsii i ikh rol' v tromboobrazovanii. M. Zubairov. Moscow. GEOTAR-Media, 2009: 168 (in Russian).
27. Sabatier F., Darmon P., Hugel B. et al. Type1 and type2 diabetic patients display different patterns of cellular microparticles. *Diabetes.* 2002; 51(9): 2840–5.
28. Preston R.A., Jy W., Jimenez J.J. et al. Effects of severe hypertension on endothelial and platelet microparticles. *Hypertension.* 2003; 41(2): 211–7.
29. Stubbs M.T., Bode W. A player of many parts: the spotlight falls on thrombin's structure. *Thromb. Res.* 1993; 69(1): 1–58.
30. Fenton J.W. 2nd. Thrombin functions and antithrombotic intervention. *Thromb. Haemost.* 1995; 74(1): 493–8.
31. Jackson S.P., Nesbitt W.S., Kulkarni S. Signaling events underlying thrombus formation. *J. Thromb. Haemost.* 2003; 1(7): 1602–12.
32. Ruf W., Dorfleutner A., Riewald M. Specificity of coagulation factor signaling. *J. Thromb. Haemost.* 2003; 1(7): 1495–503.
33. Левин Г.Я., Егорихина М.Н. Способ определения внутрисосудистой активации тромбоцитов. Патент РФ № 2416796; 2011.
34. Macfarlane S.R., Seatter M.J., Kanke T., Hunter G.D., Plevin R. Proteinase-activated receptors. *Pharmacol. Rev.* 2001; 53(2): 245–82.

Информация об авторах

Левин Григорий Яковлевич*, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, ведущий научный сотрудник, руководитель отделения гравитационной хирургии и гемодиализа Университетской клиники ФГБУ ВО «Приволжский медицинский исследовательский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: levin@unn.ac.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1016-5066>

Information about the authors

Grigory Ya. Levin*, Dr. Sci. (Med.), Prof., Honoured Scientist of the Russian Federation, Leading Researcher, Head of the Department for Gravitational Surgery and Hemodialysis, Clinic at the Privolzhsky Research Medical University. e-mail: levin@unn.ac.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1016-5066>

Поповичева Александра Николаевна, младший научный сотрудник отделения гравитационной хирургии и гемодиализа Университетской клиники ФГБУ ВО «Приволжский медицинский исследовательский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3717-2186>

Соснина Лариса Николаевна, младший научный сотрудник отделения гравитационной хирургии и гемодиализа Университетской клиники ФГБУ ВО «Приволжский медицинский исследовательский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4683-4647>

Шереметьев Юрий Александрович, доктор биологических наук, старший научный сотрудник отделения гравитационной хирургии и гемодиализа Университетской клиники ФГБУ ВО «Приволжский медицинский исследовательский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9646-6486>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 23.04.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Aleksandra N. Popovicheva, Junior Researcher, Department for Gravitational Surgery and Hemodialysis, Clinic at the Privolzhsky Research Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3717-2186>

Larisa N. Sosnina, Junior Researcher, Department for Gravitational Surgery and Hemodialysis, Clinic at the Privolzhsky Research Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4683-4647>

Yury A. Sheremetyev, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Department for Gravitational Surgery and Hemodialysis, Clinic at the Privolzhsky Research Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9646-6486>

*** Corresponding author**

Received 23 Apr 2019

Accepted 12 Sep 2019

МЕТАЛЛОПРОТЕАЗА ADAMTS-13

Колосков А. В.*, Мангушло А. А.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 191015, Санкт-Петербург, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Значение открытия металлопротеазы ADAMTS-13 выходит за рамки представления о ее ключевой роли в патогенезе тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП), имеются данные о наличии связи между снижением активности ADAMTS-13 и тромботическими событиями при остром инфаркте миокарда и ишемическом инсульте.

Цель обзора — обобщение современной информации о структуре и функции металлопротеазы ADAMTS-13.

Основные сведения. Биологической функцией протеазы ADAMTS-13 является расщепление сверхкрупных мультимеров фактора Виллебранда. Основой для понимания функции расщепляющей фактор Виллебранда протеазы явилась демонстрация того, что дефицит ее является причиной развития ТТП. ADAMTS-13 имеет доменную структуру. Установлено функциональное значение большинства доменов ADAMTS-13, ключевая роль взаимодействия ADAMTS-13 и WF в регуляции гемостаза. Конформационная активация протеазы ADAMTS-13 фактором Виллебранда является важным аспектом реализации ее функции. После попадания в кровоток сверхкрупные мультимеры фактора Виллебранда быстро принимают закрытую конформацию, которая становится очень устойчивой к протеолизу ADAMTS-13 при отсутствии напряжения сдвига. Плазменные сверхкрупные мультимеры фактора Виллебранда восстанавливают свою чувствительность к ADAMTS-13 при воздействии высокого напряжения сдвига жидкости, которое разворачивает центральный домен A2 фактора Виллебранда. Разворачивание молекулы фактора Виллебранда под воздействием напряжения сдвига открывают в домене A2 ранее скрытые экзосайты, которые постепенно увеличивают сродство связывания между ADAMTS-13 и фактором Виллебранда. Механизм выработки аутоантител против ADAMTS-13 неизвестен и требует дальнейшего изучения. Маскировка криптоэпитопов в замкнутой конформации ADAMTS-13 предотвращает образование аутоантител. Раннее антигенное распознавание ADAMTS-13 происходит через поверхностные обнаженные эпитопы в С-концевых доменах. Более подробная информация о механизмах взаимодействия между ADAMTS-13 и фактором Виллебранда может улучшить понимание механизмов регуляции свертывающей системы.

Ключевые слова: ADAMTS-13, фактор Виллебранда, гемостаз

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Колосков А.В., Мангушло А.А. Металлопротеаза ADAMTS-13. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 471–482. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-471-482>

METALLOPROTEASE ADAMTS-13

Koloskov A. V.*, Mangushlo A. A.

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, 191015, Russia

ABSTRACT

Introduction. The significance of ADAMTS-13 extends beyond its key role in the pathogenesis of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP); there is evidence of a relationship between a decrease in the ADAMTS-13 activity and thrombotic events in acute myocardial infarction and ischemic stroke.

Aim. To generalise available information on the structure and function of the metalloprotease ADAMTS-13.

General findings. The biological function of ADAMTS-13 consists in the cleavage of ultra-large von Willebrand factor (vWF) multimers. The fact that its deficiency causes the development of TTP provides a basis for understanding the function of vWF-cleaving protease. ADAMTS-13 has a domain structure. The functional roles of most ADAMTS-13 domains, as well as the key role of the ADAMTS-13-vWF interaction in the regulation of haemostasis, are defined. The conformational activation of ADAMTS-13 by vWF constitutes an important aspect of its function. After getting into the bloodstream, ultra-large vWF multimers quickly adopt a closed conformation, which becomes very resistant to ADAMTS-13 proteolysis in the absence of shear stress. Ultra-large plasma vWF multimers regain their sensitivity to ADAMTS-13 after being exposed to high fluid shear stress, which unfolds the central vWF-A2 domain. The unfolding of a vWF molecule under shear stress conditions reveals previously hidden exosites in domain A2, which gradually increase the binding affinity between ADAMTS-13 and vWF. The mechanism underlying the production of autoantibodies against ADAMTS-13 is unknown and requires further study. The masking of cryptic epitopes in the closed conformation of ADAMTS-13 prevents the formation of autoantibodies. Early antigen recognition of ADAMTS-13 occurs through surface-exposed epitopes in the C-terminal domains. More detailed information on the mechanisms underlying the interaction between ADAMTS-13 and the vWF can improve the understanding of mechanisms involved in the regulation of the coagulation system.

Keywords: ADAMTS-13, von Willebrand factor, haemostasis

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Koloskov A.V., Mangushlo A.A. The Metalloprotease ADAMTS-13. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(4): 471–482 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-471-482>

Введение

Все большее количество клинических и экспериментальных исследований свидетельствуют о существенной роли металлопротеазы ADAMTS-13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin-1-like domains, member 13) не только в патогенезе тромботической тромбоцитопенической пурпуры, но и при сердечно-сосудистых заболеваниях. Расширение знаний о металлопротеазе

ADAMTS-13 может улучшить наше понимание патогенеза этих заболеваний, механизмов регуляции свертывающей системы крови в целом, а также предложить новые решения для улучшения результатов лечения.

Целью данного обзора является обобщение современной информации о структуре и функции металлопротеазы ADAMTS-13.

Металлопротеазы ADAMTS-13

Пионерские исследования, выполненные в 1996 г., обнаружили взаимодействующую с фактором Виллебранда плазменную протеазу. Было установлено, что функциональная активность данной протеазы зависит от ионов Zn^{2+} и Ca^{2+} , присутствие которых было необходимым для расщепления фактора Виллебранда при исследованиях *in vitro*. Было показано, что воздействие металлопротеазы приводит к расщеплению мультимеров фактора Виллебранда в специфическом сайте (Tyr1605-Met1606) в домене A2 и уменьшению гемостатической функции фактора Виллебранда *in vivo* [1, 2]. Металлопротеаза ADAMTS-13 была идентифицирована и клонирована в 2001 г. [3, 4].

Биологической функцией металлопротеазы ADAMTS-13 является расщепление сверхкрупных мультимеров фактора Виллебранда [5]. Фактор Виллебранда представляет собой большой и гетерогенный адгезивный гликопротеин — один из ключевых белков свертывающей системы крови [6]. Он синтезируется в эндотелиальных клетках и мегакариоцитах в виде мономера, подвергаясь дальнейшей димеризации в эндоплазматическом ретикулуме через С-концевую дисульфидную связь [7]. Мультимеризация происходит в аппарате Гольджи в результате образования пропептид-индуцированной дисульфидной связи [8]. Гетерогенный фактор Виллебранда и сверхкрупные мультимеры фактора Виллебранда депонируются в тельцах Вейбеля—Паладе, из которых они могут выделяться конститутивно и при необходимости [9]. Сверхкрупные мультимеры фактора Виллебранда потенциально тромбогенны, поскольку способны спонтанно взаимодействовать с тромбоцитами, образуя сгустки, блокирующие систему микроциркуляции [10].

Металлопротеаза ADAMTS-13 синтезируется в основном в печени. Концентрация ADAMTS-13 в плазме человека колеблется от 0,7 до 1,4 мкг/мл. Матричная РНК, кодирующая полноразмерный протеин ADAMTS-13 (примерно 4,3 kb), обнаруживается в печени с помощью нозерн-блоттинга [3, 4]. Усеченная форма матричной РНК ADAMTS-13 (примерно 2,4 kb) при использовании той же методики обнаруживается в других тканях, таких как плацента и скелетные мышцы [4]. Используя обратную полимеразную цепную реакцию, фрагменты матричной РНК ADAMTS-13 выявляются во многих тканях, включая почки, поджелудочную железу, селезенку, тимус, предстательную железу, яички, яичники, тонкую кишку, толстую кишку и лейкоциты периферической крови [3, 11]. В печени ADAMTS-13 локализуется в звездчатых клетках [12]. Содержание матричной РНК ADAMTS-13 и экспрессия белка ADAMTS-13 в звездчатых клетках крыс *in vitro* и *in vivo* резко повышается при механическом воздействии или под влиянием трансформирующего ростового фактора β [13], что ука-

зывает на возможную роль ADAMTS-13 в ремоделировании ткани печени после травмы. Кроме того, белок ADAMTS-13, продуцируемый в звездчатых клетках, может диффундировать в капилляры и поступать в кровоток, определяя тем самым плазменную активность ADAMTS-13. В пользу этого механизма свидетельствуют такие факты, как уменьшение плазменной активности ADAMTS-13 у людей после частичной гепатэктомии [14] или у крыс после введения диметилнитрозамина, повреждающего звездчатые клетки [15], и повышение активности ADAMTS-13 в звездчатых клетках и плазме в моделях холестаза и стеатогепатита у крыс [16]. Матричная РНК ADAMTS-13 и белок ADAMTS-13 также были обнаружены в эндотелиальных клетках сосудов как *in vitro*, так и *in vivo* [17, 18].

Показано [18], что нестимулированные эндотелиальные клетки вены пуповины человека продуцируют в культуре приблизительно 1 нг ADAMTS-13 на 1 мл кондиционированной среды каждые 60 минут. Количество ADAMTS-13 примерно в 100 раз меньше, чем количество фактора Виллебранда (100 нг/мл), производимого этими клетками в тех же условиях. При использовании иммуногистохимического метода было продемонстрировано, что ADAMTS-13 не накапливается совместно с фактором Виллебранда в тельцах Вейбеля—Паладе и, по-видимому, секретируется в циркуляцию непосредственно из места синтеза [17, 18].

Функция металлопротеазы ADAMTS-13, синтезированной в эндотелии, не вполне понятна. В то время как эндотелиальные клетки синтезируют следовые количества ADAMTS-13 в культуре, суммарная площадь эндотелиальной выстилки предполагает потенциально существенный вклад ADAMTS-13, имеющего эндотелиальное происхождение, в величину плазменной активности ADAMTS-13. Кроме того, металлопротеаза ADAMTS-13, высвобождаемая из эндотелиальных клеток, может расщеплять сверхкрупные мультимеры фактора Виллебранда, фиксированного на поверхности клеток, обеспечивая дополнительный механизм поддержания поверхности, свободной от фактора Виллебранда [18].

В зависимости от клеточного окружения металлопротеаза ADAMTS-13 может обладать как проангиогенным, так и антиангиогенным эффектом. В исследовании М. Lee и соавт. [19] были получены результаты, свидетельствующие о том, что, с одной стороны, обработка эндотелиальных клеток вены пуповины человека рекомбинантной ADAMTS-13 приводит к значительному образованию капиллярноподобных структур и клеточной миграции, что указывает на усиленный ангиогенез. С другой стороны, когда в культуральной среде присутствовал фактор роста эндотелия сосудов, металлопротеаза ADAMTS-13 ингибировала активность, индуцированную этим фактором. Этот

антиангиогенный эффект можно предотвратить предварительной инкубацией ADAMTS-13 с моноклональными антителами, направленными против С-концевого локуса TSP1 повторов 5–7 [19], что указывает на роль повторов TSP1 в опосредовании про- и антиангиогенных эффектов. Небольшое количество матричной РНК ADAMTS-13 обнаруживается в мегакариocyтах и тромбоцитах человека [20]. Биологическая функция ADAMTS-13, полученной из тромбоцитов, остается неизвестной. В исследовании М. Suzuki и соавт. [21] установлено, что трансгенная, сверхэкспрессированная ADAMTS-13 в тромбоцитах ADAMTS13^{-/-} мышей может высвобождаться после активации тромбоцитом и коллагеном, а также при формировании тромба после повреждения 10 %-ным хлоридом железа. Секретируемая человеческая ADAMTS-13 способна замедлять процесс образования тромба в брыжеечных артериолах после окислительного повреждения и защищает ADAMTS13^{-/-} мышей от тромбогенного эффекта фактора Виллебранда и индуцированного Шига-токсином тромбообразования. Данные результаты свидетельствуют о том, что ADAMTS-13, синтезируемая в тромбоцитах, может иметь биологически важную функцию [21].

ADAMTS-13 имеет доменную структуру, включающую сигнальный пептид, пропептид, металлопротеазный домен, дизинтегрин-подобный домен, первый повтор тромбоспондина первого типа, богатый цистеином, и спейсерный домены. Более дистальный С-конец содержит семь дополнительных повторов тромбоспондина первого типа и два CUB-домена [5].

Основой для понимания функции металлопротеазы, расщепляющей фактор Виллебранда, стал установленный факт, что дефицит ее приводит к развитию тромботической тромбоцитопенической пурпуры [22]. За последние 15 лет была установлена функциональная роль большинства доменов ADAMTS-13, а также выяснена ключевая роль взаимодействия ADAMTS-13 и фактора Виллебранда в регуляции гемостаза [23].

Металлопротеазный домен ADAMTS-13 сам по себе не имеет или обладает малой протеолитической активностью в отношении фактора Виллебранда. Металлопротеазный и дизинтегрин-подобный домены, по-видимому, являются единой функциональной единицей [24–27]. Экспериментальные данные также свидетельствуют, что добавление дизинтегрин-подобного домена к металлопротеазному домену значительно увеличивает способность ADAMTS-13 расщеплять фактор Виллебранда [24, 26]. Металлопротеаза ADAMTS-13, лишенная дизинтегрин-подобного домена [24–26] или имеющая точечные мутации в варибельных областях дизинтегрин-подобного домена (Arg349Ala и Leu350Gly), обладает резко сниженной протеолитической активностью по отношению к пептиду и мультимеру фактора Виллебранда, что указывает на важность дизинтегрин-подобного домена в распознавании

субстрата. Остатки Arg349 и Leu350 дизинтегрин-подобного домена ADAMTS-13 могут взаимодействовать с остатками Asp1614 и Ala1612 в центральном домене A2 фактора Виллебранда. Такое взаимодействие, по-видимому, помогает позиционировать связь Tyr1605–Met1606 для расщепления, тем самым заметно влияя на константу скорости и каталитическую эффективность субстратного протеолиза [26].

Большое внимание уделяется значению богатого цистеином и спейсерного доменов ADAMTS-13 в распознавании специфического субстрата [24, 27]. Варианты ADAMTS-13, у которой отсутствуют как богатый цистеином, так и спейсерный домен или только спейсерный домен, практически не обладают активностью по отношению к связанным с клеткой сверхкрупным мультимерам фактора Виллебранда и циркулирующему фактору Виллебранда [24].

Протеолитическое расщепление пептидного субстрата увеличивается благодаря взаимодействию некаталитических доменов с доменом A2 (между остатками Asp1614 и Arg1668) фактора Виллебранда [25, 26].

Протеазы семейства ADAMTS имеют переменное количество повторов тромбоспондина первого типа (Thrombospondin 1 — TSP1), которые могут играть роль в клеточной локализации и распознавании субстрата. Первый повтор TSP1 ADAMTS-13 связывается непосредственно с регионом, состоящим из 73 аминокислотных остатков от D1596 до R1668 фактора Виллебранда, обозначаемым как VWF73 [24]. Повторы 5–8 TSP1 протеазы ADAMTS-13 связываются с фактором Виллебранда через его домен D4 [28]. Показано, что С-концевые повторы TSP1 ADAMTS-13 взаимодействуют с поверхностным рецептором CD36 эндотелиальных клеток [29]. Такое взаимодействие может усиливать протеолитическое расщепление сверхкрупных мультимеров фактора Виллебранда в месте его высвобождения при воздействии силы, возникающих при движении (течении) крови (обозначается термином «воздействие силы сдвига жидкости») [30]. Повторы TSP1 ADAMTS-13 содержат свободные тиолы, которые могут реагировать со свободными тиолами на поверхности сверхкрупных мультимеров фактора Виллебранда или плазменного фактора Виллебранда, подвергнутых воздействию силы сдвига жидкости. Такое взаимодействие может препятствовать образованию дисульфидных связей между двумя мультимерами фактора Виллебранда в условиях высоких силы сдвига жидкости, ослабляя тем самым фактор Виллебранд-опосредованную адгезию и агрегацию тромбоцитов [5, 23]. С другой стороны, представлены данные о том, что у человека и мышей металлопротеаза ADAMTS-13, не содержащая С-концевых повторов 2–8 TSP1 и доменов CUB,

расщепляет связанные с клеткой сверхкрупные мультимеры фактора Виллебранда и плазменный фактор Виллебранда с такой же эффективностью, как и полноразмерный белок ADAMTS-13 [31, 32]. Для более точного понимания биологической роли повторов TSP1 металлопротеазы ADAMTS-13 необходимы дальнейшие исследования.

Домены CUB уникальны для ADAMTS-13 и не найдены в других металлопротеазах семейства ADAMTS и ADAM-протеазах [33]. Роль доменов CUB металлопротеазы ADAMTS-13 в полной мере неясна. Рекомбинантные CUB-1 и CUB-1+2 домены или синтетические пептиды, полученные из домена CUB-1 ADAMTS-13, частично блокируют протеолитическое расщепление сверхкрупных мультимеров фактора Виллебранда, связанного с эндотелиальными клетками в условиях воздействия силы сдвига жидкости. Это позволило предположить, что домены CUB ADAMTS-13 могут взаимодействовать с сверхкрупными мультимерами фактора Виллебранда, фиксированными на поверхности эндотелиальных клеток [34]. В пользу данной гипотезы свидетельствует тот факт, что молекула ADAMTS-13, у которой отсутствуют домены CUB, не способна к расщеплению сверхкрупных мультимеров фактора Виллебранда с фиксированными на нем тромбоцитами в брыжеечных артериолах ADAMTS13^{-/-} мышей [35]. В то же время имеются сообщения о том, что ADAMTS-13 человека, лишенная доменов CUB, расщепляет свежие нити сверхкрупных мультимеров фактора Виллебранда в отсутствие силы сдвига жидкости [36] и нити сверхкрупных мультимеров фактора Виллебранда, декорированные тромбоцитами и фиксированные к культивируемым эндотелиальным клеткам пупочной вены человека в условиях потока [32]. Эти противоречивые результаты свидетельствуют о сложности оценки функции ADAMTS-13 в физиологических условиях.

Металлопротеаза ADAMTS-13 секретируется как конститутивная активная протеаза [18, 37]. В настоящее время ее ингибитор не обнаружен. Плазменный $\alpha 2$ -макроглобулин ингибирует многие другие матричные металлопротеазы, включая ADAMTS-4, -5, -7 и -12, но, по-видимому, не связывается и не влияет на активность ADAMTS-13 по отношению к фактору Виллебранда, что позволило высказать предположение о регуляции функции ADAMTS-13 на уровне субстрата [5]. Свежесинтезированные сверхкрупные мультимеры фактора Виллебранда, закрепленные на мембране эндотелиальных клеток, могут быть расщеплены ADAMTS-13 в присутствии [38] или в отсутствие действия силы сдвига жидкости [36]. Это указывает на то, что сверхкрупные мультимеры фактора Виллебранда, связанные с эндотелиальными клетками, находятся в открытой конформации [5]. После попадания в кровоток сверхкрупные мультимеры фактора Виллебранда быстро принимают закрытую

конформацию, которая становится очень устойчивой к протеолизу ADAMTS-13 при отсутствии действия силы сдвига жидкости или воздействия денатуратов. Плазменные ультракрупные мультимеры фактора Виллебранда восстанавливают свою чувствительность к ADAMTS-13 при воздействии силы сдвига жидкости (приблизительно 20–100 дин/см²), которое, как предполагают, разворачивает центральный домен A2 фактора Виллебранда. При этом взаимодействие между фактором Виллебранда и ADAMTS-13 при воздействии силы сдвига жидкости является высокоаффинным [39]. Такая сила сдвига жидкости встречается *in vivo* в суженных или разветвляющихся сосудах, артериях, артериолах и системе микроциркуляции. Сила сдвига жидкости возрастает по мере нарастания стеноза аорты, что приводит к увеличению протеолиза фактора Виллебранда под воздействием ADAMTS-13 [40, 41]. Хирургическая коррекция стеноза снижает скорость сдвига жидкости и тем самым уменьшает чувствительность фактора Виллебранда к воздействию металлопротеазы ADAMTS-13, что приводит к нормализации соотношения мультимеров фактора Виллебранда в плазме [5, 42].

Воздействие силы сдвига жидкости, характерное для артериального кровотока, может быть смоделировано *in vitro* с использованием конической пластины вискозиметра [43], мини-вortexa [28, 39] и микрожидкостной системы [44], генерирующих ламинарный поток. При воздействии силы сдвига жидкости в модели *in vitro* протеолитическое расщепление мультимерного фактора Виллебранда металлопротеазой ADAMTS-13 увеличивается по мере нарастания скорости сдвига жидкости [39]. Также в модели *in vitro* отмечено расщепление изолированного A1A2A3-тридомена фактора Виллебранда [45] и домена A2 фактора Виллебранда под воздействием силы сдвига жидкости [46]. Суммарно эти данные свидетельствуют о том, что сила сдвига жидкости играет решающую роль в регулировании протеолитического расщепления фактора Виллебранда металлопротеазой ADAMTS-13 [5].

Коагуляционный фактор VIII, который обладает высоким сродством к фактору Виллебранда, может оказывать воздействие на доменные области A1A2A3 и регулировать протеолитическое расщепление A2 домена фактора Виллебранда металлопротеазой ADAMTS-13. Эффект усиления протеолиза фактора Виллебранда в присутствии фактора VIII был обнаружен только при воздействии силы сдвига жидкости. Это объясняется тем, что связывание фактора VIII с фактором Виллебранда может облегчать конформационное разворачивание домена A2 в при воздействии силы сдвига жидкости. При нормандском варианте (2N) болезни Виллебранда, характеризующемся тяжелым дефектом связывания фактора VIII с фактором Виллебранда, имеет место дефект расщепления фактора Виллебранда

протеазой ADAMTS-13 в присутствии фактора VIII. Имеющиеся наблюдения свидетельствуют о роли фактора VIII как физиологического кофактора, регулирующего расщепление фактора Виллебранда протеазой ADAMTS-13. Данная кофакторная активность зависит от взаимодействия между легкой цепью фактора VIII и доменов D'D3 фактора Виллебранда [5, 43].

Тромбоцитарный гликопротеин GPIbα обладает свойством связывать фактор Виллебранда. Исследования показали, что добавление фиксированных формалином, лиофилизированных или свежих тромбоцитов и растворимого GPIbα к мультимерному фактору Виллебранда увеличивает его протеолитическое расщепление металлопротеазой ADAMTS-13 вне зависимости от действия силы сдвига жидкости [43, 47]. Ристоцетин, антибиотик, который связывает домен A1 фактора Виллебранда рядом с сайтом, связывающим GPIbα, также улучшает расщепление мультимерного фактора Виллебранда металлопротеазой ADAMTS-13. Эти результаты свидетельствуют, что взаимодействие между тромбоцитарным GPIbα (или ристоцитином) и A1 доменом влияет на доступность A2 домена для действия ADAMTS-13. Ристоцетин уменьшает потребность в факторе VIII для расщепления фактора Виллебранда металлопротеазой ADAMTS-13. Связывание тромбоцитарного GPIbα с фактором Виллебранда усиливает кофакторный эффект фактора VIII [43]. Эти результаты свидетельствуют, что фактор VIII и тромбоцитарный гликопротеин GPIbα обладают синергическими эффектами для усиления расщепления фактора Виллебранда металлопротеазой ADAMTS-13 под воздействием силы сдвига жидкости [5].

Конформационная активация металлопротеазы ADAMTS-13 фактором Виллебранда является важным аспектом реализации ее функции. Пониманию функции ADAMTS-13 в значительной степени способствовало изучение усеченных мутантов, приготовленных из конструкций с постепенным удалением фрагментов, начиная с С-конца. Первоначально было установлено, что расщепление короткого субстрата VWF73 увеличивалось примерно в четыре раза при усечении полноразмерной металлопротеазы ADAMTS-13 (FL ADAMTS-13) до варианта MDTCS [25]. Это позволило предположить, что дистальные домены, содержащие повторы тромбоспондина и CUB-домены, могут ингибировать активность молекулы, что было подтверждено в дальнейших исследованиях [23].

При исследовании активности металлопротеазы ADAMTS-13 в зависимости от pH было обнаружено, что FL ADAMTS-13, но не MDTCS, обладает наибольшей активностью при pH 6. Кроме того, моноклональные антитела, направленные к С-концевым доменам ADAMTS-13, могут повысить ее активность только при pH 6. Это позволяет предположить ауто-

ингибиторную роль С-концевых доменов при физиологическом уровне pH. К тому же, помимо снижения pH и наличия активирующих моноклональных антител, аутоингибирование усиливается в присутствии домена D4 фактора Виллебранда [48]. Также при изучении аллостерических характеристик металлопротеазы ADAMTS-13 и ее усеченных вариантов было высказано предположение, что металлопротеаза ADAMTS-13 может находиться в компактной и расширенной конфигурации [48].

При анализе металлопротеазы ADAMTS-13 с усиленной функциональной активностью (GoF-ADAMTS-13) с вариантным спейсерным доменом, которая обладает повышенной протеолитической активностью по сравнению с металлопротеазой ADAMTS-13 дикого типа (WT-ADAMTS-13), было показано, что связывание фактора Виллебранда с WT-ADAMTS-13 приводило к разворачиванию и функциональной активации WT-ADAMTS-13 [49]. В исследовании K.South и соавт. [50] установлено, что GoF-ADAMTS-13 протеаза находится в предварительно активированном состоянии и не может быть дополнительно активирована фактором Виллебранда D4-СК. Также установлено прямое связывание между спейсерным доменом N-концевого фрагмента ADAMTS-13, MDTCS и CUB1–2 доменными фрагментами, в связи с чем этими исследователями было высказано предположение, что подобное взаимодействие поддерживает замкнутую конформацию ADAMTS-13 и нарушается в варианте GoF-ADAMTS-13. Ряд антигенных детерминант GoF-ADAMTS-13 устроены таким образом, что распознавались антителами, вызывающими приобретенную тромбоцитическую тромбоцитопеническую пурпуру (ТТП). По-видимому, эти антигенные детерминанты обычно маскируются связыванием CUB-доменов со спейсерным доменом у WT-ADAMTS-13 и обнаруживаются только при конформационной активации. Анализ методом электронной микроскопии подтвердил, что WT-ADAMTS-13 находится в компактной, глобулярной конформации, которая частично разворачивается в варианте GoF-ADAMTS-13 [50].

Активация ADAMTS-13 фактором Виллебранда D4-СК подчеркивает важную роль С-концевых доменов фактора Виллебранда в его протеолитической обработке. Был идентифицирован сайт связывания ADAMTS-13 в факторе Виллебранда D4-СК, локализованный главным образом в домене D4, который способствует сближению двух белков в отсутствие конформационной активации фактора Виллебранда [28]. Продемонстрирована обратимая ассоциация металлопротеазы ADAMTS-13 с фактором Виллебранда, находящимся в закрытой конформации [51]. Высказано предположение, что такое связывание этих белков обеспечивает успешное расщепление фактора Виллебранда при переходе его в открытую конформа-

цию под воздействием силы сдвига жидкости. В свете представленных данных, демонстрирующих конформационную активацию ADAMTS-13, реакцию связывания можно рассматривать также как побуждающую стадию активации протеазы ADAMTS-13 для подготовки ее экзосайтного взаимодействия с доменом A2 фактора Виллебранда, открывающимся при разворачивании фактора Виллебранда при воздействии сил сдвига [23].

Н.В. Feys и соавт. [51] высказали предположение, что в циркуляции только 3 % ADAMTS-13 связаны фактором Виллебранда в конформационно-активной форме. При тромботических и воспалительных состояниях, вследствие которых фактор Виллебранда высвобождается из телец Вейбеля—Палладе активированного эндотелия или фиксируется к обнаженному субэндотелию, доля конформационно-активной протеазы ADAMTS-13 может быть значительно выше.

При изучении конформационной активации металлопротеазы ADAMTS-13 была установлена гибкость дистальных доменов TSP2–CUB2, которые способствовали структурной трансформации, необходимой для изменения формы белка во время процесса активации от компактной к более вытянутой [52].

Идиопатическая ТТП у взрослых обусловлена главным образом тяжелым дефицитом активности ADAMTS-13 вследствие воздействия на нее антител класса IgG. Ингибирующие антитела обнаруживаются у 44–100 % больных приобретенной ТТП с тяжелым дефицитом активности плазменной ADAMTS-13 [53]. При использовании высокочувствительных методов исследования, такой как иммуноферментный анализ [53], или проточной цитометрии [54] анти-ADAMTS-13 антитела класса IgG выявляются у всех больных ТТП, у которых имеется выраженный дефицит активности плазменной ADAMTS-13 [53]. Картирование и профилирование антител показало, что у больных ТТП в плазме преобладают анти-ADAMTS-13 подклассов IgG1 и IgG4 [55] и почти все анти-ADAMTS-13 класса IgG связываются с богатым цистеином и спейсерным доменами, особенно со спейсерным доменом [56–58]. Другие домены ADAMTS-13, включая пропептид, металлопротеазный, дезинтегриновый, первый повтор TSP1, более дистальные повторы TSP1 и домены CUB, менее реакционноспособны с аутоантителами [56, 58]. Дальнейший анализ позволил установить, что основные антигенные эпитопы локализованы в остатках Tyr572–Asn579 [59], Val657–Gly666 [57, 59] и Gly662–Val687 [60]. У 90 % больных ТТП отмечается потеря чувствительности к аутоантителам анти-ADAMTS-13 после замещения в структуре экзосайтного 3-спейсерного домена остатков Arg568, Phe592, Arg660, Tyr661 и Tyr665 [58]. Эти остатки играют критическую роль в распознавании субстрата и протеолизе фактора Виллебранда [57, 61]. Следовательно, можно предположить, что фиксация аутоантител анти-ADAMTS-13 в этом регионе блокирует

связывание металлопротеазы с фактором Виллебранда и нарушает ее протеолитическую функцию.

Механизм выработки аутоантител против металлопротеазы ADAMTS-13 неизвестен и требует дальнейшего изучения. Преобладание среди больных женщин [56] и изучение аутоантител анти-ADAMTS-13 у сестер-близнецов [62] позволяют предположить наличие генетической предрасположенности [5]. Выявлена повышенная частота встречаемости аллеля HLA-DRB1*11 у больных с приобретенной ТТП, что согласуется с данной гипотезой [63].

Маскировка скрытых (криптических) эпитопов в замкнутой конформации ADAMTS-13 может предотвратить образование аутоантител. Компактная структура плазменной ADAMTS-13 может объяснить низкую иммуногенность ADAMTS-13, вводимой со свежемороженой плазмой, для восполнения дефицита этой металлопротеазы больным врожденной формой ТТП. Конформационные изменения, приводящие к открытию криптических эпитопов, лежат в основе продукции антител. Повышенное содержание фактора Виллебранда в плазме во время беременности или инфекции, которые являются клиническими триггерами приобретенной ТТП, может привести к субстрат-индуцированной активации ADAMTS-13 с последующим иммуногенным эффектом. Было продемонстрировано, что CD4⁺-Т-клетки у больных приобретенной ТТП были реактогенны по отношению к пептидам домена CUB2 металлопротеазы ADAMTS-13 [64]. В другом исследовании [52] были идентифицированы многочисленные антитела, нацеленные на С-концевые домены металлопротеазы ADAMTS-13, которые повышают ее активность до уровня, указывающего на конформационную активацию. Высказано предположение [65], что раннее антигенное распознавание ADAMTS-13 происходит через поверхностные обнаженные эпитопы в С-концевых доменах. Потенциальный активирующий эффект этих антител может привести к дальнейшему контакту с эпитопами N-концевого домена и наработке ингибирующей популяции аутоантител. Подобный сценарий с выработкой анти-ADAMTS-13 IgG-аутоантител может реализовываться у здоровых людей, и появление низкоаффинных, неингибирующих антител, некоторые из которых были нацелены на С-концевые домены металлопротеазы ADAMTS-13, может предшествовать процессу гипермутации В-клеток памяти, необходимой для генерации высокоаффинных антител.

Сегодня изучению структуры и функциональной роли металлопротеазы ADAMTS-13 как одного из ключевых белков-регуляторов свертывающей системы крови уделяется значительное внимание различными исследовательскими группами, и следует ожидать в ближайшее время появления новой информации, расширяющей представления не только о данном белке, но и о системе гемостаза в целом.

Литература

1. Furlan M., Robles R., Lammle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by *in vivo* proteolysis. *Blood*. 1996; 87: 4223–34.
2. Tsai H.M. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood*. 1996; 87: 4235–44.
3. Levy G.G., Nichols W.C., Lian E.C. et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature*. 2001; 413: 488–94. DOI: 10.1038/35097008
4. Zheng X.L., Chung D., Takayama T, Majerus E. et al. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 41059–63. DOI: 10.1074/jbc.C100515200
5. Zheng X.L. Structure-function and regulation of ADAMTS-13 protease. *J. Thromb Haemost.* 2013; 11(Suppl. 1): 11–23. DOI: 10.1111/jth.12221
6. Чернова Е.В. Фактор Виллебранда. Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2018; 10(4): 73–80. DOI: 10.17816/mechnikov201810473-80
7. Marti T., Rosselet S.J., Titani K., Walsh K.A. Identification of disulfide-bridged substructures within human von Willebrand factor. *Biochemistry*. 1987; 26: 8099–109. DOI: 10.1021/bi00399a013
8. Wise R.J., Pittman D.D., Handin R.I. et al. The propeptide of von Willebrand factor independently mediates the assembly of von Willebrand multimers. *Cell*. 1988; 52: 229–36.
9. Wagner D.D., Saffaripour S., Bonfanti R. et al. Induction of specific storage organelles by von Willebrand factor propolypeptide. *Cell*. 1991; 64: 403–13.
10. Moake J.L., Rudy C.K., Troll J.H. et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N. Engl. J. Med.* 1982; 307: 1432–5.
11. Plaimauer B., Zimmermann K., Volkel D. et al. Cloning, expression, and functional characterization of the von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13). *Blood*. 2002; 100: 3626–32. DOI: 10.1182/blood-2002-05-1397
12. Uemura M., Tatsumi K., Matsumoto M. et al. Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood*. 2005; 106: 922–4. DOI: 10.1182/blood-2005-01-0152
13. Niiya M., Uemura M., Zheng X.W. et al. Increased ADAMTS13 proteolytic activity in rat hepatic stellate cells upon activation *in vitro* and *in vivo*. *J. Thromb Haemost.* 2006; 4:1063–70. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.01893.x
14. Okano E., Ko S., Kanehiro H, Matsumoto M. et al. ADAMTS13 activity decreases after hepatectomy, reflecting a postoperative liver dysfunction. *Hepato-gastroenterology*. 2010; 57: 316–20.
15. Kume Y., Ikeda H., Inoue M. et al. Hepatic stellate cell damage may lead to decreased plasma ADAMTS13 activity in rats. *FEBS Lett.* 2007; 58: 1631–4. DOI: 10.1016/j.febslet.2007.03.029
16. Watanabe N., Ikeda H., Kume Y. et al. Increased production of ADAMTS13 in hepatic stellate cells contributes to enhanced plasma ADAMTS13 activity in rat models of cholestasis and steatohepatitis. *Thromb Haemost.* 2009; 102: 389–96. DOI: 10.1160/TH08-11-0732
17. Turner N., Nolasco L., Tao Z. Human endothelial cells synthesize and release ADAMTS-13. *J Thromb Haemost.* 2006; 4: 1396–404. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.01959.x
18. Turner N.A., Nolasco L., Ruggeri Z.M., Moake J.L. Endothelial cell ADAMTS-13 and VWF: production, release, and VWF string cleavage. *Blood*. 2009; 114: 5102–11. DOI: 10.1182/blood-2009-07-231597

References

1. Furlan M., Robles R., Lammle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by *in vivo* proteolysis. *Blood*. 1996; 87: 4223–34.
2. Tsai H.M. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood*. 1996; 87: 4235–44.
3. Levy G.G., Nichols W.C., Lian E.C. et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature*. 2001; 413: 488–94. DOI: 10.1038/35097008
4. Zheng X.L., Chung D., Takayama T, Majerus E. et al. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 41059–63. DOI: 10.1074/jbc.C100515200
5. Zheng X.L. Structure-function and regulation of ADAMTS-13 protease. *J. Thromb Haemost.* 2013; 11(Suppl. 1): 11–23. DOI: 10.1111/jth.12221
6. Chernova E.V. Von Willebrand factor. Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov. 2018; 10(4): 73–80. DOI: 10.17816/mechnikov201810473-80 (in Russian).
7. Marti T., Rosselet S.J., Titani K., Walsh K.A. Identification of disulfide-bridged substructures within human von Willebrand factor. *Biochemistry*. 1987; 26: 8099–109. DOI: 10.1021/bi00399a013
8. Wise R.J., Pittman D.D., Handin R.I. et al. The propeptide of von Willebrand factor independently mediates the assembly of von Willebrand multimers. *Cell*. 1988; 52: 229–36.
9. Wagner D.D., Saffaripour S., Bonfanti R. et al. Induction of specific storage organelles by von Willebrand factor propolypeptide. *Cell*. 1991; 64: 403–13.
10. Moake J.L., Rudy C.K., Troll J.H. et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N. Engl. J. Med.* 1982; 307: 1432–5.
11. Plaimauer B., Zimmermann K., Volkel D. et al. Cloning, expression, and functional characterization of the von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13). *Blood*. 2002; 100: 3626–32. DOI: 10.1182/blood-2002-05-1397
12. Uemura M., Tatsumi K., Matsumoto M. et al. Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood*. 2005; 106: 922–4. DOI: 10.1182/blood-2005-01-0152
13. Niiya M., Uemura M., Zheng X.W. et al. Increased ADAMTS13 proteolytic activity in rat hepatic stellate cells upon activation *in vitro* and *in vivo*. *J. Thromb Haemost.* 2006; 4:1063–70. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.01893.x
14. Okano E., Ko S., Kanehiro H, Matsumoto M. et al. ADAMTS13 activity decreases after hepatectomy, reflecting a postoperative liver dysfunction. *Hepato-gastroenterology*. 2010; 57: 316–20.
15. Kume Y., Ikeda H., Inoue M. et al. Hepatic stellate cell damage may lead to decreased plasma ADAMTS13 activity in rats. *FEBS Lett.* 2007; 58: 1631–4. DOI: 10.1016/j.febslet.2007.03.029
16. Watanabe N., Ikeda H., Kume Y. et al. Increased production of ADAMTS13 in hepatic stellate cells contributes to enhanced plasma ADAMTS13 activity in rat models of cholestasis and steatohepatitis. *Thromb Haemost.* 2009; 102: 389–96. DOI: 10.1160/TH08-11-0732
17. Turner N., Nolasco L., Tao Z. Human endothelial cells synthesize and release ADAMTS-13. *J Thromb Haemost.* 2006; 4: 1396–404. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.01959.x
18. Turner N.A., Nolasco L., Ruggeri Z.M., Moake J.L. Endothelial cell ADAMTS-13 and VWF: production, release, and VWF string cleavage. *Blood*. 2009; 114: 5102–11. DOI: 10.1182/blood-2009-07-231597

19. Lee M., Rodansky E.S., Smith J.K., Rodgers G.M. ADAMTS13 promotes angiogenesis and modulates VEGF-induced angiogenesis. *Microvasc Res.* 2012; 84: 109–15. DOI: 10.1016/j.mvr.2012.05.004
20. Liu L., Choi H., Bernardo A. et al. Platelet-derived VWF-cleaving metalloprotease ADAMTS-13. *J. Thromb Haemost.* 2005; 3: 2536–44. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01561.x
21. Suzuki M., Murata M., Matsubara Y. et al. Detection of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) in human platelets. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004; 313: 212–16. DOI: 10.1016/j.bbrc.2003.11.111
22. Gardner M.D., Chion C.K., de Groot R. et al. A functional calcium-binding site in the metalloprotease domain of ADAMTS13. *Blood.* 2009; 113: 1149–57. DOI: 10.1182/blood-2008-03-144683
23. South K., Lane D.A. ADAMTS-13 and von Willebrand factor: a dynamic duo. *J. Thromb Haemost.* 2018; 16: 6–18. DOI: 10.1111/jth.13898
24. Ai J., Smith P., Wang S. et al. The proximal carboxyl-terminal domains of ADAMTS13 determine substrate specificity and are all required for cleavage of von Willebrand factor. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 29428–34. DOI: 10.1074/jbc.M505513200
25. Gao W., Anderson P.J., Sadler J.E. Extensive contacts between ADAMTS13 exosites and von Willebrand factor domain A2 contribute to substrate specificity. *Blood.* 2008; 112: 1713–9. DOI: 10.1182/blood-2008-04-148759
26. de Groot R., Bardhan A., Ramroop N. et al. Essential role of the disintegrin-like domain in ADAMTS13 function. *Blood.* 2009; 113: 5609–16. DOI: 10.1182/blood-2008-11-187914
27. Gao W., Anderson P.J., Majerus E.M. et al. Exosite interactions contribute to tension-induced cleavage of von Willebrand factor by the antithrombotic ADAMTS13 metalloprotease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103: 19099–104. DOI: 10.1073/pnas.0607264104
28. Zanardelli S., Chion A.C., Groot E. et al. A novel binding site for ADAMTS13 constitutively exposed on the surface of globular VWF. *Blood.* 2009; 114: 2819–28. DOI: 10.1182/blood-2009-05-224915
29. Asch A.S., Tepler J., Silbiger S., Nachman R.L. Cellular attachment to thrombospondin. Cooperative interactions between receptor systems. *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 1740–5.
30. Vomund A.N., Majerus E.M. ADAMTS13 bound to endothelial cells exhibits enhanced cleavage of von Willebrand factor. *J. Biol. Chem.* 2009; 284: 30925–32. DOI: 10.1074/jbc.M109.000927
31. Yeh H.C., Zhou Z., Choi H. et al. Disulfide bond reduction of von Willebrand factor by ADAMTS-13. *J. Thromb Haemost.* 2010; 8: 2778–88. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.04094.x
32. Tao Z., Wang Y., Choi H. et al. Cleavage of ultralarge multimers of von Willebrand factor by C-terminal-truncated mutants of ADAMTS-13 under flow. *Blood.* 2005; 106: 141–3. DOI: 10.1182/blood-2004-11-4188
33. Tang B.L. ADAMTS: a novel family of extracellular matrix proteases. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2001; 33: 33–44.
34. Tao Z., Peng Y., Nolasco L. et al. Recombinant CUB-1 domain polypeptide inhibits the cleavage of ULVWF strings by ADAMTS13 under flow conditions. *Blood.* 2005; 106: 4139–45. DOI: 10.1182/blood-2005-05-2029
35. de Maeyer B., de Meyer S.F., Feys H.B. et al. The distal carboxyterminal domains of murine ADAMTS13 influence proteolysis of platelet-decorated VWF strings *in vivo*. *J. Thromb Haemost.* 2010; 8: 2305–12. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.04008.x
36. Xiao J., Jin S.Y., Xue J. et al. Essential domains of a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 repeats-13 metalloprotease required for modulation of arterial thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc. Biol.* 2011; 31: 2261–9. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.229609
19. Lee M., Rodansky E.S., Smith J.K., Rodgers G.M. ADAMTS13 promotes angiogenesis and modulates VEGF-induced angiogenesis. *Microvasc Res.* 2012; 84: 109–15. DOI: 10.1016/j.mvr.2012.05.004
20. Liu L., Choi H., Bernardo A. et al. Platelet-derived VWF-cleaving metalloprotease ADAMTS-13. *J. Thromb Haemost.* 2005; 3: 2536–44. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01561.x
21. Suzuki M., Murata M., Matsubara Y. et al. Detection of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) in human platelets. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004; 313: 212–16. DOI: 10.1016/j.bbrc.2003.11.111
22. Gardner M.D., Chion C.K., de Groot R. et al. A functional calcium-binding site in the metalloprotease domain of ADAMTS13. *Blood.* 2009; 113: 1149–57. DOI: 10.1182/blood-2008-03-144683
23. South K., Lane D.A. ADAMTS-13 and von Willebrand factor: a dynamic duo. *J. Thromb Haemost.* 2018; 16: 6–18. DOI: 10.1111/jth.13898
24. Ai J., Smith P., Wang S. et al. The proximal carboxyl-terminal domains of ADAMTS13 determine substrate specificity and are all required for cleavage of von Willebrand factor. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 29428–34. DOI: 10.1074/jbc.M505513200
25. Gao W., Anderson P.J., Sadler J.E. Extensive contacts between ADAMTS13 exosites and von Willebrand factor domain A2 contribute to substrate specificity. *Blood.* 2008; 112: 1713–9. DOI: 10.1182/blood-2008-04-148759
26. de Groot R., Bardhan A., Ramroop N. et al. Essential role of the disintegrin-like domain in ADAMTS13 function. *Blood.* 2009; 113: 5609–16. DOI: 10.1182/blood-2008-11-187914
27. Gao W., Anderson P.J., Majerus E.M. et al. Exosite interactions contribute to tension-induced cleavage of von Willebrand factor by the antithrombotic ADAMTS13 metalloprotease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103: 19099–104. DOI: 10.1073/pnas.0607264104
28. Zanardelli S., Chion A.C., Groot E. et al. A novel binding site for ADAMTS13 constitutively exposed on the surface of globular VWF. *Blood.* 2009; 114: 2819–28. DOI: 10.1182/blood-2009-05-224915
29. Asch A.S., Tepler J., Silbiger S., Nachman R.L. Cellular attachment to thrombospondin. Cooperative interactions between receptor systems. *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 1740–5.
30. Vomund A.N., Majerus E.M. ADAMTS13 bound to endothelial cells exhibits enhanced cleavage of von Willebrand factor. *J. Biol. Chem.* 2009; 284: 30925–32. DOI: 10.1074/jbc.M109.000927
31. Yeh H.C., Zhou Z., Choi H. et al. Disulfide bond reduction of von Willebrand factor by ADAMTS-13. *J. Thromb Haemost.* 2010; 8: 2778–88. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.04094.x
32. Tao Z., Wang Y., Choi H. et al. Cleavage of ultralarge multimers of von Willebrand factor by C-terminal-truncated mutants of ADAMTS-13 under flow. *Blood.* 2005; 106: 141–3. DOI: 10.1182/blood-2004-11-4188
33. Tang B.L. ADAMTS: a novel family of extracellular matrix proteases. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2001; 33: 33–44.
34. Tao Z., Peng Y., Nolasco L. et al. Recombinant CUB-1 domain polypeptide inhibits the cleavage of ULVWF strings by ADAMTS13 under flow conditions. *Blood.* 2005; 106: 4139–45. DOI: 10.1182/blood-2005-05-2029
35. de Maeyer B., de Meyer S.F., Feys H.B. et al. The distal carboxyterminal domains of murine ADAMTS13 influence proteolysis of platelet-decorated VWF strings *in vivo*. *J. Thromb Haemost.* 2010; 8: 2305–12. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.04008.x
36. Xiao J., Jin S.Y., Xue J. et al. Essential domains of a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 repeats-13 metalloprotease required for modulation of arterial thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc. Biol.* 2011; 31: 2261–9. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.229609

37. Zhou W., Inada M., Lee T.P. et al. ADAMTS13 is expressed in hepatic stellate cells. *Lab Invest.* 2005; 85: 780–8. DOI: 10.1038/labinvest.3700275
38. Dong J.F. Cleavage of ultra-large von Willebrand factor by ADAMTS-13 under flow conditions. *J. Thromb Haemost.* 2005; 3: 1710–6. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01360.x
39. Zhang P., Pan W., Rux A.H. et al. The cooperative activity between the carboxyl-terminal TSP-1 repeats and the CUB domains of ADAMTS13 is crucial for recognition of von Willebrand factor under flow. *Blood.* 2007; 110: 1887–94. DOI: 10.1182/blood-2007-04-083329
40. Pareti F.I., Lattuada A., Bressi C. et al. Proteolysis of von Willebrand factor and shear stress-induced platelet aggregation in patients with aortic valve stenosis. *Circulation.* 2000; 102: 1290–5.
41. Blackshear J.L., Wysokinska E.M., Safford R.E. et al. Indexes of von Willebrand Factor as Biomarkers of Aortic Stenosis Severity (from the Biomarkers of Aortic Stenosis Severity [BASS] Study). *Am. J. Cardiol.* 2013; 111: 374–81. DOI: 10.1016/j.amjcard.2012.10.015
42. Yoshida K., Tobe S., Kawata M. Acquired von Willebrand disease type IIA in patients with aortic valve stenosis. *Ann. Thorac. Surg.* 2006; 81: 1114–6. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2005.01.023
43. Skipwith C.G., Cao W., Zheng X.L. Factor VIII and platelets synergistically accelerate cleavage of von Willebrand factor by ADAMTS13 under fluid shear stress. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 28596–603. DOI: 10.1074/jbc.M110.131227
44. Li M., Ku D.N., Forest C.R. Microfluidic system for simultaneous optical measurement of platelet aggregation at multiple shear rates in whole blood. *Lab. Chip.* 2012; 12: 1355–62. DOI: 10.1039/c2lc21145a
45. Wu T., Lin J., Cruz M.A. et al. Force-induced cleavage of single VW-FA1A2A3 tridomains by ADAMTS-13. *Blood.* 2010; 115: 370–8. DOI: 10.1182/blood-2009-03-210369
46. Zhang Q., Zhou Y.F., Zhang C.Z. et al. Structural specializations of A2, a force-sensing domain in the ultralarge vascular protein von Willebrand factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009; 106: 9226–31. DOI: 10.1073/pnas.0903679106
47. Nishio K., Anderson P.J., Zheng X.L., Sadler J.E. Binding of platelet glycoprotein Ibalph to von Willebrand factor domain A1 stimulates the cleavage of the adjacent domain A2 by ADAMTS13. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004; 101: 10578–83. DOI: 10.1073/pnas.0402041101
48. Muia J., Zhu J., Gupta G. et al. Allosteric activation of ADAMTS13 by von Willebrand factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014; 111: 18584–9. DOI: 10.1073/pnas.1413282112
49. Jian C., Xiao J., Gong L. et al. Gain-of-function ADAMTS13 variants that are resistant to autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2012; 119: 3836–43. DOI: 10.1182/blood-2011-12-399501
50. South K., Luken B.M., Crawley J.T. et al. Conformational activation of ADAMTS13. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014; 111: 18578–83. DOI: 10.1073/pnas.1411979112
51. Feys H.B., Anderson P.J., Vanhoorelbeke K. et al. Multi-step binding of ADAMTS-13 to von Willebrand factor. *J Thromb Haemost.* 2009; 7: 2088–95. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03620.x
52. Deforche L., Roose E., Vandenbulcke A. et al. Linker regions and flexibility around the metalloprotease domain account for conformational activation of ADAMTS-13. *J. Thromb Haemost.* 2015; 13: 2063–75. DOI: 10.1111/jth.1314
53. Tsai H.M., Raoufi M., Zhou W. et al. ADAMTS13-binding IgG are present in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Thromb Haemost.* 2006; 95: 886–92.
54. Li D., Xiao J., Paessler M., Zheng X.L. Novel recombinant glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored ADAMTS13 and variants for assessment of anti-AD-
37. Zhou W., Inada M., Lee T.P. et al. ADAMTS13 is expressed in hepatic stellate cells. *Lab Invest.* 2005; 85: 780–8. DOI: 10.1038/labinvest.3700275
38. Dong J.F. Cleavage of ultra-large von Willebrand factor by ADAMTS-13 under flow conditions. *J. Thromb Haemost.* 2005; 3: 1710–6. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01360.x
39. Zhang P., Pan W., Rux A.H. et al. The cooperative activity between the carboxyl-terminal TSP-1 repeats and the CUB domains of ADAMTS13 is crucial for recognition of von Willebrand factor under flow. *Blood.* 2007; 110: 1887–94. DOI: 10.1182/blood-2007-04-083329
40. Pareti F.I., Lattuada A., Bressi C. et al. Proteolysis of von Willebrand factor and shear stress-induced platelet aggregation in patients with aortic valve stenosis. *Circulation.* 2000; 102: 1290–5.
41. Blackshear J.L., Wysokinska E.M., Safford R.E. et al. Indexes of von Willebrand Factor as Biomarkers of Aortic Stenosis Severity (from the Biomarkers of Aortic Stenosis Severity [BASS] Study). *Am. J. Cardiol.* 2013; 111: 374–81. DOI: 10.1016/j.amjcard.2012.10.015
42. Yoshida K., Tobe S., Kawata M. Acquired von Willebrand disease type IIA in patients with aortic valve stenosis. *Ann. Thorac. Surg.* 2006; 81: 1114–6. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2005.01.023
43. Skipwith C.G., Cao W., Zheng X.L. Factor VIII and platelets synergistically accelerate cleavage of von Willebrand factor by ADAMTS13 under fluid shear stress. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 28596–603. DOI: 10.1074/jbc.M110.131227
44. Li M., Ku D.N., Forest C.R. Microfluidic system for simultaneous optical measurement of platelet aggregation at multiple shear rates in whole blood. *Lab. Chip.* 2012; 12: 1355–62. DOI: 10.1039/c2lc21145a
45. Wu T., Lin J., Cruz M.A. et al. Force-induced cleavage of single VW-FA1A2A3 tridomains by ADAMTS-13. *Blood.* 2010; 115: 370–8. DOI: 10.1182/blood-2009-03-210369
46. Zhang Q., Zhou Y.F., Zhang C.Z. et al. Structural specializations of A2, a force-sensing domain in the ultralarge vascular protein von Willebrand factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009; 106: 9226–31. DOI: 10.1073/pnas.0903679106
47. Nishio K., Anderson P.J., Zheng X.L., Sadler J.E. Binding of platelet glycoprotein Ibalph to von Willebrand factor domain A1 stimulates the cleavage of the adjacent domain A2 by ADAMTS13. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004; 101: 10578–83. DOI: 10.1073/pnas.0402041101
48. Muia J., Zhu J., Gupta G. et al. Allosteric activation of ADAMTS13 by von Willebrand factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014; 111: 18584–9. DOI: 10.1073/pnas.1413282112
49. Jian C., Xiao J., Gong L. et al. Gain-of-function ADAMTS13 variants that are resistant to autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2012; 119: 3836–43. DOI: 10.1182/blood-2011-12-399501
50. South K., Luken B.M., Crawley J.T. et al. Conformational activation of ADAMTS13. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014; 111: 18578–83. DOI: 10.1073/pnas.1411979112
51. Feys H.B., Anderson P.J., Vanhoorelbeke K. et al. Multi-step binding of ADAMTS-13 to von Willebrand factor. *J Thromb Haemost.* 2009; 7: 2088–95. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03620.x
52. Deforche L., Roose E., Vandenbulcke A. et al. Linker regions and flexibility around the metalloprotease domain account for conformational activation of ADAMTS-13. *J. Thromb Haemost.* 2015; 13: 2063–75. DOI: 10.1111/jth.1314
53. Tsai H.M., Raoufi M., Zhou W. et al. ADAMTS13-binding IgG are present in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Thromb Haemost.* 2006; 95: 886–92.
54. Li D., Xiao J., Paessler M., Zheng X.L. Novel recombinant glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored ADAMTS13 and variants for assessment of anti-AD-

AMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Thromb Haemost.* 2011; 106: 947–58. DOI: 10.1160/TH11-05-0337

55. Ferrari S., Mudde G.C., Rieger M. et al. IgG subclass distribution of anti-ADAMTS13 antibodies in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Thromb Haemost.* 2009; 7: 1703–10. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03568.x

56. Zheng X.L., Wu H.M., Shang D. et al. Multiple domains of ADAMTS13 are targeted by autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica.* 2010; 95: 1555–62. DOI: 10.3324/haematol.2009.019299

57. Pos W., Crawley J.T., Fijnheer R. et al. An autoantibody epitope comprising residues R660, Y661, and Y665 in the ADAMTS13 spacer domain identifies a binding site for the A2 domain of VWF. *Blood.* 2010; 115: 1640–9. DOI: 10.1182/blood-2009-06-229203

58. Pos W., Sorvillo N., Fijnheer R. et al. Residues Arg568 and Phe592 contribute to an antigenic surface for anti-ADAMTS13 antibodies in the spacer domain. *Haematologica.* 2011; 96: 1670–7. DOI: 10.3324/haematol.2010.036327

59. Luken B.M., Turenhout E.A., Kaijen P.H. et al. Amino acid regions 572–579 and 657–666 of the spacer domain of ADAMTS13 provide a common antigenic core required for binding of antibodies in patients with acquired TTP. *J. Thromb Haemost.* 2006; 96: 295–301. DOI: 10.1160/TH06-03-0135

60. Yamaguchi Y., Moriki T., Igari A. et al. Epitope analysis of autoantibodies to ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res.* 2011; 128: 169–73. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.03.010

61. Jin S.Y., Skipwith C.G., Zheng X.L. Amino acid residues Arg (659), Arg(660), and Tyr(661) in the spacer domain of ADAMTS13 are critical for cleavage of von Willebrand factor. *Blood.* 2010; 115: 2300–10. DOI: 10.1182/blood-2009-07-235101

62. Studt J.D., Kremer Hovinga J.A. et al. Familial acquired thrombotic thrombocytopenic purpura: ADAMTS-13 inhibitory autoantibodies in identical twins. *Blood.* 2004; 103: 4195–7. DOI: 10.1182/blood-2003-11-3888

63. Scully M., Brown J., Patel R. et al. Human leukocyte antigen association in idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: evidence for an immunogenetic link. *J. Thromb Haemost.* 2010; 8: 257–62. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03692.x

64. Verbiij F.C., Turksma A.W., de Heij F. et al. CD4+ T cells from patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura recognize CUB2 domain-derived peptides. *Blood.* 2016; 127: 1606–9. DOI: 10.1182/blood-2015-10-668053

65. Grillberger R., Casina V.C., Turecek P.L. et al. Anti-ADAMTS13 IgG autoantibodies present in healthy individuals share linear epitopes with those in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica.* 2014; 99: e58–60. DOI: 10.3324/haematol.2013.100685

Информация об авторах

Колосков Андрей Викторович*, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: Andrei.Koloskov@szgmu.ru, тел.: +7 (812) 948-09-17; 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5249-4255>

AMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Thromb Haemost.* 2011; 106: 947–58. DOI: 10.1160/TH11-05-0337

55. Ferrari S., Mudde G.C., Rieger M. et al. IgG subclass distribution of anti-ADAMTS13 antibodies in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Thromb Haemost.* 2009; 7: 1703–10. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03568.x

56. Zheng X.L., Wu H.M., Shang D. et al. Multiple domains of ADAMTS13 are targeted by autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica.* 2010; 95: 1555–62. DOI: 10.3324/haematol.2009.019299

57. Pos W., Crawley J.T., Fijnheer R. et al. An autoantibody epitope comprising residues R660, Y661, and Y665 in the ADAMTS13 spacer domain identifies a binding site for the A2 domain of VWF. *Blood.* 2010; 115: 1640–9. DOI: 10.1182/blood-2009-06-229203

58. Pos W., Sorvillo N., Fijnheer R. et al. Residues Arg568 and Phe592 contribute to an antigenic surface for anti-ADAMTS13 antibodies in the spacer domain. *Haematologica.* 2011; 96: 1670–7. DOI: 10.3324/haematol.2010.036327

59. Luken B.M., Turenhout E.A., Kaijen P.H. et al. Amino acid regions 572–579 and 657–666 of the spacer domain of ADAMTS13 provide a common antigenic core required for binding of antibodies in patients with acquired TTP. *J. Thromb Haemost.* 2006; 96: 295–301. DOI: 10.1160/TH06-03-0135

60. Yamaguchi Y., Moriki T., Igari A. et al. Epitope analysis of autoantibodies to ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res.* 2011; 128: 169–73. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.03.010

61. Jin S.Y., Skipwith C.G., Zheng X.L. Amino acid residues Arg (659), Arg(660), and Tyr(661) in the spacer domain of ADAMTS13 are critical for cleavage of von Willebrand factor. *Blood.* 2010; 115: 2300–10. DOI: 10.1182/blood-2009-07-235101

62. Studt J.D., Kremer Hovinga J.A. et al. Familial acquired thrombotic thrombocytopenic purpura: ADAMTS-13 inhibitory autoantibodies in identical twins. *Blood.* 2004; 103: 4195–7. DOI: 10.1182/blood-2003-11-3888

63. Scully M., Brown J., Patel R. et al. Human leukocyte antigen association in idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: evidence for an immunogenetic link. *J. Thromb Haemost.* 2010; 8: 257–62. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03692.x

64. Verbiij F.C., Turksma A.W., de Heij F. et al. CD4+ T cells from patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura recognize CUB2 domain-derived peptides. *Blood.* 2016; 127: 1606–9. DOI: 10.1182/blood-2015-10-668053

65. Grillberger R., Casina V.C., Turecek P.L. et al. Anti-ADAMTS13 IgG autoantibodies present in healthy individuals share linear epitopes with those in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica.* 2014; 99: e58–60. DOI: 10.3324/haematol.2013.100685

Information about the authors

Andrey V. Koloskov*, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department for Hematology and Transfusiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, e-mail: Andrei.Koloskov@szgmu.ru, tel.: +7 (812) 948-09-17; 191015, St. Petersburg, Kirochnaya str., 41. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5249-4255>

Мангушло Александр Александрович, аспирант кафедры гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: sutura@mail.ru, тел.: +7 (812) 948-09-17;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3163-5194>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 24.07.2019

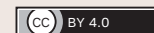
Принята к печати: 12.09.2019

Alexander A. Mangushlo, Postgraduate Researcher, Department for Hematology and Transfusiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,
e-mail: sutura@mail.ru, tel.: +7 (812) 948-09-17;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3163-5194>

*** Corresponding author**

Received 24 Jul 2019

Accepted 12 Sep 2019

<https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-483-488>

СЛУЧАЙ АТИПИЧНОГО ВАРФАРИН-ИНДУЦИРОВАННОГО НЕКРОЗА КОЖИ У РЕБЕНКА С ВРОЖДЕННЫМ ПОРОКОМ СЕРДЦА

Ластовка В. А.¹, Тепаев Р. Ф.^{1,2}, Гордеева О. Б.^{1,*}, Гандаева Л. А., Басаргина Е. Н.¹, Деревнина Ю. В.¹, Пеньков Е. Л.^{1,2}

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119296, Москва, Россия

² ФGAOY BO «Первый Московский государственный университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Варфарин-индуцированный некроз кожи является редким осложнением лечения варфарином.

Цель — представить клиническое наблюдение возникновения и успешного лечения атипичного варфарин-индуцированного некроза кожи у ребенка с врожденным пороком сердца.

Основные сведения. Представлено наблюдение развития некрозов кожи пальцев рук у ребенка с врожденным пороком сердца спустя почти два года после начала терапии варфарином. Обсуждаются возможные причины осложнения и методы его лечения.

Ключевые слова: варфарин, некроз кожи, порок сердца

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Ластовка В.А., Тепаев Р.Ф., Гордеева О.Б., Гандаева Л.А., Басаргина Е.Н., Деревнина Ю.В., Пеньков Е.Л. Случай атипичного варфарин-индуцированного некроза кожи у ребенка с врожденным пороком сердца. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 483–488. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-483-488>

CASE OF ATYPICAL WARFARIN-INDUCED SKIN NECROSIS IN A CHILD WITH CONGENITAL HEART DISEASE

Lastovka V.A.¹, Tepaev R.F.^{1,2}, Gordeeva O.B.^{1,*}, Gandaeva L.A., Basargina E.N.¹, Derevnina Yu. V.¹, Penkov Ye. L.^{1,2}

¹National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119296, Russia

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991, Russia

ABSTRACT

Introduction. Warfarin-induced skin necrosis constitutes a rare complication of warfarin treatment.

Aim. To present a case study of the occurrence and successful treatment of atypical warfarin-induced skin necrosis in a child with congenital heart disease.

General findings. The development of finger skin necrosis in a child with congenital heart disease almost 2 years after the start of warfarin therapy was described. In addition, possible causes of the complication and methods for its treatment were discussed.

Keywords: warfarin, skin necrosis, heart disease

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Lastovka V.A., Tepaev R.F., Gordeeva O. B., Gandaeva L.A., Basargina E.N., Derevnina Yu.V., Penkov Ye.L. Case of atypical warfarin-induced skin necrosis in a child with congenital heart disease. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(4): 483–488 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-483-488>

Введение

Варфарин-индуцированный некроз кожи является редким серьезным осложнением лечения варфарином, обычно возникающим между 3-м и 6-м днями лечения. Впервые варфарин-индуцированный некроз кожи был описан Н. Verhagen [1] в 1952 г. По данным литературы [2, 3], варфарин-индуцированные некрозы кожи встречаются у 0,01–0,1 % больных, принимающих варфарин. Точный патогенетический механизм этого осложнения неизвестен, однако считают, что в его основе лежит транзиторная гиперкоагуляция. Варфарин ингибирует витамин К-зависимые факторы свертывания крови и антикоагулянты, вызывая кратковременный дисбаланс между прокоагулянтной и антикоагулянтной активностью [4]. Быстрее всего (в течение 24 часов) уменьшается антикоагулянтная активность протеина С из-за его короткого периода полужизни (5–8 часов). Содержание других витамин К-зависимых факторов свертывания крови (II, VII, IX и X) снижается медленнее, потому что они имеют более длитель-

ный период полужизни (24–72 часа). Следовательно, первоначальный результат терапии варфарином проявляется относительным увеличением количества тромбина и преходящей гиперкоагуляцией, которая может привести к тромботической окклюзии микроциркуляторного русла и некрозу кожи [5].

Цель работы — представить клиническое наблюдение возникновения и успешного лечения атипичного варфарин-индуцированного некроза кожи у ребенка с врожденным пороком сердца.

Клиническое наблюдение

Мальчик в возрасте 5 лет 9 месяцев поступил в стационар 10.01.2019 с диагнозом: «Врожденный порок сердца: единственный, анатомически левый, двуприоточный, одноотточный желудочек сердца. Атрезия легочной артерии, 1 тип. Стеноз легочной артерии. Состояние после наложения подключично-легочного анастомоза по Blalock слева, перевязки открытого

артериального протока от 30.04.2013; эмболизации больших аорто-легочных коллатералей справа и слева от 23.01.2014; перевязки ранее наложенного анастомоза, наложения правостороннего двунаправленного кавапульмонального анастомоза от 27.01.2014; транслюминальной баллонной ангиопластики легочной артерии слева от 15.06.2015; операции Фонтена в модификации экстракардиального кондуита от 24.03.2017; эмболизации больших аорто-легочных коллатералей от 23.01.2019, хроническая сердечная недостаточность 2А ст., функциональный класс II по Ross. Кардиальный фиброз печени».

Из анамнеза стало известно, что больной с 31.03.2017 получал варфарин в дозе 5 мг/сут. 03.01.2019 отметил внезапное появление отечности и посинения пальцев левой руки (рис. 1), в связи с чем был госпитализирован в стационар по месту жительства, где проводилось симптоматическое лечение. Однако состояние больного продолжало ухудшаться, появилось выраженное нарушение микроциркуляции пальцев левой руки, в связи с чем был переведен в стационар г. Москвы, где состояние расценено как синдром Рейно. Больному была назначена терапия фуросемидом внутривенно в дозе 2 мг/кг в сутки, инфузии 20 % раствора альбумина, постоянная инфузия гепарина со скоростью 10 ед/кг в час. Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) при этом варьировало от 70 до 80 с. В результате лечения отмечен положительный эффект — улучшение микроциркуляции 1, 2 и 5-го пальцев левой руки. При этом больной продолжал получать варфарин, значения международного нормализованного отношения (МНО) составляли 3,5–4,0.

10.01.2019 по настоянию матери ребенок был госпитализирован в кардиологическое отделение другого стационара г. Москвы. При поступлении обращало



Рисунок 1. Состояние пальцев в дебюте заболевания

Figure 1. Fingers at the onset of the disease

на себя внимание выраженное нарушение микроциркуляции 2, 3 и 4-го пальцев левой руки с формированием некроза кожи (рис. 2). В общем анализе крови концентрация гемоглобина составила 125 г/л, лейкоцитов — $7,7 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов — $399 \times 10^9/\text{л}$. При исследовании гемостаза выявлена гипокоагуляция (МНО 4,1, АЧТВ 52 с.), уменьшение плазменной активности протеина С до 27 %, нормальные значения активности антитромбина III (табл. 1).

Была исключена гепарин-индуцированная тромбоцитопения (тест Stick-Expert “Diagnostica Stago”).

Таблица 1. Показатели гемостаза у больного при поступлении 10.01.2019

Table 1. Hemostatic parameters in patient at admission at 10.01.2019

Параметры Parameters	Результаты Results	Референсные значения Reference ranges
МНО INR	4,1	0,92–1,14
Тромбиновое время, с Thrombin time, s	13,7	14–21
АЧТВ, с APTT, s	52	28,6–35,8
Концентрация фибриногена, г/л Fibrinogen concentration, g/L	2,75	1,62–4,01
Активность антитромбина III, % Antithrombin activity, %	84	101–131
Активность протеина С, % Protein C activity, %	27	50–134
Концентрация Д-димера, мкг/л D-dimer concentration, mcg/L	0,27	0,09–0,53
Активность фактора Виллебранда, % Willebrand factor activity, %	191	50–160



Рисунок 2. Состояние при поступлении в стационар
Figure 2. Condition upon admission to the hospital



Рисунок 3. Через три месяца после выписки
Figure 3. Three months after discharge

Выполнена фиброэластографии печени, при которой в правой доле печени плотность составила 24,0 кПа, т.е. была выражено повышена, а колебания показателей плотности в отдельных измерениях были от 17,6 до 26,0 кПа. Полученные результаты соответствовали фиброзу печени стадии F4 по шкале METAVIR [6].

Был заподозрен варфарин-индуцированный некроз кожи, в связи с чем варфарин был отменен, назначен надропарин кальция в дозе 150 МЕ/кг в сутки подкожно в 2 приема. В коагулограмме активность анти-Ха составила 0,79 МЕ/мл.

В результате лечения к 23.01.2019 исчезли нарушения микроциркуляции второго и третьего пальцев кисти, на четвертом пальце сформировалась демаркационная линия, появился струп, при отделении которого обнажился слой тонкой чистой кожи. Плазменная ак-

тивность протеина С достигла нормальных значений (150 %) на 5-е сутки лечения, активность антитромбина III повысилась до 123 %.

Учитывая, что, по данным литературы [7], дефицит протеина С может возникнуть в результате генетических мутаций, были проведены молекулярно-генетические исследования. Методом прямого автоматического секвенирования были исследованы экзоны 02–07 гена PROC, а также прилегающие интронные области, мутаций не выявлено. В исследованных хромосомных областях делеций и дупликаций, которые могли бы привести к развитию наиболее распространенных микроделеционных синдромов, не выявлено. Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени были исследованы полиморфизмы генов системы гемостаза и генов фолатного цикла. Выявлены полиморфизмы T/C в гене *ITGB3* и 5G/4G в гене *PLA1*.

Больной был выписан домой с рекомендацией принимать ривароксабан в дозе 2,5 мг 1 раз в день под контролем плазменной активности анти-Ха (целевые значения анти-Ха 0,4–0,6 МЕ/мл). Через три месяца после выписки отмечается полное восстановление всех поврежденных кожных покровов на пальцах (рис. 3).

Обсуждение

Варфарин-индуцированный некроз кожи — это тяжелое осложнение, которое начинается с эритематозного поражения и может закончиться некрозом кожи. Повреждения кожи, как правило, наблюдаются в местах большого скопления подкожной жировой клетчатки в таких областях, как грудь, бедра и ягодицы [8, 9]. Основной причиной развития варфарин-индуцированных некрозов кожи является дефицит протеина С. Из-за короткого периода полураспада протеина С (6–7 часов) после назначения варфарина развивается снижение активности протеина С у всех больных. Более быстрое снижение активности протеина С по сравнению с активностью II, VII, IX и X факторов свертывания крови способствует тромбозу микрососудов кожи. В настоящем наблюдении имел место атипичный варфарин-индуцированный некроз кожи, так как нарушения микроциркуляции развились спустя почти два года после начала терапии варфарином.

Возможной причиной развития нарушений свертываемости явилось снижение синтетической функции печени, так как по данным фиброэластографии у ребенка был цирроз печени (F4 по шкале METAVIR) [6].

Схожий клинический синдром описан при терапии гепарином. Гепарин-индуцированная тромбоцитопения развивается у 1–3 % больных, получающих нефракционированный гепарин. Поскольку многие больные с варфарин-индуцированными некрозами кожи первоначально лечились гепарином, целесообразно

у них проводить дифференциальный диагноз с гепарин-индуцированной тромбоцитопенией.

В настоящее время нет достаточных доказательств того, что различные методы лечения, такие как вакуум-терапия, применение мазей с сульфадиазином, цинком или гидроксидом алюминия, могут улучшить состояние кожных покровов при развитии варфарин-индуцированных некрозов кожи, которые нередко носят необратимый характер [10]. Для предупреждения резкого уменьшения содержания протеина С в крови терапию варфарином следует начинать с малой дозы препарата, постепенно увеличивая ее в течение 10 дней, пока не будут достигнуты терапевтические значения МНО [10–12]. Для лечения варфарин-индуцированного некроза кожи можно использовать простациклин. Простациклин представляет собой метаболит арахидоновой кислоты, продуцируемый эндотелиальными клетками. В результате терапии этим препаратом может произойти клиническое и гистопатологическое улучшение состояния кожи [13]. Во избежание некроза кожи при первоначальном приеме варфарина рекомендуется использовать гепарин. Снижение нагрузочных доз варфарина также может снизить риск этого опасного осложнения [5].

Применение концентрата протеина С могло бы рассматриваться как патогенетически обоснованная терапия. Однако в настоящее время этот вопрос не имеет однозначного решения и активно обсуждается [14–16].

Несмотря на медикаментозную терапию, 50 % больных нуждаются в хирургическом вмешательстве и обращаются за помощью к пластическим хирургам [17]. Некоторым больным требуется обширная хирургическая обработка поражений или даже ампутация [5, 18].

В приведенном клиническом наблюдении после установления диагноза варфарин-индуцированного некроза кожи лечение варфарином было прекращено, и назначен надропарин кальция. Данный случай демонстрирует возможность отсроченного некроза кожи на фоне длительной терапии варфарином, что является весьма редким осложнением антикоагулянтной терапии, особенно в детском возрасте.

В описанном случае подчеркивается важность знания о варфарин-индуцированном некрозе кожи как о редком осложнении терапии варфарином. Персонализированная и персонализированная терапия имеет большое значение для обеспечения соответствующего качества жизни больного и достижения оптимального результата. Отмена варфарина и назначение антикоагулянта прямого действия может повышать уровни протеинов С и S и, таким образом, предотвращать возможные тромботические осложнения. Другие терапевтические подходы, в том числе назначение препаратов человеческого протеина С, являются предметом дискуссии. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения эффективности назначения этих препаратов.

Литература / References

- Essex D.W., Wyn S.S., Jin D.K. Late onset warfarin induced skin necrosis: case report and review of the literature. *Am. J. Hematol.* 1998; 57(3): 233–23.
- Amato L., Berti S., Fabbri P. Warfarin-induced skin necrosis: discussion. *Skimed.* 2003; 22: 127–130.
- Eby C.S. Warfarin-induced skin necrosis. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 1993; 7(6): 1291–300.
- McGehee W.G., Klotz T.A., Epstein D.J., Rapaport S.I. Coumarin necrosis associated with hereditary protein C deficiency. *Ann. Intern. Med.* 1984; 101: 59–60. DOI: 10.7326/0003-4819-101-1-59
- Dean R.H., Yao J.S.T., Brewster D.C. Current Diagnosis and Treatment In Vascular Surgery. Connecticut: Appleton & Lange, 1995: 381–2.
- Bedossa P., Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1996; 24: 289–93.
- Lipe B., Ornstein D.L. Deficiencies of Natural Anticoagulants, Protein C, Protein S, and Antithrombin. *Circulation.* 2011; 124(14): e365–8. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.044412
- Miura Y., Ardenghy M., Ramasatry S. et al. Coumadin necrosis of the skin: report of four patients. *Ann. Plast. Surg.* 1996; 37(3): 332–7.
- Piczon O.Y., Manahan F.J., Udomasak P. et al. Case Study: A modified topical regimen for sodium warfarin induced necrotizing fasciitis. *Ostomy Wound Manag.* 1995; 41(1): 48–50.
- Broekmans A.W., Veltkamp J.J., Bertina R.M. Congenital protein C deficiency and venous thromboembolism. A study of three Dutch families. *N. Engl. J. Med.* 1983; 309: 340–4.
- Broekmans A.W. Hereditary protein C deficiency. *Haemostasis.* 1985; 15: 233–40.
- Zauber N.P., Stark M.W. Successful warfarin anticoagulation despite protein C deficiency and history of warfarin necrosis. *Ann. Intern. Med.* 1986; 104: 659–60.
- Norris P.G. Warfarin skin necrosis treated with prostacyclin. *Clin. Exp. Dermatol.* 1987; 12: 370–72.
- McKelvey K., Jackson C.J., Xue M. Activated protein C: a regulator of human skin epidermal keratinocyte function. *World J. Biol. Chem.* 2014; 5(2):169–79.
- Whitmont K., McKelvey K.J., Fulcher G. et al. Treatment of chronic diabetic lower leg ulcers with activated protein C: a randomised placebo-controlled, double-blind pilot clinical trial. *Int. Wound J.* 2015; 12(4): 422–7. DOI: 10.1111/iwj.12125
- Whitmont K., Reid I., Tritton S. et al. Treatment of chronic leg ulcers with topical activated protein C. *Arch. Dermatol.* 2008; 144(11):1479–83.
- Chan Y.C., Valenti D., Mansfield A.O., Stansby G. Warfarin induced skin necrosis. *Br. J. Surg.* 2000; 87: 266–72.
- De Franzo A.J., Marasco P., Argenta L.C. Warfarin induced necrosis of the skin. *Ann. Plast. Surg.* 1995; 34: 203–8.

Информация об авторах

Ластовка Василий Анатольевич, врач — анестезиолог-реаниматолог ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: richard-brabant@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3395-2812>

Гордеева Ольга Борисовна*, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии, e-mail: obr@yandex.ru, тел.: +7(963)782-02-06; 119296, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8311-9506>

Тепяев Рустэм Фаридович, доктор медицинских наук, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: rtepaev@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6667-9472>

Деревнина Юлия Владимировна, врач-педиатр ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: julia06012@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6394-4020>

Басаргина Елена Николаевна, доктор медицинских наук, заведующая отделением кардиологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: basargina@nczd.mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0144-2885>

Пеньков Евгений Леонидович, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: penkoff.dr@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8250-5405>

Гандаева Лейла Ахатовна, кандидат медицинских наук, врач-педиатр ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: leilagan2409@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0890-7849>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 19.06.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Information about the authors

Vasily A. Lastovka, Intensivist, National Medical Research Center for Children's Health, e-mail: richard-brabant@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3395-2812>

Olga B. Gordeeva*, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, e-mail: obr@yandex.ru, tel.: +7(963)782-02-06; 119296, Moscow, Lomonosovsky prospect, 2. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8311-9506>

Rustem F. Tepaev, Dr. Sci. (Med.), Head of Resuscitation and Intensive Care Unit, National Medical Research Center for Children's Health, e-mail: rtepaev@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6667-9472>

Yuliya V. Derevnina, Pediatrician, National Medical Research Center for Children's Health, e-mail: julia06012@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6394-4020>

Elena N. Basargina, Dr. Sci. (Med.), Head of Cardiology Department, National Medical Research Center for Children's Health, e-mail: basargina@nczd.mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0144-2885>

Yevgeny L. Penkov, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Cell Biology, National Medical Research Center for Children's Health, e-mail: penkoff.dr@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8250-5405>

Layla A. Gandaeva, Cand. Sci. (Med.), Pediatrician, National Medical Research Center for Children's Health, e-mail: leilagan2409@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0890-7849>

* Corresponding author

Received 19 Jun 2019

Accepted 12 Sep 2019

<https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-489-503>

НАСЛЕДСТВЕННЫЙ ДЕФИЦИТ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ V: КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Яковлева Е. В.^{*}, Коняшина Н. И., Горгидзе Л. А., Сурин В. Л., Пшеничникова О. С., Полеводова О. А., Спирин М. В., Галстян Г. М., Зозуля Н. И.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Наиболее распространенными наследственными коагулопатиями являются гемофилия и болезнь Виллебранда. Часто под маской этих заболеваний скрываются редкие наследственные коагулопатии, в том числе наследственный дефицит фактора свертывания крови V (FV).

Цель: описание клинических проявлений и выбора тактики лечения у больных с наследственным дефицитом FV.

Основные сведения. Представлен обзор литературы и трех клинических наблюдений за больными с наследственным дефицитом FV. Обсуждаются вопросы дифференциальной диагностики наследственных коагулопатий, поскольку от точного диагноза зависит выбор гемостатической терапии. Больные с наследственным дефицитом FV требуют постоянного наблюдения гематологом с целью контроля спонтанного или индуцированного геморрагического синдрома, проведения гемостатической терапии при оперативных вмешательствах, беременности, родах.

Ключевые слова: наследственные коагулопатии, наследственный дефицит фактора свертывания крови V, фактор свертывания крови V

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Яковлева Е.В., Коняшина Н.И., Горгидзе Л.А., Сурин В.Л., Пшеничникова О.С., Полеводова О.А., Спирин М.В., Галстян Г.М., Зозуля Н.И. Наследственный дефицит фактора свертывания крови V: клинические наблюдения. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 489–503. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-489-503>

CONGENITAL FACTOR V DEFICIENCY: CASE REPORTS

Yakovleva E. V.*, Konyashina N. I., Gorgidze L. A., Surin V. L., Pshenichnikova O. S., Polevodova O. A., Spirin M. V., Galstyan G. M., Zozulya N. I.

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

ABSTRACT

Introduction. Haemophilia and von Willebrand disease constitute the most common hereditary coagulopathies. However, such rare hereditary coagulopathies as congenital factor V deficiency can mistakenly be referred to these diseases.

Aim. To describe the clinical manifestations and treatment of congenital factor V deficiency.

General findings. The article presents a literature review, as well as three case studies of patients with congenital factor V deficiency. Given that the choice of haemostatic therapy depends on accurate diagnosis, issues associated with the differential diagnosis of hereditary coagulopathies are considered as well. Patients with congenital factor V deficiency require continuous monitoring by a haematologist in order to control spontaneous or induced haemorrhagic syndrome, as well as to plan haemostatic therapy in case of surgical procedures, pregnancy or childbirth.

Keywords: hereditary coagulopathy, congenital factor V deficiency, factor V

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Yakovleva E.V., Konyashina N.I., Gorgidze L.A., Surin V.L., Pshenichnikova O.S., Polevodova O.A., Spirin M.V., Galstyan G.M., Zozulya N. I. Congenital factor V deficiency: case reports. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(4): 489–503 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-489-503>

Введение

Фактор свертывания крови V (FV) — проакцелерин — известен как лабильный фактор, обладающий прокоагулянтными и антикоагулянтными свойствами. FV является кофактором протромбиназного комплекса, который катализирует превращение протромбина в тромбин. Антикоагулянтные свойства FV обусловлены его участием в инактивации фактора свертывания крови VIII (FVIII) в комплексе с активированным протеином С (activated protein C — APC) и протеином S (protein S — PS) [1]. FV синтезируется в печени в виде пептида, состоящего из 2196 аминокислотных остатков. В плазме циркулирует около 80 % FV, 20 % обнаруживается в α -гранулах тромбоцитов, где он связан с белком-мультимерин. Содержание FV в α -гранулах, возможно, обусловлено синтезом FV мегакариоцитами и/или эндоцитозом из плазмы [1–4]. FV циркулирует в плазме в виде одноцепочечной мо-

лекулы массой 330 кДа, период полужизни составляет 12–30 часов [1, 5]. Структурная организация FV сходна с таковой FVIII. В ней выделяют три А-домена, два гомологичных С-домена и один большой центральный В-домен (A1–A2–B–A3–C1–C2). Активируется FV под действием тромбина и, в меньшей степени, — активированного фактора свертывания крови X (FX_a). Тромбин активирует FV, расщепляя его по остаткам Arg в положениях 709, 1018 и 1545. Это расщепление освобождает В-домен, и образуется димерная молекула, состоящая из тяжелой цепи массой 105 кДа (A1–A2) и легкой цепи 71–74 кДа (A3–C1–C2), которые взаимодействуют посредством ионов Ca²⁺ и гидрофобных связей (рис. 1) [6].

Активированный FV (FVa) является кофактором протромбиназного комплекса — мультикомпонентного энзимного комплекса, включающего наряду

с FVa, FXa, ионы Ca^{2+} и фосфолипиды. Тяжелая цепь FVa обеспечивает контакт с FXa и протромбином, С-домены легкой цепи — взаимодействие с фосфолипидной поверхностью, а А3-домен легкой цепи связывает FXa и фосфолипиды. FVa повышает концентрацию FXa на мембранной поверхности тромбоцитов, активируя рецептор FXa и аллостерически изменяя активные центры FXa, что способствует расщеплению протромбина. Таким образом, FVa выполняет роль кофактора для FXa, многократно увеличивая его способность к активации тромбина (рис. 2) [1, 7, 8].

Инактивация FVa осуществляется APC при его расщеплении по остаткам Arg в положениях 506, 306, 679 тяжелой цепи. Гидролиз по остаткам Arg 306 и Arg 506 полностью инактивирует FV. Гидролиз только по остатку Arg 506 приводит к образованию FV-антикоагулянта (FVac). Тримолекулярный комплекс: APC, PS, и FVac элиминирует активность FVIIIa в теназном комплексе посредством его расщепления по остаткам Arg 336, Arg 562, Arg 734 [1, 2, 9]. Способностью инактивировать FVa обладает и α -тромбин, что было показано в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Он расщепляет FVa в положении Arg 643, в результате аффинность между легкой и тяжелой цепя-

ми значительно снижается [8]. Также эксперименты *in vitro* демонстрируют способность плазмينا инактивировать бычий FVa [10].

Наследственный дефицит FV относится к редким коагулопатиям, распространенность заболевания составляет 1 : 1 000 000 населения. Однако в регионах, где распространены близкородственные браки, частота заболевания возрастает до 1:70 000 населения [11]. Редкие наследственные коагулопатии составляют около 10 % всех наследственных дефицитов факторов свертывания крови. Эпидемиология редких коагулопатий представлена в таблице 1 [12, 13].

Наследственный дефицит FV был описан норвежским врачом Paul A. Owren во время Второй мировой войны у 29-летней женщины, страдавшей спонтанными экхимозами, профузными носовыми кровотечениями, посттравматическими кровотечениями, меноррагиями и потерей зрения. Изначально это состояние он назвал парагемофилией, определив отсутствие в крови ранее неизвестного прокоагулянта. Впервые эти данные были опубликованы в Норвегии в 1944 г., а после окончания Второй мировой войны — в журнале Lancet в 1947 г. [14]. Заболевание имеет аутосомно-рецессивный путь наследования. В лите-

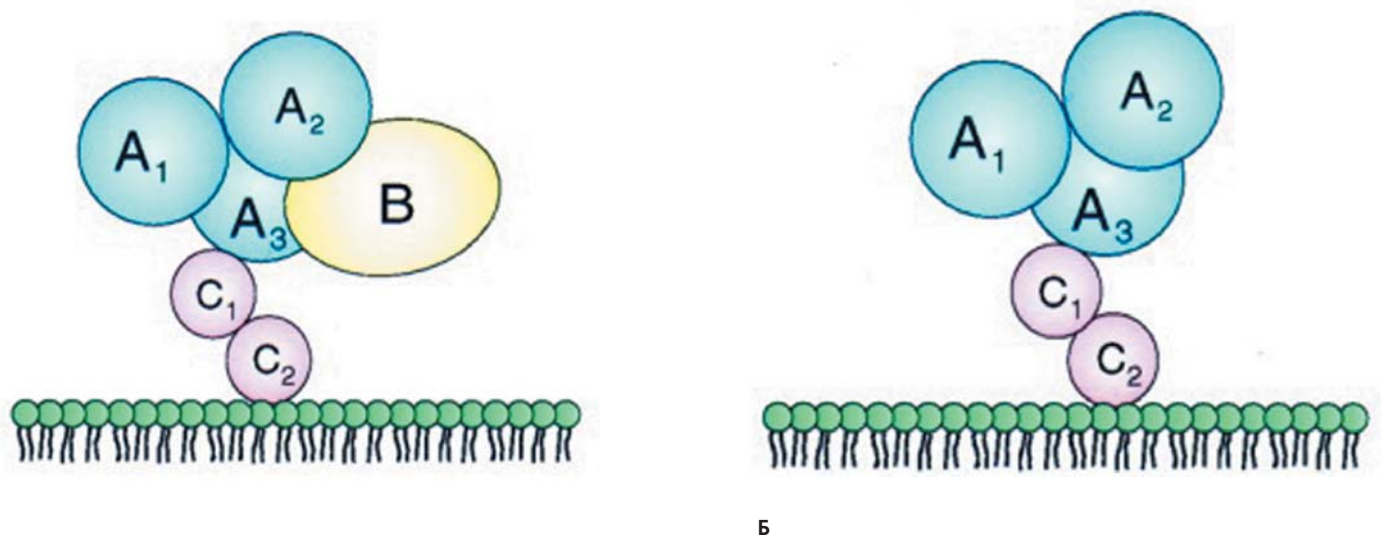


Рисунок 1. Структура FV (А) и FVa (Б) [6]
Figure 1. Structure of FV (A) and FVa (B) [6]

Таблица 1. Сравнительная частота наследственного дефицита FV в группе редких наследственных коагулопатий в ряде стран (%) [12, 13]
Table 1. Comparing the frequency of congenital factor V deficiency with other rare congenital bleeding disorders in some countries (%) [12, 13]

Страна Country	Дефициты факторов свертывания крови; % больных в группе редких наследственных коагулопатий Blood clotting factor deficiencies, % of patients in the group of rare congenital bleeding disorders							
	I	II	V	V+VIII	VII	X	XI	XIII
Италия Italy	8	5	10	9	25	8	24	11
Иран Iran	11	2	7	11	39	10	7	13
Индия India	13	3	8	6	15	16	9	30

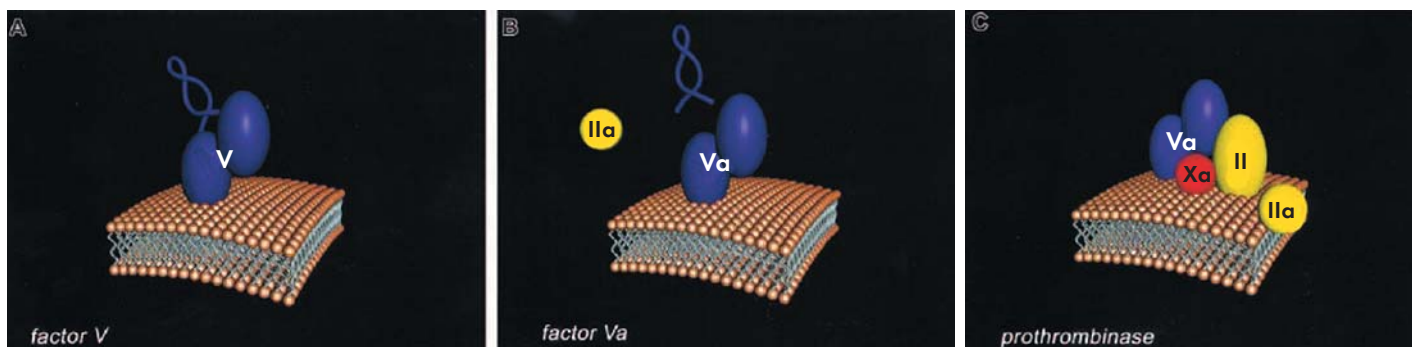


Рисунок 2. Протромбиназный комплекс [8]

Figure 2. Prothrombinase complex [8]

ратуре описано более 200 случаев наследственного дефицита FV.

Молекулярные основы заболевания. Полная генетическая структура FV была описана в 1992 г. L.D. Cripe и соавт. [15]. Ген, кодирующий синтез FV, локализуется на хромосоме 1 в локусе 1q24, состоит из 25 экзонов и имеет протяженность 74кб [15, 16]. При дефиците FV идентифицировано более 150 различных мутаций и свыше 700 полиморфизмов, которые не ассоциируются с клиническими проявлениями [1,17]. Среди выявленных мутаций преобладают точечные миссенс- и нонсенс-мутации (65 %), микроделеции (16 %) и мутации сплайсинга (11 %). По данным, приведенным в обзоре R. Asselta и F. Peyvandi [3], из 48 мутаций, вызывающих тяжелую форму заболевания, 21 (44 %) представляли собой микроделеции или микроинсерции, 14 (29 %) — миссенс-мутации, 7 (15 %) — дефекты сплайсинга и 6 (12 %) — нонсенс-мутации. Однако вопрос о корреляции между различными мутациями и клиническими проявлениями заболевания остается открытым.

Клинические проявления. Спектр клинических проявлений дефицита FV разнообразен и по источнику кровотечения, и по его интенсивности. Превалирующими являются носовые, десневые, посттравматические, постоперационные кровотечения, гематомы, экхимозы. Гемартрозы — нечастое клиническое проявление дефицита FV, в отличие от наследственного дефицита FVIII. Жизнеугрожающими состояниями при дефиците FV являются желудочно-кишечные кровотечения (ЖКК), кровоизлияния в центральную нервную систему (ЦНС).

Согласно Американскому регистру редких наследственных коагулопатий [18], спектр клинических проявлений следующий: 44 % всех эпизодов кровоизлияний — кожный геморрагический синдром, носовые кровотечения и кровоточивость десен, 23 % — кровоизлияния в суставы и мышцы, 19 % — мочеполовые кровотечения, 6 % — ЖКК, 8 % — кровоизлияния в ЦНС. Среди 35 больных иранцев 57 % из них страдали носовыми и десневыми кровотечениями, 50 % женщин имели меноррагии, 29 % имели постоперационные и/или послеродовые кровотечения, 29 % — мы-

шечные гематомы, 26 % — гемартрозы, 6 % — ЖКК; 6 % — кровоизлияния в ЦНС [19].

Корейскими авторами был проведен анализ клинических данных 10 больных. Один из них не имел клинических симптомов заболевания, у 40 % больных отмечены носовые, десневые, постоперационные кровотечения, меноррагии; внутрибрюшное кровотечение констатировано у 2 (20 %) больных, кровоизлияние в ЦНС — у 1 (10 %), ретроперитонеальная гематома — у 1 (10 %) больного и гемартроз также у 1 (10 %) больного. ЖКК, гематурии не зарегистрированы [20]. Индийскими авторами [21] описано 26 больных с наследственным дефицитом FV, из которых 19 (73 %) страдали спонтанным возникновением экхимозов, 5 (19 %) — мышечных гематом, 14 (53 %) — носовых кровотечений, 15 (58 %) — десневых кровотечений. ЖКК имели 10 (38 %) больных, кровотечения из мочеполового тракта — 6 (23 %), кровоизлияния в ЦНС — 6 (23 %) больных. Послеоперационные кровотечения констатированы у 9 (35 %) больных. Подавляющее большинство больных (92 %) отмечали длительные кровотечения после порезов. Все женщины (12 из группы 26 больных) предъявляли жалобы на меноррагии.

Лабораторная диагностика. Характерными лабораторными признаками наследственного дефицита FV являются снижение протромбина по Квику или сочетанные изменения: снижение протромбина по Квику и удлинение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ). Диагноз достоверен в случае изолированного снижения активности FV менее 70 % и при отсутствии ингибитора к FV. В зависимости от активности FV в плазме выделяют тяжелую форму дефицита FV (FV менее 1 %), среднюю (FV 1–5 %), легкую (FV более 5 %) [1, 20, 22]. Некоторые авторы диагностируют легкую форму заболевания при активности FV более 10 % [11]. Легкие формы дефицита FV могут сопровождаться изменениями только протромбина по Квику, АЧТВ при этом остается в пределах нормальных значений. В Американском регистре редких наследственных коагулопатий используется классификация гомозиготной и гетерозиготной формы заболевания с пороговым значением FV 20 % [18].

Лечение. Гемостатическая терапия больным с наследственным дефицитом FV назначается с целью лечения геморрагического синдрома (спонтанного или вследствие травмы), периоперационной подготовки, ведения беременности и родоразрешения, регуляции менструальных кровопотерь. Заместительной специфической терапии в настоящее время не существует. Гемостатическая терапия может осуществляться несколькими препаратами. Свежезамороженная плазма (СЗП) является доступным средством, содержащим FV. Дозировка варьирует в пределах 5–20 мл/кг массы тела больного, интервал введения — каждые 12–24 ч в зависимости от интенсивности геморрагического синдрома и индивидуального ответа. Недостатками использования СЗП являются возможности перегрузки объемом, риски инфицирования, появления ингибитора к FV, развития аллергической реакции.

Использование рекомбинантного активированного фактора свертывания VII (эптаког альфа активированного) является применением по неутвержденным показаниям (off-label), и подбор дозы препарата представляет собой определенную трудность. Преимущества использования эптаког альфа (активированного) — это отсутствие риска инфицирования и перегрузки объемом.

Ингибиторы фибринолиза могут быть использованы как в виде пероральной формы, так и внутривенно и позволяют больным проводить гемостатическую терапию в домашних условиях при малоинтенсивном геморрагическом синдроме (при носовых, десневых кровотечениях, меноррагиях). Меноррагии являются основной проблемой у женщин с дефицитом FV и требуют совместного наблюдения с гинекологом. Неэффективность терапии ингибиторами фибринолиза является поводом для решения вопроса о назначении гормональных препаратов.

Описаны случаи эффективного использования концентрата тромбоцитов у больных с дефицитом FV

и тяжелыми кровотечениями, которые не отвечали на трансфузии СЗП. Эффективность трансфузий концентрата тромбоцитов и неэффективность СЗП объясняли наличием ингибитора к FV, поскольку содержащийся в тромбоцитах FV не успевал нейтрализоваться ингибитором при высвобождении из активированных тромбоцитов и потреблялся на образование протромбиназного комплекса [1, 3].

Цель настоящей работы — описание клинических проявлений и выбора тактики лечения у больных с наследственным дефицитом FV.

Клинические наблюдения

В отделе коагулопатий ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России наблюдаются 170 больных редкими наследственными коагулопатиями. Распределение больных наследственными коагулопатиями по нозологиям представлено в таблице 2. С диагнозом «наследственный дефицит FV» состоят под наблюдением 8 больных (5 женщин, 3 мужчин).

Клиническое наблюдение 1

Больной Л., 30 лет, впервые обратился в НМИЦ гематологии в 2012 г., когда был доставлен бригадой «скорой медицинской помощи» и госпитализирован в связи с коагулопатией неясного генеза и спонтанной напряженной гематомой левого предплечья. Тяжесть состояния была обусловлена обширной наряженной гематомой в области левого предплечья, локализовавшейся на наружной и внутренней поверхностях предплечья от лучезапястного до локтевого суставов. В связи с многократным удлинением АЧТВ и снижением протромбина по Квику были исключены наиболее распространенные наследственные коагулопатии — гемофилия, болезнь Виллебранда и начата гемостатическая терапия СЗП.

Анамнез заболевания. Больной — уроженец Республики Мордовия. Родственный брак родителей отрицает. Семейный анамнез по кровоточивости был не отяго-

Таблица 2. Распределение больных редкими наследственными коагулопатиями, состоящих на учете в отделе коагулопатий НМИЦ гематологии

Table 2. Distribution of patients with rare inherited bleeding disorders in the Department of coagulopathy disorders of the National Research Center for hematology

Дефицит фактора свертывания крови Blood clotting factor deficiency	Число больных, n (%) Number of patients, n (%)
I	29 (17)
II	1 (0,5)
V	8 (5)
V+VIII	4 (2)
VII	82 (48)
X	4 (2)
XI	25 (15)
XIII	10 (6)
Комбинированные дефициты Combined coagulation factor deficiencies	7 (4)

щен. В возрасте 1 года получил травму губы, отмечалось выраженное кровотечение, был госпитализирован, с гемостатической целью проводилась электрокоагуляция. В 1993 г., в возрасте 7 лет, был направлен в Измайловскую детскую клиническую городскую больницу (г. Москва), где был установлен диагноз «Болезнь Виллебранда». В клинической картине заболевания отмечал гематомы, экхимозы, дискомфорт в голеностопных суставах. В 1995 г. лечился в реанимационном отделении в связи с ЖКК. В 2008 г. впервые выявлены антитела к вирусу гепатита С. Трансфузионный анамнез: с 1992 г. осуществлялись трансфузии СЗП, криопреципитата, эритроцитарной массы по требованию.

При обследовании в НМИЦ гематологии в коагулограмме выявлено: АЧТВ 71 с, фибриноген 3,0 г/л, протромбин по Квику 48 %, FV 5 %, FII 98 %, FVII 90 %, FVIII 84 %, FIX 78 %, FX 96 %, FXI 79,9 %, FW 130 %, FXII 101 %, XIIa-зависимый фибринолиз 6 мин, агрегация тромбоцитов с ристомидином 85 %, агрегация тромбоцитов с коллагеном 73 %, агрегация тромбоцитов с адреналином 62 %, агрегация тромбоцитов с АДФ 69 %. Отсутствие ингибитора к FV позволило исключить приобретенный дефицит FV. В общем анализе крови у больного гемоглобин был 132 г/л, эритроциты $4,4 \times 10^{12}/л$, тромбоциты $174 \times 10^9/л$; лейкоциты $6 \times 10^9/л$; в биохимическом анализе крови — общий белок 69 г/л, альбумин 40 г/л, аланинаминотрансфераза 42 ед/л, аспартатаминотрансфераза 29 ед/л, креатинин 85 мкмоль/л. Были выявлены антитела к вирусу гепатита С.

Учитывая анамнестические, клинические и лабораторные данные, у больного был диагностирован наследственный дефицит FV. Продолжены трансфузии СЗП в дозе 700 мл/сутки (8 мл/кг массы тела), после стабилизации состояния больного суточная доза СЗП была уменьшена, он был выписан из НМИЦ гематологии спустя 7 суток.

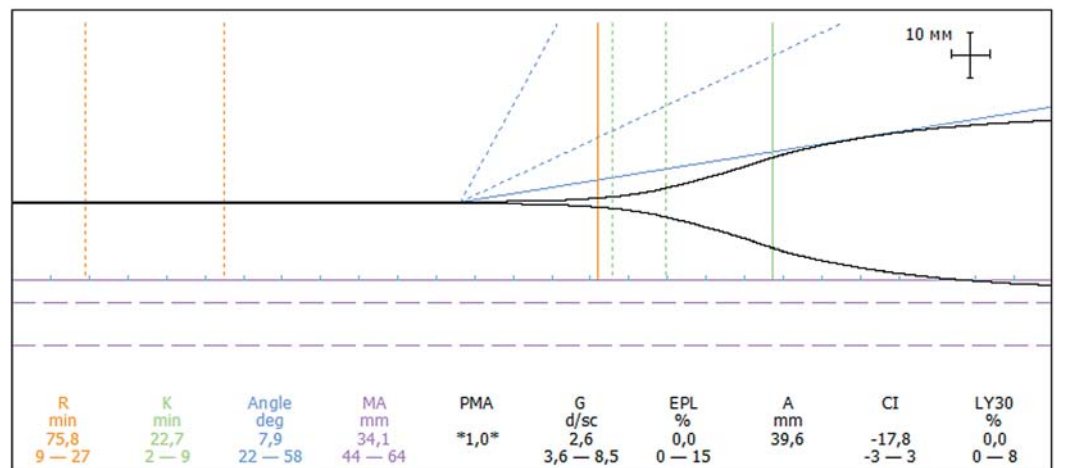
Контрольное обследование больного было проведено через месяц после окончания гемостатической терапии и позволило установить тяжелую форму заболевания по лабораторным данным: FV 0,4 %, АЧТВ 155 с, протромбин по Квику 12,6 %. По данным тромбоэластографии (ТЭГ), ротационной тромбоэластометрии (РОТЭМ) с оценкой внешнего (EXTEM) и внутреннего (INTEM) путей свертывания крови у больного были выявлены признаки гипокоагуляции (рис. 3). Повторное обращение в НМИЦ гематологии в 2016 г. было вызвано образованием после физического напряжения обширной гематомы на медиальной поверхности бедра справа размерами 10 × 15 см (рис. 4А), а в 2017 г. — в связи с формированием в результате травмы гематомы в области правого локтевого сустава, переходящей на предплечье, размерами 10 × 7 см (рис. 4Б). В 2018 г. поводом для обращения послужили боли и отеки в области левого голеностопного сустава, при обследовании был диагностирован гемартроз. Во всех случаях больному проводилась заместительная гемостатическая терапия

СЗП в дозе 7–10 мл/кг с выраженным положительным эффектом. В ноябре 2018 г. у больного появились периодические приступообразные боли в поясничной области, купированные спазмолитиками. По результатам обследования, включавшего ультразвуковое исследование (УЗИ), магнитно-резонансную томографию с внутривенным контрастированием, была диагностирована мочекаменная болезнь, выявлен камень в лоханочно-мочеточниковом сегменте правой почки. Гематурия и очередной приступ почечной колики явились показанием для экстренной госпитализации и решения вопроса о тактике лечения. Рассматривались следующие варианты лечения: дистанционная ударно-волновая литотрипсия, пиелолитотомия, контактная литотрипсия. Учитывая высокий риск геморрагических периперационных осложнений, при выборе метода лечения учитывали как урологические, так и гематологические факторы, поэтому 16 ноября 2018 г. больному была выполнена контактная лазерная уретеролитотрипсия справа со стентированием правого мочеточника. В периперационном периоде в качестве гемостатической терапии проводились ежедневные трансфузии СЗП в объеме 600–700 мл/сут. Благодаря такой терапии перед операцией протромбин по Квику составил 47 %, АЧТВ 52 с. Однако после оперативного вмешательства у больного сохранялись болевой синдром, требовавший повторного введения спазмолитиков и анальгетиков, и гематурия, что расценили как следствие нарушения гемостаза, а не урологических причин. Гемостатическая терапия СЗП была продолжена в прежнем объеме, АЧТВ поддерживалось в пределах 50 с, протромбин по Квику — 45 %. Увеличение объема трансфузии СЗП представлялось опасным из-за возможного развития тампонады мочевого пузыря сгустками крови. Однако болевой синдром и макрогематурия сохранялись. В связи с нефункциональным стентом 26.11.2018 выполнена процедура удаления стента правого мочеточника, который оказался частично тромбирован. Гемостатическая терапия была отменена. Состояние больного стабилизировалось, был выписан, приступил к трудовой деятельности.

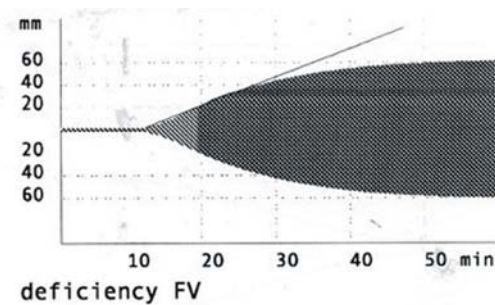
Срок наблюдения за больным составляет 7 лет.

Клиническое наблюдение 2

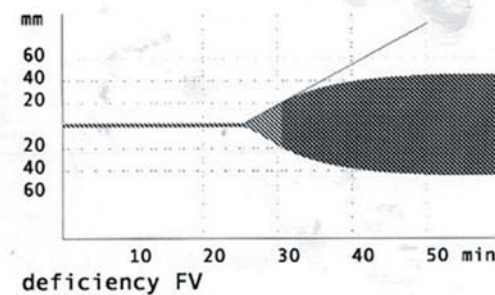
Больная Р. в детском возрасте отмечала спонтанное появление синяков на коже туловища и конечностей, носовые кровотечения. Менструации дебютировали в возрасте 15 лет, они были обильные, продолжительные, менструальный цикл — нерегулярный. В 2011 г., в возрасте 20 лет, она пребывала на стационарном лечении в гинекологическом отделении с диагнозом: «Острый двусторонний сальпингоофорит с нарушением менструальной функции. Эктопия шейки матки. Хронический цервицит. Хронический эндометрит. Кистозно-измененные яичники». Проводилась консервативная терапия с положительным эффектом. При обследовании на тот момент АЧТВ составля-



A



EXTEM [default]				Lit:
161124				
RT: 03:00:00		ST: 20:		
CT	: 697	s [	38 - 79]	
CFT	: 425	s [	34 - 159]	
α	: 33	° [	63 - 83]	
A10	: 28	mm [	43 - 65]	
A20	: 47	mm [	50 - 71]	
MCF	: 61	mm [	50 - 72]	
ML	: *	7	% [0 - 15]	
LI30	: 100	% [	94 - 100]	
LI45	: 100	%		



INTEM [default]				Lit:
161124				
RT: 03:00:00		ST: 20:		
CT	: 1490	s [	100 - 240]	
CFT	: 299	s [	30 - 110]	
α	: 43	° [	70 - 83]	
A10	: 33	mm [	44 - 66]	
A20	: 43	mm [	50 - 71]	
MCF	: 45	mm [	50 - 72]	
ML	: *	16	% [0 - 15]	
LI30	: 100	% [	94 - 100]	
LI45	: 98	%		

B

Рисунок 3. Интегральные тесты больного Л. А. Тромбоэластограмма с цельной цитратной кровью. Б. Ротационная тромбоэластометрия (EXTEM, INTEM)
Figure 3. Integral hemostatic tests of patient L. A. Thromboelastogram with whole citrate blood. B. Rotational thromboelastometry (EXTEM, INTEM)



A



B



Рисунок 4. Геморрагический синдром у больного Л. с наследственным дефицитом фактора свертывания крови V. А. Обширная гематома медиальной области бедра справа. Б. Гематома области локтевого сустава с переходом на предплечье
Figure 4. Hemorrhagic syndrome in patient L. with congenital FV deficiency. A. Extensive hematoma of medial area of a hip on the right. B. Hematoma of the elbow joint with the transition to the forearm

ло 43 с, фибриноген 2,4 г/л, тромбиновое время (ТВ) 19 с, протромбин по Квику колебался от 16,5 до 58 %. Однако, несмотря на выявленные нарушения гемостаза, больная не была консультирована гематологом.

В 2014 г. проведена криодеструкция эрозии шейки матки, геморрагических осложнений не было. В 2014–2015 гг. с целью регуляции менструальных кровопотерь по рекомендации гинеколога использовала гормональные интравагинальные препараты, принимала гормональные оральные контрацептивы, однако в дальнейшем отказалась от их приема из-за выраженных побочных эффектов, проявлявшихся головными болями, сменами настроения. Семейный анамнез по кровоточивости не отягощен.

В 2015 г., в возрасте 24 лет, в связи с подозрением на болезнь Виллебранда она была направлена для обследования в отдел коагулопатий НМИЦ гематологии. Основной жалобой на момент обращения были скудные кровянистые выделения из половых путей в течение трех месяцев. При обследовании у больной АЧТВ было 35 с, фибриноген 3,5 г/л, протромбин по Квику 53 %, ТВ 15 с, плазменная активность FII 103 %, FV 23 %, FVII 172 %, FX 107 %, FVIII 122 %, FW 180 %, XIIa-зависимый фибринолиз 8 мин, агрегация тромбоцитов с АДФ 83 %, агрегация тромбоцитов с ристомисином 88 %, агрегация тромбоцитов с коллагеном 85 %, агрегация тромбоцитов с адреналином 77 %. В общем анализе крови концентрация гемоглобина была 115 г/л, эритроцитов $4,4 \times 10^{12}/л$, тромбоцитов $308 \times 10^9/л$, лейкоцитов $8,1 \times 10^9/л$. Биохимические показатели крови были в пределах нормальных значений. Таким образом, лабораторные данные позволили исключить диагноз «болезнь Виллебранда» и предположить наличие у больной наследственного дефицита FV.

С целью генетического подтверждения диагноза в лаборатории генной инженерии НМИЦ гематологии выполнен анализ первичной структуры функционально значимых участков гена FV больной Р. Секвенирование выявило наличие гетерозиготной миссенс-мутации в экзоне 13: CD684 TGT-TAT (Cys684Tyr). Согласно Human Gene Mutation Database (HGMD) [17] данная мутация была описана впервые китайскими авторами в 2008 г. [20].

По данным УЗИ малого таза патологии не было выявлено. На основании осмотра гинекологом диагностированы дисфункция яичников, маточное кровотечение.

Таким образом, на основании лабораторных, клинических и анамнестических данных был диагностирован наследственный дефицит FV, легкая форма. Проведена гемостатическая терапия эптакго альфа (активированным) 3,6 мг в/в (60 мкг/кг массы тела) без побочных реакций. Назначена антифибринолитическая терапия транексамом 500 мг $\times$ 3 раза в день, ангиотропная терапия этам-

зилатом (дициноном) 250 мг $\times$ 4 раза в день. В результате удалось скорректировать менструальный цикл.

Через полтора года больная повторно обратилась с жалобами на обильные менструации продолжительностью до 10 дней. Гемостатическую терапию в течение этих полутора лет не проводила. Проведенное обследование не выявило значительных изменений по сравнению с предыдущими результатами. Активность FV в плазме составила 34 %, протромбин по Квику 53 %, АЧТВ 36 с. Концентрация гемоглобина крови повысилась до 125 г/л.

Были выполнены вискоэластичные тесты оценки гемостаза: ТЭГ и РОТЭМ. По данным ТЭГ показатели начального тромбообразования, динамики свертывания крови, плотности тромба и скорости его лизиса были в пределах референсных значений. По данным РОТЭМ тесты внутреннего (INTEM) и внешнего (EXTEM) путей свертывания крови также были в пределах нормальных значений (рис. 5). Больной возобновлена антифибринолитическая и ангиотропная терапия. На этом фоне отмечено уменьшение менструальной кровопотери.

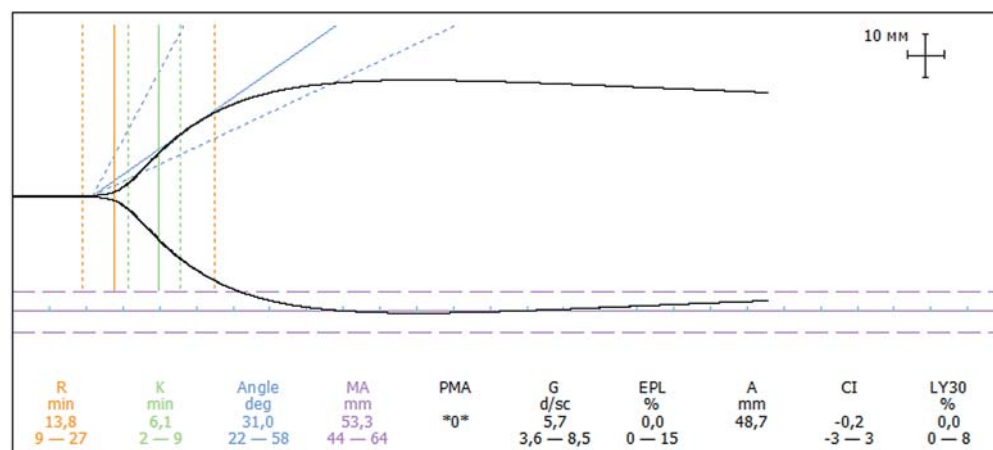
При обращении в январе 2018 г. жалоб не предъявляла, менструации были умеренные, длились 10 дней. По лабораторным данным: АЧТВ 38 с, протромбин по Квику 65 %, плазменная активность FV 41,6 %. В общем анализе крови: гемоглобин 127 г/л, тромбоциты $268 \times 10^9/л$, лейкоциты $6,47 \times 10^9/л$.

Срок наблюдения за больной составляет 4 года.

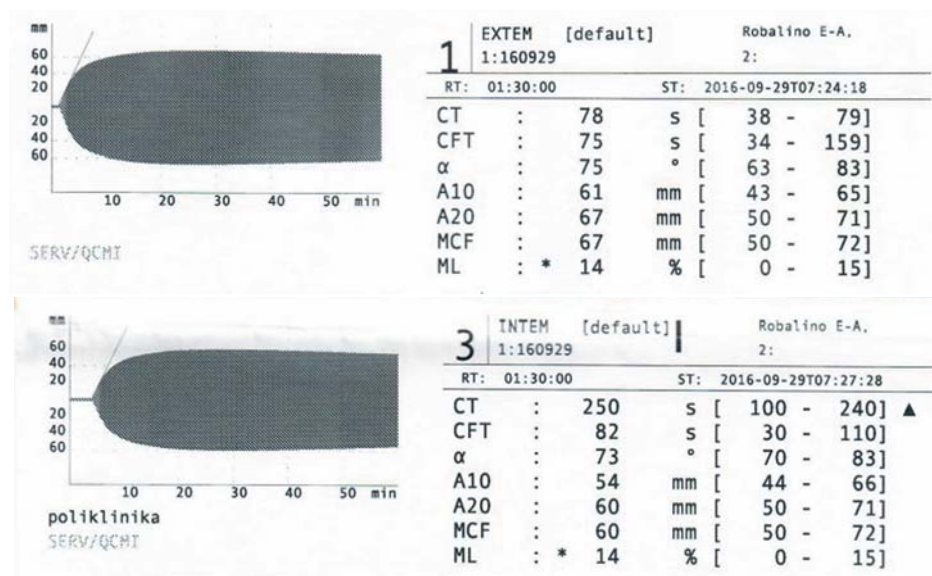
Клиническое наблюдение 3

Больная И. впервые обратилась в отдел коагулопатий НМИЦ гематологии в 2018 г. в возрасте 19 лет с жалобами на нарушения менструального цикла, постоянные кровянистые выделения из половых путей, носовые кровотечения, легкое образование синяков. Впервые наследственный дефицит фактора свертывания крови V был диагностирован у нее в 2005 г. в возрасте 7 лет в г. Санкт-Петербурге. Наблюдалась по месту жительства в г. Череповце.

Анамнез по кровоточивости у больной был осложнен. После рождения наблюдалось длительное заживление пупочной ранки. При прорезывании зубов отмечалась кровоточивость. В возрасте 1 года находилась на лечении в реанимационном отделении в связи с ЖКК, осуществлялись трансфузии эритроцитарной массы, аминокaproновой кислоты. В возрасте 3 лет после травмы, которую она получила при катании на качелях, кровотечение из раны продолжалось в течение 3 дней, что наряду с проводимой гемостатической терапией (аминокaproновая кислота, гемостатическая губка) потребовало наложения скоб. В возрасте 4 лет была госпитализирована по поводу эрозивного гастрита. В период с 5 до 10 лет отмечались рецидивирующие гематурии, в связи с чем 12 раз была госпитализиро-



A



Б

Рисунок 5. Интегральные гемостатические тесты больной Р. А. Нативная тромбоэластограмма с цельной цитратной кровью. Б. Ротационная тромбоэластометрия (EXTEM, INTEM)

Figure 5. Integral hemostatic tests of patient R. A. Thromboelastogram with whole citrate blood. Б. Rotational thromboelastometry (EXTEM, INTEM)

вана. В результате геморрагического синдрома у больной развилась постгеморрагическая анемия (концентрация гемоглобина крови 38 г/л). Осуществлялись трансфузии СЗП, эритроцитной массы. В возрасте 17 лет развилась обширная гематома голени и стопы после падения, что также потребовало госпитализации и проведения гемостатической терапии СЗП. Трехкратно выполняли удаление зубов, при этом проводилась гемостатическая терапия СЗП, гемостатической губкой.

Гинекологический анамнез. Менструации — с 11 лет, обильные, цикл — нерегулярный. Многократно пребывала в гинекологических стационарах. В возрасте 12 лет ей была назначена заместительная гормональная терапия эстроген-гестагенными препаратами, которую продолжает по настоящее время. В 2011 г. госпитализировалась в Измайловскую детскую клиническую больницу (г. Москва) в связи с маточным кровотечением, где ей выполняли трансфузии СЗП, вводили эптаконг альфа (активированный)

с некоторым положительным эффектом. С 2016 г. по настоящее время — многократные госпитализации в связи с маточными кровотечениями, проводилась терапия СЗП, эптаконгом альфа (активированным). Сопутствующими проблемами проведения гемостатической терапии являлись реакции на введение СЗП, трудности обеспечения венозного доступа. В 2017 г. на фоне массивной гемотрансфузионной терапии развился флебит левой локтевой вены. В свою очередь, постоянные кровопотери приводили к анемизации больной и необходимости курсового проведения терапии препаратами железа.

Семейный анамнез по кровоточивости не отягощен; родственники родителей отрицают.

В 2019 г. в связи с регулярной необходимостью проведения гемостатической терапии и отсутствием венозного доступа встал вопрос о необходимости установки порт-системы. С этой целью больная была госпитализирована в НМИЦ гематологии. При обследовании: АЧТВ 176 с, фибриноген 3,8 г/л, протромбин по Квику

11 %, МНО 5,19, ТВ 15,6 с, плазменная активность FII 89,1 %, FV 0,4 %, FVII 110 %, FVIII 183 %, FIX 84, 9 %, FX 119 %, FXI 76,6 %, FXII 114 %, FW 120 %, FXIII 65,7 %, ингибитор к FV не выявлен. В общем анализе крови: концентрация гемоглобина 119 г/л, эритроцитов $4,46 \times 10^{12}/л$, тромбоцитов $247 \times 10^9/л$, лейкоцитов $7,9 \times 10^9/л$. Биохимические показатели были в пределах нормальных значений. Выполнены тесты РОТЭМ, в которых гипокоагуляция была обнаружена как в тесте EXTEM (EXTEM_{СТ} 484 с, норма 38–79, EXTEM_{СФТ} 201 с, норма 34–159), так и INTEM (INTEM_{СТ} 2290 с, норма 38–79), CFT 519 с, норма 34–159), что объясняется участием FV в свертывании как по внешнему пути, отражающемуся в тесте EXTEM, так и в свертывании по внутреннему пути, что отражается на тесте INTEM (рис. 6А).

Учитывая выраженную гипокоагуляцию, перед операцией больной была осуществлена трансфузия 800 мл СЗП и 4 доз концентрата тромбоцитов, после чего был достигнут гемостаз, произведена катетеризация правой внутренней яремной вены и под кожу на грудной клетке имплантирован резервуар порт-системы. В результате гемостатической терапии к началу операции имплантации порт-системы отмечено сокращение АЧТВ до 42 с, увеличение протромбина по Квику до 47 %, плазменной активности FV до 20 %. Показатель EXTEM_{СТ} сократился до 116 с, EXTEM_{СФТ} до 55 с, INTEM_{СТ} до 268 с, INTEM_{СФТ} до 78 с (рис. 6Б). На вторые сутки осуществлена повторная трансфузия концентрата тромбоцитов. Гемостатическая терапия СЗП была продолжена в течение 6 дней. Геморрагических осложнений, признаков гематомы в области установки резервуара порт-системы не отмечалось. Больная была выписана домой в г. Череповец.

Обсуждение

Вопросы диагностики редких наследственных коагулопатий заслуживают особенного внимания. Удлинение АЧТВ и снижение протромбина по Квику могут быть признаками нарушения функции печени, коагулопатии потребления, наследственных дефицитов факторов свертывания крови или наличия ингибиторов к факторам свертывания крови. Дифференциальная диагностика требует расширенного лабораторного исследования параметров внутреннего и внешнего путей свертывания крови.

При заболеваниях печени, сопровождающихся развитием печеночной недостаточности, отмечается уменьшение плазменной концентрации фибриногена, протромбина по Квику, однако плазменная активность FVIII часто повышена.

Коагулопатия потребления — это состояние гиперкоагуляции, развивающееся вследствие различных причин и характеризующееся снижением активности факторов свертывания в плазме крови. Примерами коагулопатий потребления могут быть гестационная

коагулопатия, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

Редкие наследственные коагулопатии характеризуются изолированным снижением активности какого-либо фактора свертывания крови. Степень уменьшения активности фактора свертывания крови может быть различной — от легкой до тяжелой. Это, в свою очередь, по-разному влияет на изменения параметров гемостаза. В первом и третьем клинических наблюдениях плазменная активность FV составляла менее 1 %, протромбин по Квику был снижен до 12 %, АЧТВ составляло более 150 с. Во втором клиническом наблюдении плазменная активность FV составляла 34 %, протромбин по Квику 54 %, а АЧТВ оставалось в пределах нормальных значений. Среди редких наследственных коагулопатий частота сочетанного дефицита факторов V и VIII составляет 3–11 % [12, 13, 24]. Поэтому определение активности FVIII является обязательным для дифференциальной диагностики наследственного дефицита FV. Сочетанный дефицит факторов V и VIII также имеет аутосомно-рецессивный тип наследования. Однако молекулярные основы связаны с наличием мутаций в генах *LMAN1* (Lectin Mannose Binding Protein) или *MCFD2* (Multiple Coagulation Factor Deficiency 2), что приводит к дефициту протеинового комплекса, являющегося карго-рецептором транспортировки FV и FVIII от эндоплазматического ретикула к комплексу Гольджи [24–26]. Характер клинических проявлений не позволяет идентифицировать эти наследственные коагулопатии, а гемостатическая терапия имеет свои отличия.

Наконец, дифференциальный диагноз следует проводить между наследственным и приобретенным дефицитом FV. В литературе описано около 159 случаев приобретенного дефицита FV [20, 27]. Причины появления ингибитора к FV остаются неизвестными. Обнаружение ингибитора к FV часто ассоциируется с хирургическими процедурами, использованием антибактериальных препаратов, аутоиммунными, онкологическими, инфекционными заболеваниями (туберкулез, ВИЧ). Согласно исследованию Viroj Wiwanitkit [28], из 33 случаев диагностики приобретенного дефицита FV ингибитор к FV был обнаружен у 3 больных с инфекционными заболеваниями, у 3 — с онкологическими заболеваниями, у 2 — с аутоиммунными заболеваниями. У 12 больных предполагается лекарственно-индуцированный генез приобретенного дефицита FV; у 13 — вероятная причина не установлена. Приобретенный дефицит FV чаще диагностируется в зрелом или пожилом возрасте, характеризуется отсутствием семейного геморрагического анамнеза. В отличие от приобретенного дефицита наследственный дефицит FV дебютирует кровотечениями в детском и молодом возрасте, у ряда больных можно выявить семейный характер кровоточивости, родственные браки в генеалогическом древе. Лабораторным диф-

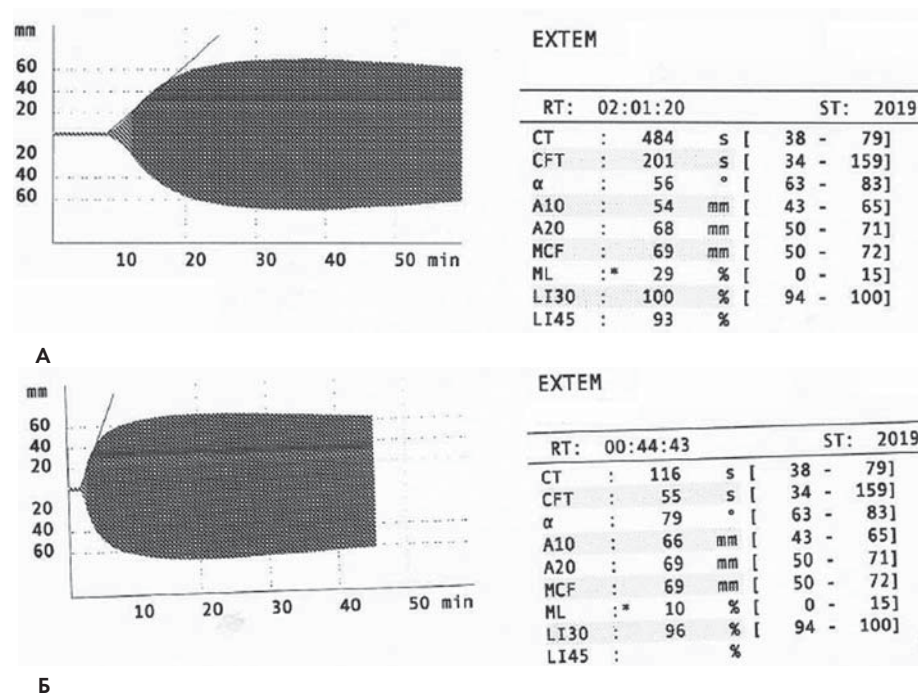


Рисунок 6. Интегральные гемостатические тесты больной И. А. Ротационная тромбоэластометрия (EXTEM) до операции Б. Ротационная тромбоэластометрия (EXTEM) через 30 минут после введения СЗП и концентрата тромбоцитов

Figure 6. Integral hemostatic tests of patient I. A. Rotational thromboelastometry (EXTEM) before surgery. Б. Rotational thromboelastometry (EXTEM) 30 minutes after FFP and platelet concentrate administration

ференциальным диагностическим критерием является отсутствие нормализации АЧТВ в тестах со смешением исследуемой и нормальной донорской плазм (1:1) и измерением остаточной активности FV в единицах Бетезда [20].

Одним из дискуссионных вопросов является корреляция между активностью FV в плазме и интенсивностью геморрагических проявлений. Приведенные в настоящей работе клинические наблюдения демонстрируют соответствие лабораторных данных клиническим проявлениям. Больные в первом и третьем клинических наблюдениях с тяжелой формой FV имели тяжелые клинические проявления с жизнеугрожающими кровотечениями в анамнезе, больная с легкой формой дефицита FV (клиническое наблюдение 2) — легкие клинические проявления. Однако в различных исследованиях показано, что некоторые больные с тяжелой формой дефицита FV (<1 %) могут быть асимптомны или иметь легкой/средней тяжести клинические проявления, в то время как у больных с легкой формой дефицита FV случаются жизнеугрожающие кровотечения [18, 29]. Описан случай, демонстрирующий различные клинические проявления тяжелого дефицита FV у 2 сиблингов. У одного из них заболевание дебютировало в возрасте 3 недель ЖКК, в дальнейшем клинический фенотип характеризовался редким скудным кожно-слизистым геморрагическим синдромом. У его брата заболевание дебютировало с умбиликального кровотечения при рождении, далее в возрасте 3 месяцев стали возникать спонтанные гемартрозы левого коленного сустава, в 4 месяца — субдуральная гема-

тома слева и фронтальная экстрадуральная гематома нетравматического генеза. Больному проводилась профилактическая заместительная гемостатическая терапия СЗП в течение длительного времени [30].

Другим важным клиническим аспектом являются акушерские проблемы. Клиническая картина дефицита FV имеет гендерные отличия, что обусловлено рисками кровопотери во время менструального цикла и родоразрешения у женщин. Причем кровопотеря во время родов является ведущим акушерским осложнением [31], в то время как взаимосвязь дефицита FV и невынашивания беременности остается дискуссионной. М. Naderi и соавт. [11] опубликовали данные о заболевании дефицитом FV в двух областях Южного Ирана (Sistance and Baluchestan Province) численностью 2 700 000 человек. В этих двух областях дефицитом FV страдают 40 человек — 19 женщин и 21 мужчина, причем 8 из 19 женщин имели беременность, у 6 из которых случались один или более спонтанные аборт [11]. В другом исследовании, в которое было включено 5 больных женщин, страдавших тяжелой и средней тяжести формой заболевания, у 3 акушерский анамнез был отягощен невынашиванием беременности [32]. Принимая во внимание эти факты, необходимо гематологическое сопровождение на этапах планирования, ведения беременности, родоразрешения и в послеродовом периоде. Учитывая молодой возраст больных женщин в описанных клинических случаях, ожидаемыми являются вопросы, связанные с планированием семьи и возможной беременностью.

Таким образом, наиболее распространенными наследственными коагулопатиями являются гемофилия и болезнь Виллебранда. Часто редкие наследственные коагулопатии, в том числе наследственный дефицит FV, клинически проявляются маской болезни Виллебранда. Это требует проведения дифференциальной диагностики на основании расширенных параметров коагулограммы. Интегральные гемостатические пробы не являются чувствительными к легкой форме заболевания. Достоверным лабораторным диагностическим критерием является снижение плазменной активности FV. Генетические исследования

не являются рутинными, но могут быть использованы для подтверждения диагноза. Несмотря на соответствие клинических проявлений и тяжести заболевания по лабораторным данным в описанных случаях, степень снижения активности FV не всегда является предиктором клинических проявлений. Больные с наследственным дефицитом FV требуют пожизненного наблюдения гематологом с целью контроля спонтанного или индуцированного травмой геморрагического синдрома, планирования гемостатической терапии при необходимости хирургических вмешательств, ведении беременности и родоразрешении.

Литература

1. Huang J.N., Koerper M.A. Factor V deficiency: a concise review. *Haemophilia*. 2008; 14(6): 1164–9. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01785.x
2. Asselta R., Tenchini M.L., Duga S. Inherited defects of coagulation factor V: the hemorrhagic side. *J Thromb Haemost*. 2006; 4(1): 26–34. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01590.x
3. Asselta R., Peyvandi F. Factor V deficiency. *Semin Thromb Hemost*. 2009; 35(4): 382–9. DOI: 10.1055/s-0029-1225760
4. Duckers C., Simioni P., Rosing J., Castoldi E. Advances in understanding the bleeding diathesis in factor V deficiency. *Br J Haematol*. 2009; 146(1): 17–26. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07708.x
5. Totan M., Albayrak D. Intracranial haemorrhage due to factor V deficiency. *Acta Paediatr*. 1999; 88(3): 342–3.
6. Nicolaes G.A.F., Dahlbäck B. Factor V and Thrombotic Disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2002; 22: 530–8. DOI: 10.1161/01.ATV.0000012665.51263.B7
7. Бочков В.Н., Добровольский А.Б., Кушлинский Н.Е. Под ред. В.А. Ткачука. Клиническая биохимия. 3-е изд., испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 264 с.
8. Mann K.G., Kalafatis M. Factor V: a combination of Dr Jekyll and Mr Hyde. *Blood*. 2003; 101(1): 20–30. DOI: 10.1182/blood-2002-01-0290
9. Corral J., Roldán V., Vicente V. Deep Venous Thrombosis Or Pulmonary Embolism And Factor V Leiden: Enigma Or Paradox. *Haematologica*. 2010; 95(6): 863–6. DOI: 10.3324/haematol.2010.023432
10. Kalafatis M., Mann K/G. The role of the membrane in the inactivation of factor Va by plasmin. Amino acid region 307–348 of factor V plays a critical role in factor Va cofactor function. *J Biol Chem*. 2001; 276(21): 18614–23. DOI: 10.1074/jbc.M007134200
11. Naderi M., Tabibian S., Shamsizadeh M., Dorgalaleh A. Miscarriage and recurrent miscarriage in patients with congenital factor V deficiency: a report of six cases in Iran. *Int J Hematol*. 2016; 103(6): 673–5. DOI:10.1007/s12185-016-1981-7
12. Naderi M., Tabibian S., Alizadeh S. et al. Congenital factor V deficiency: comparison of the severity of clinical presentations among patients with rare bleeding disorders. *Acta Haematol*. 2015; 133(2): 148–54. DOI: 10.1159/000363598
13. Shetty S., Shelar T., Mirgal D. et al. Rare coagulation factor deficiencies: a countrywide screening data from India. *Haemophilia*. 2014; 20(4): 575–81. DOI: 10.1111/hae.12368
14. Owren P.A. Parahaemophilia: haemorrhagic diathesis due to absence of previously unknown clotting factor. *Lancet*. 1947; 249: 446–8.
15. Cripe L.D., Moore K.D., Kane W.H. Structure of the gene for human coagulation factor V. *Biochemistry*. 1992; 31(15): 3777–85.

References

1. Huang J.N., Koerper M.A. Factor V deficiency: a concise review. *Haemophilia*. 2008; 14(6): 1164–9. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01785.x
2. Asselta R., Tenchini M.L., Duga S. Inherited defects of coagulation factor V: the hemorrhagic side. *J Thromb Haemost*. 2006; 4(1): 26–34. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01590.x
3. Asselta R., Peyvandi F. Factor V deficiency. *Semin Thromb Hemost*. 2009; 35(4): 382–9. DOI: 10.1055/s-0029-1225760
4. Duckers C., Simioni P., Rosing J., Castoldi E. Advances in understanding the bleeding diathesis in factor V deficiency. *Br J Haematol*. 2009; 146(1): 17–26. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07708.x
5. Totan M., Albayrak D. Intracranial haemorrhage due to factor V deficiency. *Acta Paediatr*. 1999; 88(3): 342–3.
6. Nicolaes G.A.F., Dahlbäck B. Factor V and Thrombotic Disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2002; 22: 530–8. DOI: 10.1161/01.ATV.0000012665.51263.B7
7. Bochkov V. N., Dobrovolsky A. B., Kushlinsky N. E. V. A. Tkachuk (ed.). Clinical biochemistry. 3-e Izd., Rev. and additional. Moscow: GEOTAR Media, 2008. 264 p. (In Russian).
8. Mann K.G., Kalafatis M. Factor V: a combination of Dr Jekyll and Mr Hyde. *Blood*. 2003; 101(1): 20–30. DOI: 10.1182/blood-2002-01-0290
9. Corral J., Roldán V., Vicente V. Deep Venous Thrombosis Or Pulmonary Embolism And Factor V Leiden: Enigma Or Paradox. *Haematologica*. 2010; 95(6): 863–6. DOI: 10.3324/haematol.2010.023432
10. Kalafatis M., Mann K/G. The role of the membrane in the inactivation of factor Va by plasmin. Amino acid region 307–348 of factor V plays a critical role in factor Va cofactor function. *J Biol Chem*. 2001; 276(21): 18614–23. DOI: 10.1074/jbc.M007134200
11. Naderi M., Tabibian S., Shamsizadeh M., Dorgalaleh A. Miscarriage and recurrent miscarriage in patients with congenital factor V deficiency: a report of six cases in Iran. *Int J Hematol*. 2016; 103(6): 673–5. DOI:10.1007/s12185-016-1981-7
12. Naderi M., Tabibian S., Alizadeh S. et al. Congenital factor V deficiency: comparison of the severity of clinical presentations among patients with rare bleeding disorders. *Acta Haematol*. 2015; 133(2): 148–54. DOI: 10.1159/000363598
13. Shetty S., Shelar T., Mirgal D. et al. Rare coagulation factor deficiencies: a countrywide screening data from India. *Haemophilia*. 2014; 20(4): 575–81. DOI: 10.1111/hae.12368
14. Owren P.A. Parahaemophilia: haemorrhagic diathesis due to absence of previously unknown clotting factor. *Lancet*. 1947; 249: 446–8.
15. Cripe L.D., Moore K.D., Kane W.H. Structure of the gene for human coagulation factor V. *Biochemistry*. 1992; 31(15): 3777–85.

16. Duckers C., Simioni P., Rosing J., Castoldi E. Advances in understanding the bleeding diathesis in factor V deficiency. *Br J Haematol.* 2009; 146(1): 17–26. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07708.x
17. Human Gene Mutation Database (HGMD), www.hgmd.cf.ac.uk
18. Acharya S.S., Coughlin A., Dimichele D.M. North American Rare Bleeding Disorder Study Group. Rare Bleeding Disorder Registry: deficiencies of factors II, V, VII, X, XIII, fibrinogen and dysfibrinogenemias. *J Thromb Haemost.* 2004; 2(2): 248–56.
19. Lak M., Sharifan R., Peyvandi F., Mannucci PM. Symptoms of inherited factor V deficiency in 35 Iranian patients. *Br J Haematol.* 1998; 103: 1067–9.
20. Park Y.H., Lim J.H., Yi H.G. et al. Factor V Deficiency in Korean Patients: Clinical and Laboratory Features, Treatment, and Outcome. *J Korean Med Sci.* 2016; 31(2): 208–13. DOI: 10.3346/jkms.2016.31.2.208
21. Shetty S., Shelar T., Mirgal D. et al. Rare coagulation factor deficiencies: a countrywide screening data from India. *Haemophilia.* 2014; 20(4): 575–81. DOI: 10.1111/hae.12368
22. Peyvandi F., Di Michele D., Bolton-Maggs P.H. et al. Project on Consensus Definitions in Rare Bleeding Disorders of the Factor VIII/Factor IX Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Classification of rare bleeding disorders (RBDs) based on the association between coagulant factor activity and clinical bleeding severity. *J Thromb Haemost.* 2012; 10(9): 1938–43. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04844.x
23. Cao L.J., Wang Z.Y., Su Y.H. et al. Gene analysis of five inherited factor V deficiency cases. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2008; 29(3): 145–8 (In Chinese).
24. Spreafico M., Peyvandi F. Combined FV and FVIII deficiency. *Haemophilia.* 2008; 14(6): 1201–8. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01845.x
25. Patel A.J., Liu H.H., Lager R.A. et al. Successful percutaneous coronary intervention in a patient with combined deficiency of FV and FVIII due to novel compound heterozygous mutations in LMAN1. *Haemophilia.* 2013; 19(4): 607–10. DOI: 10.1111/hae.12128
26. Zhang B. Recent developments in the understanding of the combined deficiency of FV and FVIII. *Br J Haematol.* 2009; 145(1): 15–23. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07559.x
27. Kunitomo H., Miyakawa Y., Okamoto S. Acquired factor V deficiency and mini literature review. *Haemophilia.* 2012; 18(3): e86–7. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2011.02650.x
28. Wiwanitkit V. Spectrum of bleeding in acquired factor V inhibitor: a summary of 33 cases. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2006; 12(4): 485–8. DOI: 10.1177/1076029606293438
29. Mumford A.D., Ackroyd S., Alikhan R. et al. Guideline for the diagnosis and management of the rare coagulation disorders: a United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organization guideline on behalf of the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol.* 2014; 167(3): 304–26. DOI: 10.1111/bjh.13058
30. Frotscher B., Toussaint-Hacquard M., Fouyssac F. et al. Severe factor V deficiency in two brothers with different clinical presentations. *Haemophilia.* 2012; 18(5): e383–5. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2012.02902.x
31. Girolami A.I., Scandellari R., Lombardi A.M. et al. Pregnancy and oral contraceptives in factor V deficiency: a study of 22 patients (five homozygotes and 17 heterozygotes) and review of the literature. *Haemophilia.* 2005; 11(1): 26–30.
32. Younesi M.R., Aligoudarzi S.L. Successful delivery in patients with severe congenital factor V deficiency: a study of five homozygous patients. *Haemophilia.* 2013; 19(5): e318–20. DOI: 10.1111/hae.12210
16. Duckers C., Simioni P., Rosing J., Castoldi E. Advances in understanding the bleeding diathesis in factor V deficiency. *Br J Haematol.* 2009; 146(1): 17–26. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07708.x
17. Human Gene Mutation Database (HGMD), www.hgmd.cf.ac.uk
18. Acharya S.S., Coughlin A., Dimichele D.M. North American Rare Bleeding Disorder Study Group. Rare Bleeding Disorder Registry: deficiencies of factors II, V, VII, X, XIII, fibrinogen and dysfibrinogenemias. *J Thromb Haemost.* 2004; 2(2): 248–56.
19. Lak M., Sharifan R., Peyvandi F., Mannucci PM. Symptoms of inherited factor V deficiency in 35 Iranian patients. *Br J Haematol.* 1998; 103: 1067–9.
20. Park Y.H., Lim J.H., Yi H.G. et al. Factor V Deficiency in Korean Patients: Clinical and Laboratory Features, Treatment, and Outcome. *J Korean Med Sci.* 2016; 31(2): 208–13. DOI: 10.3346/jkms.2016.31.2.208
21. Shetty S., Shelar T., Mirgal D. et al. Rare coagulation factor deficiencies: a countrywide screening data from India. *Haemophilia.* 2014; 20(4): 575–81. DOI: 10.1111/hae.12368
22. Peyvandi F., Di Michele D., Bolton-Maggs P.H. et al. Project on Consensus Definitions in Rare Bleeding Disorders of the Factor VIII/Factor IX Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Classification of rare bleeding disorders (RBDs) based on the association between coagulant factor activity and clinical bleeding severity. *J Thromb Haemost.* 2012; 10(9): 1938–43. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04844.x
23. Cao L.J., Wang Z.Y., Su Y.H. et al. Gene analysis of five inherited factor V deficiency cases. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2008; 29(3): 145–8 (In Chinese).
24. Spreafico M., Peyvandi F. Combined FV and FVIII deficiency. *Haemophilia.* 2008; 14(6): 1201–8. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01845.x
25. Patel A.J., Liu H.H., Lager R.A. et al. Successful percutaneous coronary intervention in a patient with combined deficiency of FV and FVIII due to novel compound heterozygous mutations in LMAN1. *Haemophilia.* 2013; 19(4): 607–10. DOI: 10.1111/hae.12128
26. Zhang B. Recent developments in the understanding of the combined deficiency of FV and FVIII. *Br J Haematol.* 2009; 145(1): 15–23. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07559.x
27. Kunitomo H., Miyakawa Y., Okamoto S. Acquired factor V deficiency and mini literature review. *Haemophilia.* 2012; 18(3): e86–7. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2011.02650.x
28. Wiwanitkit V. Spectrum of bleeding in acquired factor V inhibitor: a summary of 33 cases. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2006; 12(4): 485–8. DOI: 10.1177/1076029606293438
29. Mumford A.D., Ackroyd S., Alikhan R. et al. Guideline for the diagnosis and management of the rare coagulation disorders: a United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organization guideline on behalf of the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol.* 2014; 167(3): 304–26. DOI: 10.1111/bjh.13058
30. Frotscher B., Toussaint-Hacquard M., Fouyssac F. et al. Severe factor V deficiency in two brothers with different clinical presentations. *Haemophilia.* 2012; 18(5): e383–5. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2012.02902.x
31. Girolami A.I., Scandellari R., Lombardi A.M. et al. Pregnancy and oral contraceptives in factor V deficiency: a study of 22 patients (five homozygotes and 17 heterozygotes) and review of the literature. *Haemophilia.* 2005; 11(1): 26–30.
32. Younesi M.R., Aligoudarzi S.L. Successful delivery in patients with severe congenital factor V deficiency: a study of five homozygous patients. *Haemophilia.* 2013; 19(5): e318–20. DOI: 10.1111/hae.12210

Информация об авторах

Яковлева Елена Владимировна*, научный сотрудник, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отдела коагулопатий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: hemophilia2012@mail.ru, тел.: +7 (495) 612-29-12;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6991-7437>

Коняшина Надежда Ивановна, кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики экспресс-лаборатории отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: konyashinan@mail.ru, тел.: +7 (910) 477-58-75

Горгидзе Лана Анзоровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник клинической лабораторной диагностики экспресс-лаборатории отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: lana380@mail.ru, тел.: +7 (985) 021-70-21

Сурин Вадим Леонидович, старший научный сотрудник лаборатории геномной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: vadsurin@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Пшеничникова Олеся Сергеевна, старший научный сотрудник лаборатории геномной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8146>

Полєводова Олеся Алексеевна, врач — анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: polevodova_md@mail.ru, тел.: +7 (495) 612-48-59;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7783-5861>

Спирин Михаил Васильевич, кандидат медицинских наук, врач отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: mvspirin@gmail.com, тел.: +7 (926) 983-11-39
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7048-060X>

Галстян Геннадий Мартинович, доктор медицинских наук, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: gengalst@gmail.com, тел.: +7 (495) 612-48-59;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8818-8949>

Information about the authors

Elena V. Yakovleva*, Researcher, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Coagulopathy Department, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation,
e-mail: hemophilia2012@mail.ru, tel.: +7 (495) 612-29-12;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6991-7437>

Nadezhda I. Konyashina, Cand. Sci. (Med.), Clinical Pathologist, Express Laboratory, Resuscitation and Intensive Care Unit, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation,
e-mail: konyashinan@mail.ru, tel.: +7 (910) 477-58-75

Lana A. Gorgidze, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher in Clinical Pathology, Express Laboratory, Resuscitation and Intensive Care Unit, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation,
e-mail: lana380@mail.ru; tel.: +7 (985) 021-70-21

Vadim L. Surin, Senior Researcher, Laboratory of genetic engineering, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation,
e-mail: vadsurin@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Olesya S. Pshenichnikova, Senior Researcher, Laboratory of genetic engineering, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation,
e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8146>

Olesya A. Polevodova, Intensivist, Resuscitation and Intensive Care Unit, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation,
e-mail: polevodova_md@mail.ru, tel.: +7 (495) 612-48-59;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7783-5861>

Mikhail V. Spirin, Cand. Sci. (Med.), doctor, Resuscitation and Intensive Care Unit, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation,
e-mail: mvspirin@gmail.com, tel.: +7 (926) 983-11-39
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7048-060X>

Gennady M. Galstyan, Dr. Sci. (Med.), Head of the Resuscitation and Intensive Care Unit, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation,
e-mail: gengalst@gmail.com, tel.: +7 (495) 612-48-59;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8818-8949>

Зозуля Надежда Ивановна, доктор медицинских наук, врач-гематолог, заведующая научно-консультативным отделом коагулопатий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: zozulya.n@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7074-0926>

Nadezhda I. Zozulya, Dr. Sci. (Med.), Hematologist, Head of the Scientific and consulting department of coagulopathies, National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation,
e-mail: zozulya.n@blood.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7074-0926>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 08.07.2019

Принята к печати: 12.09.2019

*** Corresponding author**

Received 08 Jul 2019

Accepted 12 Sep 2019

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОДГРУПП A_1 И A_2 АНТИГЕНА А СИСТЕМЫ АВ0: БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОСНОВА И СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ СТРАТЕГИЯ

Головкина Л. Л., Каландаров Р. С., Стремоухова А. Г., Калмыкова О. С., Пушкина Т. Д., Сурин В. Л., Пшеничникова О. С., Николаева Т. Л., Оловникова Н. И.*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
125167, Москва, Россия
Лаборатория трансфузиологической иммуногематологии
Лаборатория безопасности гемотрансфузий
Лаборатория генной инженерии
Лаборатория физиологии кроветворения

РЕЗЮМЕ

Введение. Определение слабых вариантов антигена А и их дифференциация необходимы для правильного подбора эритроцитсодержащих сред при гемотрансфузиях. Для этого в сочетании с реактивами анти-А, которые одинаково реагируют с антигенами A_1 и A_2 , применяются селективные реактивы анти- A_1 , реагирующие только с антигеном A_1 . Поскольку внутри самих подгрупп наблюдается вариабельность экспрессии антигена А, а установленного стандарта для реагентов и методик не существует, трактовка полученных результатов зачастую вызывает затруднения.

Цель: создать стратегию определения вариантов антигена А с применением доступных реагентов в реакции агглютинации.

Методы. Сравнение эффективности четырех анти- A_1 - и двух анти-Н-реагентов проведено на 23 образцах крови с группой A_2 и A_2B и контрольных образцах A_1 и A_1B . Использовались два типа анти- A_1 -реагентов: лектин *Dolychos biflorus* и моноклональные антитела. Все реагенты предназначались для реакции прямой агглютинации. Принадлежность эритроцитов к подгруппе A_2 была подтверждена генетическим анализом.

Результаты. Показано, что анти- A_1 -реагенты не взаимодействовали с эритроцитами A_2B , но часто реагировали с эритроцитами A_2 . Сила реакции с эритроцитами A_2 сильно варьировала и была слабее, чем с A_1 -эритроцитами, однако вызывала затруднения в установлении подгруппы. Одновременное тестирование с реагентом анти-Н позволяло сделать однозначный вывод о принадлежности крови к подгруппе: сильная реакция указывала на A_2 , отрицательная или слабая — на A_1 . У двух доноров было отмечено расхождение результатов серологических и молекулярных методов исследования: серологически была определена подгруппа A_3 , генотипирование выявило аллель ABO^*A_1 . В обоих случаях прямое секвенирование показало комбинацию мутантных аллелей, которая дает фенотип A_3 . При использовании коммерческих наборов для генотипирования методом полимеразной цепной реакции следует учитывать, что праймеры подобраны к наиболее часто встречающимся вариантам и не могут выявить все мутации гена ABO .

Заключение. Надежная диагностика подгруппы A_2 серологическими методами возможна с использованием лектина или моноклональных антител анти- A_1 в сочетании с анти-Н моноклональным реагентом.

Ключевые слова: антиген А, подгруппы A_1 и A_2 , лектин анти- A_1 , моноклональные антитела анти- A_1 , моноклональные антитела анти-Н

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Головкина Л.Л., Каландаров Р.С., Стремоухова А.Г., Калмыкова О.С., Пушкина Т.Д., Сурин В.Л., Пшеничникова О.С., Николаева Т.Л., Оловникова Н.И. Дифференциация подгрупп A_1 и A_2 антигена А системы АВ0: биологическая основа и серологическая стратегия. *Гематология и трансфузиология*. 2019; 64(4): 504–515. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-504-515>

DIFFERENTIATION OF THE A₁ AND A₂ SUBGROUPS OF THE ABO SYSTEM: BIOLOGICAL BACKGROUND AND SEROLOGICAL STRATEGY

Golovkina L. L., Kalandarov R. S., Stremoukhova A. G., Kalmykova O. S., Pushkina T. D., Surin V. L., Pshenichnikova O. S., Nikolaeva T. L., Olovnikova N. I.*

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation
Laboratory for Transfusion Immunohematology
Laboratory for Blood Transfusion Safety
Laboratory for Genetic Engineering
Laboratory for Physiology of Hematopoiesis

ABSTRACT

Introduction. The identification of weak variants of the A antigen, as well as their differentiation, is necessary for the proper selection of erythrocyte-containing media for blood transfusions. To this end, selective anti-A₁ reagents that react only with the A₁ antigen are used in combination with anti-A reagents reacting equally with the A₁ and A₂ antigens. Given that the expression of the A antigen varies within the subgroups and there is no established standard for reagents and procedures, the interpretation of the obtained results presents difficulties.

Aim. To develop a strategy for identifying the variants of the A antigen using available reagents in an agglutination reaction.

Methods. We compared the effectiveness of four anti-A₁ and two anti-H reagents using 23 blood samples (groups A₂ and A₂B) and control samples (groups A₁ and A₁B). Two types of anti-A₁ reagents were employed: *Dolychos biflorus* lectin and monoclonal antibodies. All of the reagents were designed for direct agglutination reactions. Belonging of the erythrocytes to the A₂ subgroup was confirmed using genetic analysis.

Results. It is shown that anti-A₁ reagents did not interact with A₂B red blood cells and often reacted with A₂ red blood cells. The strength of the reaction with A₂ red blood cells varied greatly and was weaker than with A₁ red blood cells; however, it hindered the subgroup identification. Simultaneous tests conducted using an anti-H reagent allowed the authors to draw an unambiguous conclusion about blood belonging to a subgroup: a strong reaction indicated the A₂ subgroup, whereas a negative or weak reaction indicated the A₁ subgroup. A discrepancy was noted between the results obtained for two donors using serological and molecular methods: the A₃ subgroup was identified serologically, whereas genotyping revealed the ABO**A₁* allele. In both cases, direct sequencing showed a combination of mutant alleles giving the A₃ phenotype. When using commercial kits to perform genotyping analysis through a polymerase chain reaction, it should be taken into consideration that primers are matched to the most common variants and cannot detect all mutations of the ABO gene.

Conclusion. Reliable identification of the A₂ subgroup through serological methods is possible when using lectin or monoclonal anti-A₁ antibodies in combination with a monoclonal anti-H reagent.

Keywords: A antigen, A₁ and A₂ subgroups, anti-A₁ lectin, monoclonal anti-A₁ antibodies, monoclonal anti-H antibodies

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

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Golovkina L.L., Kalandarov R.S., Stremoukhova A.G., Kalmykova O.S., Pushkina T.D., Surin V.L., Pshenichnikova O.S., Nikolaeva T.L., Olovnikova N.I. Differentiation of the A₁ and A₂ subgroups of the ABO system: Biological background and serological strategy. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2019; 64(4):504–515 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-504-515>

Введение

Современная концепция безопасности предполагает, что лицам со слабыми вариантами антигена А (A_2 , A_3 и др.), нуждающимся в частых трансфузиях эритроцитосодержащих компонентов, следует переливать донорские эритроциты, не содержащие антиген A_1 . Подобный подход обусловлен тем, что при трансфузии эритроцитов A_1 больным с антигеном A_2 или другими слабыми вариантами возможно образование аллоиммунных анти- A_1 -антител, а если такие антитела уже присутствуют, то существует риск развития посттрансфузионных реакций и осложнений [1–3]. У лиц с ослабленной экспрессией антигена А в крови могут присутствовать природные анти- A_1 -антитела (экстраагглютинины). Анти- A_1 -экстраагглютинины имеют 1–2 % лиц с подгруппой A_2 и 25 % лиц с подгруппой A_2B [4]. Иногда анти- A_1 можно обнаружить в сыворотке лиц с другими слабыми подгруппами антигена А. Экстраагглютинины анти- A_1 могут вызывать расхождения в результатах АВ0 тестирования и пробы на индивидуальную совместимость. Реципиентам с иррегулярными анти- A_1 -антителами рекомендуется переливать эритроциты, не несущие антиген A_1 [5]. На практике это правило часто распространяют на всех реципиентов с подгруппой A_2 , особенно нуждающихся в частых трансфузиях эритроцитосодержащих компонентов. Экстраагглютинины анти- A_1 имеют, как правило, низкие титр и авидность, поэтому их не всегда можно обнаружить при исследовании сыворотки со стандартными эритроцитами в процессе перекрестного АВ0-тестирования. В связи с этим проблема своевременного выявления больных со слабыми вариантами антигена А остается актуальной.

Антиген А характеризуется высоким полиморфизмом, т.е. представлен различными вариантами (подгруппами), которые кодируются разными аллелями гена ABO^*A . Генетические основы системы АВ0, а также молекулярно-генетические события, приводящие к формированию разнообразных аллельных вариантов гена ABO^*A , подробно освещены в обзорах [6–10]. Две основные подгруппы антигена А — это A_1 и A_2 . Частота встречаемости подгрупп A_1 и A_2 различна в разных популяциях. У лиц европеоидной расы среди групп А и АВ около 80–88 % принадлежат к A_1 или A_1B , а остальные 12–20 % — к A_2 или A_2B [11, 12]. Частота встречаемости антигена A_2 среди лиц группы А составляет 14,7–17,8 %; частота фенотипа A_2B среди лиц группы АВ составляет 23,5–26,2 % [13]. Выраженный дисбаланс существует и в других популяциях [14]. Одной из причин такого дисбаланса может быть разное фенотипическое проявление аллеля $A(R101)$ в группах А и АВ: гетерозиготный генотип $A(R101)/0$ экспрессируется как A_1 -фенотип, а гетерозиготный генотип $A(R101)/B$ — как A_2B -фенотип, что приводит к возрастанию частоты A_2B по сравнению с A_2 [15].

Важнейшим различием между A_1 и A_2 фенотипами является существенная разница в количестве экспрессируемых на эритроците эпитопов антигена А. На эритроцитах A_1 их около 10^6 , что примерно в четыре раза больше, чем на эритроцитах A_2 [16]. Подгруппы слабее A_2 (A_3 , A_x , A_m , A_{el}) встречаются редко и характеризуются дальнейшим уменьшением числа сайтов антигена А на эритроцитах. Подгруппы часто обнаруживают либо по очень слабой агглютинации, либо по расхождению между результатами прямого и обратного тестирования эритроцитов при перекрестном определении группы АВ0.

Помимо количественных, у эритроцитов A_1 и A_2 есть качественные различия. У лиц с группами крови A_2 или A_2B могут вырабатываться анти- A_1 -антитела, однако никогда не бывает наоборот. Это означает, что эритроциты A_2 отличаются от A_1 отсутствием какой-то структуры. Серологическое разделение было подтверждено генетически, когда было показано существование двух различных ферментов [17]. Фермент A_2 -гликозилтрансфераза обладает более низкой активностью и имеет более узкую субстратную специфичность по сравнению с ферментом A_1 -гликозилтрансферазой.

Эритроциты A_1 и A_2 одинаково сильно реагируют с современными реагентами анти-А в методе прямой агглютинации. Различие между A_1 - и A_2 -эритроцитами может быть установлено путем тестирования с анти- A_1 -лектином и моноклональными антителами анти- A_1 . Эти реагенты вызывают агглютинацию эритроцитов A_1 и A_1B , не реагируют с эритроцитами A_2B , но могут вызывать слабую агглютинацию эритроцитов A_2 . Установленного стандарта для реагентов и метода не существует, поэтому нередко несоответствия в результатах, полученных с применением различных реагентов и в разных лабораториях [20].

Целью настоящей работы было создать стратегию определения вариантов антигена А с применением доступных реагентов в реакции агглютинации.

Материалы и методы

В исследовании использовали образцы крови доноров, полученные в отделении заготовки крови ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ после получения информированного согласия; все тесты проводили после завершения иммуносерологического тестирования и исследования на патогены. Материалом исследований были образцы крови 23 человек со слабым вариантом антигена А, из которых у 16 человек была группа крови A_2 , у 5 — группа A_2B , у 2 — серологически была определена группа A_3 , а также 12 образцов крови с антигеном A_1 в качестве контроля (из них у 6 человек была группа крови А и у 6 — группа АВ).

Применяли следующие методы.

Перекрестное определение группы крови системы АВ0 в реакции агглютинации на плоскости с ис-

пользованием Эритротест Цоликлонов анти-А (сер. 423R и 433F) и анти-В (сер. 424R) (ООО «Гематолог», Москва) и стандартных эритроцитов групп А1, В, 0 (BioRad, США). Активными компонентами Цоликлонов являются моноклональные антитела класса IgM мыши: клоны А-90/16 и Birma (Цоликлон анти-А вариант R), клоны А-90/16, А-86/3 и 9113D10 (Цоликлон анти-А вариант F), клон В-85/2-В8 (Цоликлон анти-В вариант R).

Определение подгруппы антигена А в реакции агглютинации на плоскости с использованием моноклонального реагента Цоликлона анти-А₁ (сер. 261) (клоны 1Е3 и 5Е6), Эритротест анти-А₁ лектина (сер. 259), Цоликлона анти-Нкра (сер. 735) (клон Н-89/8) (ООО «Гематолог», Москва); анти-А1 лектина (сер. 020317В), анти-Н (А2) (сер. 080517С) (клон 10934С11) (ImuMed Antitoxin, Германия); анти-А₁-лектина (сер. 118100201) (Bio-Rad, США). Силу реакции оценивали по 4-крестовой системе через 5 мин после смешивания эритроцитов с реагентом в соответствии с таблицей 1.

ДНК-анализ гена *ABO*A* выполняли двумя методами: полимеразной цепной реакцией (ПЦР) и прямым секвенированием. Геномную ДНК выделяли с помощью реактивов фирмы BAG (Германия) по методике производителя и по стандартной методике депротеинизации фенолом после лизиса с протеиназой К. Концентрацию и чистоту ДНК определяли на спектрофотометре. Одна оптическая единица (OD) соответствовала концентрации ДНК 50 нг/мкл. Чистота ДНК, определяемая по отношению показателей при 260 и 280 нм (OD 260/280), составляла 1,6–1,8, концентрация конечной ДНК — 50–100 нг/мкл.

ПЦР проводили с помощью праймеров для выявления вариантов генов системы ABO (ABO-variant kit) фирмы BAG (Германия). Детекцию полученных результатов осуществляли посредством электрофореза продуктов амплификации в 2%-ном агарозном геле, содержащем бромистый этидий (1 мкг/мл) в ТВЕ-буфере. Результаты визуализировали в ультрафиолетовом све-

те ($\lambda = 310$ нм) при помощи транс-иллюминатора в виде полос ярко-оранжевого цвета. Наличие полос амплификации внутреннего положительного контроля свидетельствовало о корректности проведенной ПЦР. Прямое секвенирование проводили по методу Сэнгера с помощью набора реактивов ABIPRISM®BigDyeTMT terminator v.3.1. У всех образцов секвенировали экзоны 6 и 7 гена *ABO*A*.

Результаты

В работе представлены результаты исследования образцов эритроцитов со слабыми вариантами антигена А с помощью различных реагентов — анти-А₁-лектина, анти-А₁-моноклональных антител и дополнительного реагента — анти-Н-моноклональных антител для демонстрации возможности дифференцирования подгрупп антигена А серологическими методами. Принадлежность эритроцитов к той или иной подгруппе была подтверждена генетическим тестированием.

Детальные результаты исследований показаны в таблице 2. Результаты реакции с Цоликлонами анти-А и анти-В приведены для демонстрации групповой принадлежности (столбцы 1–3). Группу АВ0 подтверждали перекрестным тестированием, то есть реакцией сыворотки со стандартными эритроцитами А, В, 0 (данные не приведены). Цоликлоны анти-А с индексами R и F отличались по составу и содержали продукты различных клонов. Оба реагента одинаково активно реагировали с подгруппами А₁, А₂ и А₃ (столбцы 1–2), что соответствовало требованиям к реагентам для рутинного тестирования.

В таблице 2 приведено сравнение четырех различных анти-А₁-реагентов, три из которых представляли собой раствор лектина *Dolichos biflorus* (столбцы 5–7) и один реагент, Цоликлон анти-А₁, был смесью двух моноклональных антител (столбец 4). Результаты эксперимента и лабораторная практика показали, что все анти-А₁-реагенты не взаимодействовали

Таблица 1. Оценка силы реакции гемагглютинации
Table 1. Strength of haemagglutination reaction

Сила реакции Strength of agglutination	Вид агглютинации Agglutination type
4+	Полная агглютинация, т.е. один плотный агглютинат Complete agglutination, i.e. one solid agglutinate
3+	Смесь нескольких крупных и средних агглютинатов Several large and medium agglutinates
2+	Смесь средних и мелких агглютинатов A mixture of medium-sized and small agglutinates
1+	Мелкие агглютинаты Small agglutinates
+/-	Очень мелкая агглютинация на фоне свободных эритроцитов (смешанная агглютинация) Weak granularity in the red cell suspension (mixed-field)
-	Отсутствие агглютинации No agglutination

Таблица 2. Результаты серологического и генетического определения подгруппы антигена A; сравнение эффективности и специфичности анти-A1 реантенов
Table 2. The results of the serological and genetic determination of the subgroup of antigen A; comparison of the efficacy and specificity of anti-A1 reagents

Эритроциты донора/ больного Red blood cells of donor/patient (№)	Результаты анализа (сила агглютинации) Test results (agglutination strength)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
	Эритрогест Цоликлон анти-А (R) Erythrotest Zolicleone Anti-A (R)	Эритрогест Цоликлон анти-А (F) Erythrotest Zolicleone Anti-A (F)	Эритрогест Цоликлон анти-В Erythrotest Zolicleone Anti-B	Эритрогест Цоликлон анти-А1 моно Erythrotest Zolicleone Anti-A 1 mono	Эритрогест анти-А1 лектин Erythrotest Anti-A1 lectin	Bio-Rad Anti-A1 Lectin	ImuMed Anti-A1 Lectin	Эритрогест Цоликлон анти-Нкра Erythrotest Zolicleone Anti-H)	ImuMed Anti-H	ДНК- анализ генов ABO DNA analysis of ABO genes	ABO-группа ABO blood group
110742	4+	4+	-	1+	3+	2+	2+	4+	4+	A ² O ²	A ₂
110812	4+	4+	-	-	-	2+	2+	4+	4+	A ² O ¹	A ₂
111338	4+	4+	-	-	1-2+	1+	1+	4+	4+	A ² O ¹	A ₂
111271	4+	4+	-	1+	2+	3+	3+	4+	4+	A ² O ¹	A ₂
111293	4+	4+	-	-	±	2+	2+	4+	4+	A ² O ¹	A ₂
111655	4+	4+	-	-	-	1+	1+	4+	4+	A ² O ¹	A ₂
111675	4+	4+	-	±	-	2+	2+	4+	4+	A ² O ¹	A ₂
111564	4+	4+	-	±	2+	3+	3+	4+	4+	A ² O ¹	A ₂
111370	4+	4+	-	-	±	2-3+	2-3+	4+	4+	A ² O ^{1v}	A ₂
111349	4+	4+	-	-	±	2-3+	2-3+	4+	4+	A ² O ^{1v}	A ₂
111372	4+	4+	-	±	±	3+	2+	4+	4+	A ² O ^{1v}	A ₂
111620	4+	4+	-	±	±	2+	2+	4+	4+	A ² O ^{1v}	A ₂
111912	4+	4+	-	-	±	1-2+	1-2+	4+	4+	A ² O ^{1v}	A ₂
111878	4+	4+	-	-	1+	2+	2+	4+	4+	A ² O ^{1v}	A ₂
112155	4+	4+	-	±	1+	1-2+	1-2+	4+	4+	A ² O ^{1v}	A ₂
112126	4+	4+	-	-	1+	1-2+	1-2+	4+	4+	A ² O ^{1v}	A ₂
110718	4+	4+	4+	-	-	-	-	1+	1+	A ² B ¹	A ₂ B
110828	4+	4+	4+	-	-	-	-	1+	1+	A ² B ¹	A ₂ B
111625	3+	3+	4+	-	-	-	-	±	-	A ² B ¹	A ₂ B
111378	4+ медленно	4+ медленно	4+	-	-	-	-	1+	-	A ² B ¹	A ₂ B
111595	4+	4+	4+	-	-	1+	-	±	±	нд np	A ₂ B
112067	+2	+2	-	-	-	-	-	4+	4+	A ¹ O ¹	A ₃
111800	+2	+2	-	-	-	-	-	4+	4+	A ¹ O ¹	A ₃

Эритроциты донора/ больного Red blood cells of donor/patient (N ^o)	Результаты анализа (сила агглютинации) Test results (agglutination strength)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Эритроцит Цоликлон анти-А (R) Erythrotest Zolicleone Anti-A (R)	Эритроцит Цоликлон анти-А (F) Erythrotest Zolicleone Anti-A (F)	Эритроцит Цоликлон анти-В Erythrotest Zolicleone Anti-B	Эритроцит Цоликлон анти-А1 моно Erythrotest Zolicleone Anti-A 1 mono	Эритроцит анти-А1 лектин Erythrotest Anti-A1 lectin	Bio-Rad Anti-A1 Lectin	ImuMed Anti-A1 Lectin	Эритроцит Цоликлон анти-Нкра Erythrotest Zolicleone Anti-H)	ImuMed Anti-H	ДНК- анализ генов АВО DNA analysis of ABO genes
111668	4+	4+	-	3+	4+	4+	4+	±	-	нд np
111617	4+	4+	-	3+	4+	4+	4+	±	-	нд np
111607	4+	4+	-	3+	4+	4+	4+	±	-	нд np
111667	4+	4+	-	3+	4+	4+	4+	1+	-	нд np
111586	4+	4+	-	3+	4+	4+	4+	1+	-	нд np
111616	4+	4+	-	3+	4+	4+	4+	1+	-	нд np
112033	4+	4+	4+	2+	3+	4+	4+	-	-	нд np
112164	4+	4+	4+	2+	3+	4+	4+	-	-	нд np
112117	4+	4+	4+	3+	3+	4+	4+	-	-	нд np
111649	4+	4+	4+	2+	3+	4+	4+	±	-	нд np
111659	4+	4+	4+	2+	3+	4+	4+	±	-	нд np
111350	4+	4+	4+	3+	3+	4+	4+	-	-	A ^B A ^B

Примечание: нд — генотипирование не проводили; O¹, O^{1v}, O² — аллельные варианты гена O.

Note: np — genotyping not performed; O¹, O^{1v}, O² — allelic variants of the O gene.

с эритроцитами A_2B , но часто реагировали с эритроцитами A_2 . Лектины анти- A_1 производства фирм BioRad и ImuMed (Antitoxin) вызывали крупную агглютинацию A_1 - и A_1B -эритроцитов, но также явно реагировали (на 1+ — 2+) с большинством образцов эритроцитов A_2 . Эта реакция была существенно слабее, чем с A_1 -эритроцитами, однако могла ввести в заблуждение, особенно при отсутствии положительных (A_1) и отрицательных (A_2) контрольных образцов (эритроцитов A_2 нет в доступных панелях стандартных эритроцитов). Моноклональный реагент анти- A_1 реагировал с A_2 -эритроцитами более избирательно: сила реакции с эритроцитами A_2 была слабой (на 1+), но он менее активно реагировал и с эритроцитами A_1 и A_1B — агглютинация начинала формироваться позднее, и сила реакции была не выше 3+.

Реакция с двумя анти-Н-моноклональными реагентами разных производителей была идентичной (столбцы 8–9): отрицательной или слабой с эритроцитами A_1 и ярко выраженной со всеми образцами A_2 .

На рисунке 3 показано на примере четырех образцов эритроцитов A_1 , A_2 , A_1B и A_2B , как выглядит реакция на плоскости с набором реагентов, необходимых для установления подгруппы антигена А.

В серологическое исследование были включены образцы крови доноров, которым был проведен АВ0 (столбец 10) ДНК-анализ с использованием праймеров

фирмы BAG для выявления вариантных антигенов А, который подтвердил наличие аллеля ABO^*A_2 у 21 донора эритроцитов. В двух случаях серологически была определена подгруппа A_3 (на плоскости наблюдалась замедленная агглютинация на 2+ на фоне свободных эритроцитов, в гелевом методе отмечали расслоение эритроцитов в пробирке), однако генотипирование выявило аллель ABO^*A_1 . Прямым секвенированием ДНК доноров этих образцов эритроцитов были идентифицированы аллели $ABO^*A2.05$ и $ABO^*A2.06$.

Обсуждение

Антигены групп крови систем АВ0 являются углеводами (карбогидратами), то есть структурами, которые формируются в результате биохимических процессов с участием гликозилтрансфераз. Гены всех углеводных антигенов, в том числе А и В, кодируют гликозилтрансферазы — ферменты, которые переносят конкретные сахара на углеводную цепь-предшественник и формируют соответствующий антиген [21]. Предшественником для синтеза антигенов А и В является антиген Н, к которому А-гликозилтрансфераза присоединяет N-ацетилгалактозамин (GalNAc), а В-гликозилтрансфераза присоединяет галактозу (Gal) (рис. 1). На эритроцитах группы 0 присутствует большое количество антигена Н, неконвертированного в А- и/или В-антигены. Синтез А- и/или В-антигенов

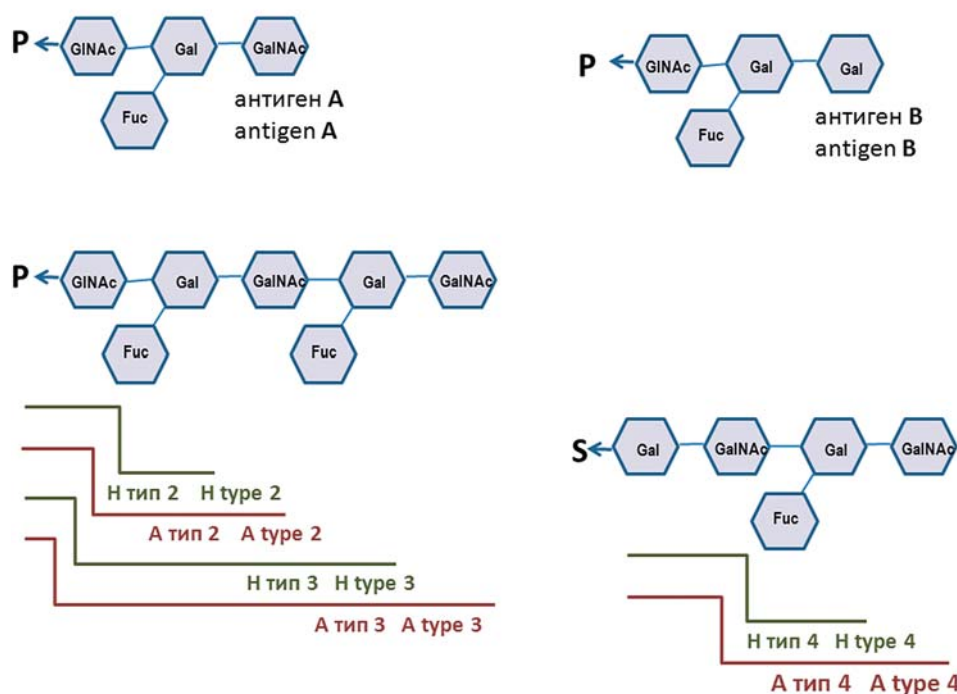


Рисунок 1. Структура антигенов А и В, типы олигосахаридных Н-цепей предшественников. GlcNAc — N-ацетилглюкозамин; Gal — галактоза; Fuc — фукоза; GalNAc — N-ацетилгалактозамин. Типы цепей 2–4 являются эндогенными, тип 1 (не показан) может адсорбироваться на эритроциты из плазмы. Типы цепей различаются не только составом, но и положением гликозидной связи между сахарами (α или β ; 1–3, 1–4). Полисахаридные цепи соединены с протеинами (Р) или сфинголипидами (S) мембраны эритроцита

Figure 1. Structure of the A and B antigens; types of oligosaccharide precursor H-chains/ GlcNAc — N-acetylglucosamine; Gal — galactose; Fuc — fucose; GalNAc — N-acetyl-galactosamine. Chain types 2–4 are endogenous, type 1 (not shown) can be adsorbed onto red blood cells from plasma. The types of chains differ in composition, as well as in the position of the glycosidic bond between sugars (α or β ; 1–3, 1–4). Polysaccharide chains are linked to the proteins (P) or sphingolipids (S) of the erythrocyte membrane

приводит к снижению количества антигена Н на поверхности эритроцита. Таким образом, экспрессия антигенов А и/или В и экспрессия антигена Н обратно пропорциональны.

Углеводные Н-цепи имеют различное биохимическое строение. На эритроцитах могут присутствовать четыре типа Н-цепей, на которых формируются соответственно 4 типа антигена А [22–24] (рис. 1). Нумерация подгрупп антигена А (A_1 , A_2 , A_3) и цифровые обозначения типов углеводной цепи (типы 1, 2, 3, 4) не связаны между собой. Тип 1 Н-цепей синтезируется эпителиальными клетками и является предшественником растворимых антигенов, которые обнаруживаются в слюне или плазме у лиц «секреторов». На эритроцитах такие антигены адсорбируются из плазмы. Эндогенные эритроцитарные типы Н-цепей — это типы 2, 3 и 4. На эритроцитах A_1 экспрессируются все типы антигена А. На A_2 - и A_2B -эритроцитах присутствует антиген А, представленный на Н-цепях типа 2. Показано, что ключевым отличием фенотипов A_1 и A_2 является различная экспрессия антигена А типов 3 и 4: тип 3 отсутствует на эритроцитах A_2B и слабо выражен на эритроцитах A_2 , тип 4 полностью отсутствует на эритроцитах A_2 и A_2B [25] (рис 2). Эти отличия связаны с тем, что активная A_1 -гликозилтрансфераза эффективно конвертирует Н вещество в А антиген и переносит GalNAc на Н-цепь любого типа, в то время как A_2 -гликозилтрансфераза имеет субстратные ограничения и не способна прикреплять иммунодоминантные сахара на Н-цепи типа 3 и 4.

Основным реагентом, используемым для дифференциации подгрупп, является анти- A_1 -лектин. Он представляет собой экстракт из семян бобового растения *Dolichos biflorus*. Экстракт реагирует с обеими подгруппами А эритроцитов, но при нужном разведении проявляет преимущественно анти- A_1 -активность. Другой анти- A_1 -диагностиком, Цоликлон анти- A_1 , представляет собой комбинацию двух моноклональных анти- A_1 -антител. Как показывают данные, представленные в таблице 2, и лектины, и моноклональные антитела могут вызывать агглютинацию некоторых образцов эритроцитов A_2 , причем сила агглютинации варьирует. Было установлено, что анти- A_1 -моноклональные антитела, входящие в состав Цоликлона, реагируют с антигеном А, экспрессированным на Н-цепях типа 3 и 4 [25]. Эти структуры присутствуют на эритроцитах A_1 , а на эритроцитах A_2 их либо очень мало, либо они не обнаруживаются вообще (рис. 2). Зная эпитопную специфичность анти- A_1 -моноклональных антител, можно предполагать, что Цоликлон анти- A_1 выявляет на эритроцитах A_2 слабо экспрессированные детерминанты антигена А типа 3, создавая видимость неспецифической реакции. Такая проблема не возникает при тестировании эритроцитов группы A_2B , поскольку сильная В-трансфераза конкурирует со слабой A_2 -трансферазой и утилизирует общие Н-предшественники.

Полезным реагентом для подтверждения подгруппы является анти-Н-реагент. Активная A_1 -гликозилтрансфераза превращает в антиген А существен-

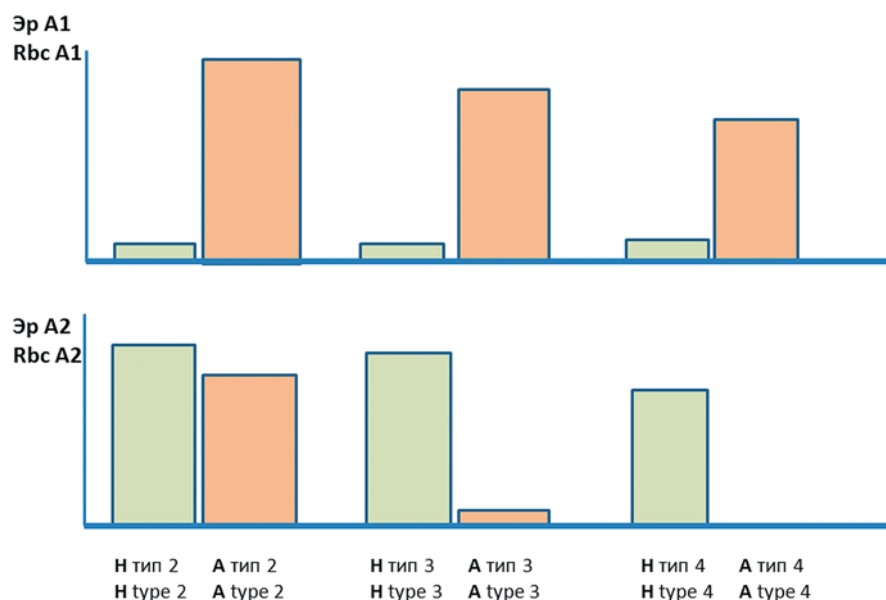


Рисунок 2. Количественные и качественные различия A_1 - и A_2 -эритроцитов.

Высота столбцов демонстрирует относительное количество Н- и А-антигенных детерминант на мембранах эритроцитов. Сильная A_1 -трансфераза активно утилизирует молекулы Н-антигена (верхняя панель), превращая их в антиген А, в то время как трансфераза A_2 оставляет существенное количество антигена Н, не конвертированного в антиген А (нижняя панель). Эр — эритроциты

Figure 2. Quantitative and qualitative differences between A_1 and A_2 red blood cells. The height of the columns denotes the relative amount of H and A antigenic determinants on the membranes of red blood cells. The strong A_1 transferase actively utilizes the molecules of the H antigen (upper panel) turning them into the A antigen, while the A_2 transferase leaves a significant amount of the H antigen not converted to the A antigen (bottom panel). RBCs — red blood cells

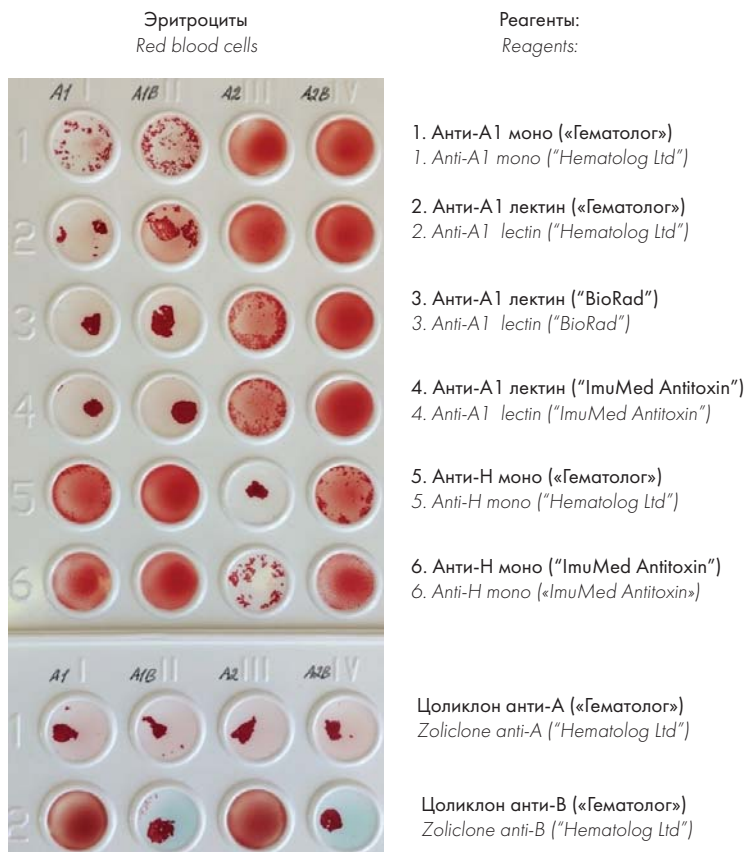


Рисунок 3. Реакция агглютинации на плоскости эритроцитов A_1 , A_1B , A_2 и A_2B с реагентами анти-A, анти-B, анти- A_1 и анти-H (фото). В рядах 1–4 показана реакция агглютинации эритроцитов с различными анти- A_1 реагентами. Отчетливо видно, что анти- A_1 лектины агглютинируют эритроциты A_2 , однако сила агглютинации заметно слабее, чем с эритроцитами A_1 . Ряды 5–6 демонстрируют, что анти-H реагенты сильно реагируют с эритроцитами A_2 и практически не реагируют с эритроцитами A_1 . Ряды 7–8, агглютинация с цоликлонами анти-A и анти-B, приведена для подтверждения группы крови

Figure 3. Slide agglutination of A_1 , A_1B , A_2 and A_2B red blood cells using anti-A, anti-B, anti- A_1 and anti-H reagents (photo). Rows 1–4 show the agglutination of red blood cells using various anti- A_1 reagents. The figure clearly shows that anti- A_1 lectins agglutinate A_2 red blood cells; however, the strength of agglutination is noticeably weaker than with A_1 red blood cells. Rows 5–6 demonstrate that anti-H reagents strongly react with A_2 red blood cells and practically do not react with A_1 red blood cells. In rows 7–8, the agglutination reaction using anti-A and anti-B Zoliclones is given to confirm the blood group

но больше молекул Н, чем A_2 -гликозилтрансфераза. Таким образом, содержание антигена Н на эритроцитах A_1 ниже, чем на эритроцитах A_2 , и поэтому анти-Н-реагенты практически не агглютинируют A_1 -эритроциты, но дают сильную реакцию с A_2 -эритроцитами. В таблице 2 и на рисунке 3 видно, как четко различают подгруппы антигена А все анти-Н-реагенты. Реагент компании ImuMed называется анти-Н (A_2), однако мишенью антител является антиген Н, а дополнительная подпись в скобках (A_2) — это скорее указание к применению. В настоящей работе были использованы только моноклональные анти-Н-реагенты. Экстракт из *Ulex europaeus* также выявляет антиген Н и может применяться с той же целью.

Таким образом, в рутинной практике для дифференциации подгрупп A_1 и A_2 в большинстве случаев достаточно двух реагентов: анти-А и анти- A_1 . Моноклональные реагенты анти-А одинаково надежно выявляют A_1 и A_2 и четко реагируют с эритроцитами A_3 , а реагенты анти- A_1 при необходимости позволяют дифференцировать A_1 от A_2 и более слабых подгрупп. Моноклональный реагент Цоликлон анти- A_1 явля-

ется адекватной заменой лектину анти- A_1 . В случае сомнительного результата реакции эритроцитов с анти- A_1 -реагентом следует провести тестирование с реагентом анти-Н: сильная реакция укажет на A_2 , отрицательная или слабая — на A_1 .

У двух доноров в настоящем исследовании было отмечено расхождение результатов серологических и молекулярных методов: серологически была определена подгруппа A_3 , генотипирование методом ПЦР выявило аллель ABO^*A_1 . Прямое секвенирование ДНК показало сочетание мутантных аллелей, которое проявляет себя как фенотип A_3 [26]. Праймеры наборов A-variant Type (фирмы BAG) подобраны к наиболее часто встречающимся вариантам и не могут выявить все мутации гена ABO . За очевидными результатами генотипирования могут маскироваться мутантные аллели, что и наблюдалось в двух образцах.

Очевидно, что поиск генетических разновидностей антигена А представляет интерес для исследования эволюции гена, описания новых или редких вариантов [27], но в практической трансфузиологии генетическое типирование каждого реципиента со сла-

бым антигеном А затруднительно и нерационально. Кроме того, результаты генетического анализа позволяют лишь предсказать наличие антигена; окончательное решение принимается на основе данных серологического исследования, как в приведенном выше случае. Тем не менее в литературе предлагается использовать ДНК-анализ как подтверждающий

тест в тех случаях, когда у здоровых доноров со слабой подгруппой антигена А не совпадают результаты перекрестного АВ0-типирования, и компонент крови при этом бракуется. Авторы считают, что уточнение группы с помощью ДНК-анализа позволит избежать нерациональной отбраковки таких компонентов [28].

Литература

1. Дашкова Н.Г., Рагимов А.А., Асоскова Т.К. Значение изоантигена А2 и иммунных анти-А1 антител в трансфузиологии. *Анестезиология и реаниматология*. 2009; 6: 62–4.
2. Helmich F., Baas I., Ligthart P. et al. Acute hemolytic transfusion reaction due to a warm reactive anti-A1. *Transfusion*. 2018; 58: 1163–70. DOI: 10.1111/trf.14537
3. Jaben E.A., Jacob E.K., Tauscher C. et al. Clinically significant anti-A(1) in a presumed AB0-identical hematopoietic stem cell transplant recipient: a case report. *Transfusion*. 2013; 53: 202–5. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2012.03696.x
4. Reid M.E., Lomas-Francis C. *The blood group antigen factsbook*. 2nd ed. Academic Press, 2004.; DOI: 10.1016/B978-0-12-586585-2.X5000-8
5. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation (Ministry of Health of Russia) April 2, 2013, N 183n, Moscow: "On approval of the rules for the clinical use of donated blood and (or) its components".
6. Yamamoto F. Molecular genetics of AB0. *Vox Sang*. 2000; 78: 91–103.
7. Seltsam A., Hallensleben M., Kollmann A., Blasczyk R. The nature of diversity and diversification at the AB0 locus. *Blood*. 2003; 102: 3035–42. DOI: 10.1182/blood-2003-03-0955
8. Prager M. Molecular genetic blood group typing by the use of PCR-SSP technique. *Transfusion*. 2007;47:54–9. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01311.x
9. Olsson M.L., Chester M.A. Polymorphism and recombination events at the AB0 locus: a major challenge for genomic AB0 blood grouping strategies. *Transfus Med*. 2001; 11: 295–313.
10. Chen D.P., Sun C.F., Ning H.C. et al. Genetic and mechanistic evaluation for the weak A phenotype in Ael blood type with, IVS6 + 5G>A AB0 gene mutation. *Vox Sang*. 2015; 108: 64–71. DOI: 10.1111/vox.12196
11. *Technical manual*. Ed. Mark E. Brecher. 15th ed., Bethesda, AABB, 2005.
12. Донсков С.И., Мороков В.А. Группы крови человека. Руководство по иммуносерологии. М.: Бином; 2014.
13. *Трансфузиология*. Национальное руководство. Под ред. А.А. Рагимова, 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018.
14. Shastry S., Bhat S. Imbalance in A(2) and A(2)B phenotype frequency of AB0 group in South India. *Blood Transfus*. 2010; 8: 267–70. DOI: 10.2450/2010.0147-09
15. Ogasawara K., Yabe R., Uchikawa M. et al. Different alleles cause an imbalance in A2 and A2B phenotypes of the AB0 blood group. *Vox Sang*. 1998; 74: 242–7.
16. Economidou J., Hughes-Jones N.C., Gardner B. Quantitative measurements concerning A and B antigen sites. *Vox Sang*. 1967; 12: 321–8.
17. Schachter H., Michaels M.A., Tilley C.A., Crookston M.C., Crookston J.H. Qualitative differences in the N-acetyl-D-galactosaminyltransferases produced by human A1 and A2 genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1973; 70: 220–4. DOI: 10.1073/pnas.70.1.220
18. Storry J.R., Olsson M.L. Genetic basis of blood group diversity. *Br J Haematol*. 2004; 126: 759–71. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05065.x
19. Yamamoto F., McNeill P.D., Hakomori S. Human histo-blood group A2 transferase coded by A2 allele, one of the A subtypes, is characterized by a single

References

1. Dashkova N.G., Ragimov A.A., Asoskova T.K. Significance of the isoantigen A2 and immune anti-A1 antibodies in transfusiology. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2009; 6: 62–4 (In Russian).
2. Helmich F., Baas I., Ligthart P. et al. Acute hemolytic transfusion reaction due to a warm reactive anti-A1. *Transfusion*. 2018; 58: 1163–70. DOI: 10.1111/trf.14537
3. Jaben E.A., Jacob E.K., Tauscher C. et al. Clinically significant anti-A(1) in a presumed AB0-identical hematopoietic stem cell transplant recipient: a case report. *Transfusion*. 2013; 53: 202–5. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2012.03696.x
4. Reid M.E., Lomas-Francis C. *The blood group antigen factsbook*. 2nd ed. Academic Press, 2004.; DOI: 10.1016/B978-0-12-586585-2.X5000-8
5. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation (Ministry of Health of Russia) April 2, 2013, N 183n, Moscow: "On approval of the rules for the clinical use of donated blood and (or) its components".
6. Yamamoto F. Molecular genetics of AB0. *Vox Sang*. 2000; 78: 91–103.
7. Seltsam A., Hallensleben M., Kollmann A., Blasczyk R. The nature of diversity and diversification at the AB0 locus. *Blood*. 2003; 102: 3035–42. DOI: 10.1182/blood-2003-03-0955
8. Prager M. Molecular genetic blood group typing by the use of PCR-SSP technique. *Transfusion*. 2007;47:54–9. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01311.x
9. Olsson M.L., Chester M.A. Polymorphism and recombination events at the AB0 locus: a major challenge for genomic AB0 blood grouping strategies. *Transfus Med*. 2001; 11: 295–313.
10. Chen D.P., Sun C.F., Ning H.C. et al. Genetic and mechanistic evaluation for the weak A phenotype in Ael blood type with, IVS6 + 5G>A AB0 gene mutation. *Vox Sang*. 2015; 108: 64–71. DOI: 10.1111/vox.12196
11. *Technical manual*. Ed. Mark E. Brecher. 15th ed., Bethesda, AABB, 2005.
12. Donskov S.I., Morokov V.A. *Human blood groups*. Immunoserology manual. Moscow: Binom; 2014 (In Russian).
13. *Transfusion*. National Standart. Ed. AA Ragimov. Second ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2018 (In Russian).
14. Shastry S., Bhat S. Imbalance in A(2) and A(2)B phenotype frequency of AB0 group in South India. *Blood Transfus*. 2010; 8: 267–70. DOI: 10.2450/2010.0147-09
15. Ogasawara K., Yabe R., Uchikawa M. et al. Different alleles cause an imbalance in A2 and A2B phenotypes of the AB0 blood group. *Vox Sang*. 1998; 74: 242–7.
16. Economidou J., Hughes-Jones N.C., Gardner B. Quantitative measurements concerning A and B antigen sites. *Vox Sang*. 1967; 12: 321–8.
17. Schachter H., Michaels M.A., Tilley C.A., Crookston M.C., Crookston J.H. Qualitative differences in the N-acetyl-D-galactosaminyltransferases produced by human A1 and A2 genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1973; 70: 220–4. DOI: 10.1073/pnas.70.1.220
18. Storry J.R., Olsson M.L. Genetic basis of blood group diversity. *Br J Haematol*. 2004; 126: 759–71. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05065.x
19. Yamamoto F., McNeill P.D., Hakomori S. Human histo-blood group A2 transferase coded by A2 allele, one of the A subtypes, is characterized by a single

- base deletion in the coding sequence, which results in an additional domain at the carboxyl terminal. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992; 187: 366–74. DOI: 10.1016/s0006-291x(05)81502-5
20. Yoshida A., Dave V., Prchal J. Uncertainty in identification of blood group A subtypes by agglutination test. *Hum. Hered.* 1985; 35: 1–6. DOI: 10.1159/000153505
21. Watkins W.M. Genetic regulation of the structure of blood-group-specific glycoproteins. *Biochem Soc Symp.* 1974; 40: 125–46.
22. Clausen H., Hakomori S. ABH and related histo-blood group antigens; immunochemical differences in carrier isotypes and their distribution. *Vox Sang.* 1989; 56: 1–20.
23. Zhang Wei, Zhu Zi-yan. Structural modification of H histo-blood group antigen. *Blood Transfus.* 2015; 13: 143–9. DOI: 10.2450/2014.0033-14
24. Luiz Carlos de Mattos. Structural diversity and biological importance of AB0, H, Lewis and secretor histo-blood group carbohydrates. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016; 38(4): 331–40. DOI: 10.1016/j.bjhh.2016.07.005
25. Svensson L., Rydberg L., de Mattos L.C., Henry S.M. Blood group A(1) and A(2) revisited: an immunochemical analysis. *Vox Sang.* 2009; 96: 56–61. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2008.01112.x
26. Barjas-Castro M.L., Carvalho M.H., Locatelli M.F., Bordin S., Saad S.T. Molecular heterogeneity of the A3 subgroup. *Clin. Lab. Haematol.* 2000; 22: 73–8.
27. Головкина Л.Л., Стремоухова А.Г., Пушкина Т.Д. Выявление редкого аллеля антигена А системы АВО Ael у женщины из Дагестана. *Интер-медикал.* 2015; 1(7): 25–8.
28. Westhoff C.M. Blood group genotyping. *Blood.* 2019; 133: 1814–20. DOI: 10.1182/blood-2018-11-833954

Информация об авторах

Головкина Лариса Леонидовна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией трансфузиологической иммуногематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: largol@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9423-2640>

Каландаров Рахман Самиевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории трансфузиологической иммуногематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: rkalandari@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7730-8367>

Стремоухова Алла Геннадьевна, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории трансфузиологической иммуногематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: allastrem@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1705-7535>

Калмыкова Ольга Сергеевна, заведующая лабораторией контроля качества и безопасности гемотрансфузий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: olga.da2009@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6897-5977>

- base deletion in the coding sequence, which results in an additional domain at the carboxyl terminal. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992; 187: 366–74. DOI: 10.1016/s0006-291x(05)81502-5
20. Yoshida A., Dave V., Prchal J. Uncertainty in identification of blood group A subtypes by agglutination test. *Hum. Hered.* 1985; 35: 1–6. DOI: 10.1159/000153505
21. Watkins W.M. Genetic regulation of the structure of blood-group-specific glycoproteins. *Biochem Soc Symp.* 1974; 40: 125–46.
22. Clausen H., Hakomori S. ABH and related histo-blood group antigens; immunochemical differences in carrier isotypes and their distribution. *Vox Sang.* 1989; 56: 1–20.
23. Zhang Wei, Zhu Zi-yan. Structural modification of H histo-blood group antigen. *Blood Transfus.* 2015; 13: 143–9. DOI: 10.2450/2014.0033-14
24. Luiz Carlos de Mattos. Structural diversity and biological importance of AB0, H, Lewis and secretor histo-blood group carbohydrates. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016; 38(4): 331–40. DOI: 10.1016/j.bjhh.2016.07.005
25. Svensson L., Rydberg L., de Mattos L.C., Henry S.M. Blood group A(1) and A(2) revisited: an immunochemical analysis. *Vox Sang.* 2009; 96: 56–61. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2008.01112.x
26. Barjas-Castro M.L., Carvalho M.H., Locatelli M.F., Bordin S., Saad S.T. Molecular heterogeneity of the A3 subgroup. *Clin. Lab. Haematol.* 2000; 22: 73–8.
27. Golovkina L.L., Stremoukhova A.G., Pushkina T.D. Detection of rare allele Ael of ABO system in woman from Dagestan. *Inter-medical.* 2015; 1(7): 25–8
28. Westhoff C.M. Blood group genotyping. *Blood.* 2019; 133: 1814–20. DOI: 10.1182/blood-2018-11-833954

Information about the authors

Larisa L. Golovkina, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory for Transfusion Immunohematology, National Research Center for Hematology, e-mail: largol@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9423-2640>

Rakhman S. Kalandarov, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory for Transfusion Immunohematology, National Research Center for Hematology, e-mail: rkalandari@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7730-8367>

Alla G. Stremoukhova, Clinical Pathologist, Laboratory for Transfusion Immunohematology, National Research Center for Hematology, e-mail: allastrem@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1705-7535>

Olga S. Kalmykova, Head of the Laboratory for the Quality Control and Safety of Blood Transfusions, National Research Center for Hematology, e-mail: olga.da2009@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6897-5977>

Пушкина Татьяна Дмитриевна, биолог лаборатории трансфузиологической иммуногематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: tanya.pushkina.1959@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8801-5578>

Сурин Вадим Леонидович, старший научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: vadsurin@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Пшеничникова Олеся Сергеевна, старший научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8146>

Николаева Татьяна Леонидовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: TanyaLN0419@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2614-0506>

Оловникова Наталья Ивановна*, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: olovnikova@gmail.com, тел.: +7 (916) 915-25-01;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0876-5414>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 05.07.2019

Принята к печати: 12.09.2019

Tatyana D. Pushkina, Biologist, Laboratory for Transfusion Immunohematology, National Research Center for Hematology,
e-mail: tanya.pushkina.1959@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8801-5578>

Vadim L. Surin, Senior Researcher, Laboratory of Genetic Engineering National Research Centre for Hematology,
e-mail: vadsurin@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Olesya S. Pshenichnikova, Senior Researcher, Laboratory of genetic engineering, National Research Center for Hematology,
e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8146>

Tatyana L. Nikolaeva, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory for Physiology of Hematopoiesis,
e-mail: TanyaLN0419@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2614-0506>

Natalya I. Olovnikova*, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory for Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology,
e-mail: olovnikova@gmail.com, tel.: +7 (916) 915-25-01;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0876-5414>

*** Corresponding author**

Received 05 Jul 2019

Accepted 12 Sep 2019

II КОНГРЕСС ТРАНСФУЗИОЛОГОВ РОССИИ

26 – 27 НОЯБРЯ 2020 ГОДА, МОСКВА

Глубокоуважаемые коллеги!

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ
СОВЕТ НГО ПО ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

ПРОВОДЯТ 26–27 НОЯБРЯ 2020 ГОДА В МОСКВЕ II КОНГРЕСС ТРАНСФУЗИОЛОГОВ РОССИИ

В конгрессе примут участие ведущие российские и зарубежные специалисты в области трансфузиологии, гематологии, трансплантации костного мозга, реаниматологии, клинической лабораторной диагностики, фундаментальных исследований.

**Конгресс будет проходить по адресу: г. Москва, площадь Европы, д. 2;
Деловой центр гостиницы «Рэдиссон Славянская».
Научная программа конгресса будет аккредитована по системе НМО.**

Регистрация участников на II конгресс открыта 1 ноября 2019 г. на сайте НГО <https://npngo.ru>

Участие в конгрессе не предусматривает регистрационных взносов.
Тезисы конгресса будут напечатаны в журнале «Гематология и трансфузиология»
Авторы лучших работ будут приглашены стать участниками постерной экспозиции конгресса.

Вся информация по II конгрессу трансфузиологов России будет представлена на сайте НГО <https://npngo.ru>.

