

**СИСТЕМНЫЕ ГЕМОСТАТИЧЕСКИЕ И ПРОТРОМБОТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ФИБРИН-МОНОМЕРА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ ДОЗИРОВАННОЙ ТРАВМЕ ПЕЧЕНИ**

**Андрей Павлович МОМОТ<sup>1,3</sup>, Вячеслав Михайлович ВДОВИН<sup>2,3</sup>, Игорь Ильич ШАХМАТОВ<sup>2,3</sup>, Игорь Геннадьевич ТОЛСТОКОРОВ<sup>4</sup>, Дмитрий Андреевич ОРЕХОВ<sup>5</sup>, Валентин Олегович ШЕВЧЕНКО<sup>4</sup>, Наталья Александровна ЛЫЧЁВА<sup>2,3</sup>, Алексей Владимирович КУДИНОВ<sup>2</sup>, Галина Геннадьевна БЕЛОЗЕРСКАЯ<sup>6</sup>, Валерий Иванович КИСЕЛЁВ<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> *Национальный медицинский исследовательский центр гематологии Минздрава России, Алтайский филиал*

*656045, Россия, г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1*

<sup>2</sup> *Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России*

*656038, Россия, г. Барнаул, просп. Ленина, 40*

<sup>3</sup> *НИИ физиологии и фундаментальной медицины*

*630117, Россия, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4*

<sup>4</sup> *ООО КДЦ «Добрый доктор»*

*656006, Россия, г. Барнаул, ул. Балтийская, 4а*

<sup>5</sup> *Алтайский краевой кардиологический диспансер*

*656055, Россия, г. Барнаул, ул. Малахова, 46*

<sup>6</sup> *Национальный медицинский исследовательский центр гематологии Минздрава России*

*125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4*

Цель исследования – оценить системные гемостатические и протромботические эффекты фибрин-мономера (ФМ) при его внутривенном введении в эксперименте. **Материал и методы.** В работе использовали 82 кролика-самца породы «Шиншилла» массой 3–4 кг. Наряду с плацебо животным внутривенно вводили водный раствор ФМ в дозах 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 2,5 и 5,0 мг/кг, через 1 ч наносили стандартную травму печени и оценивали кровопотерю (в % от объема циркулирующей крови), возникшую в результате паренхиматозного кровотечения.

**Момот А.П.** – д.м.н., проф., директор, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии гемостаза и гемодинамики, e-mail: [xyzan@yandex.ru](mailto:xyzan@yandex.ru), <http://orcid.org/0000-0002-8413-5484>

**Вдовин В.М.** – к.м.н., доцент, зав. кафедрой патологической физиологии, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии гемостаза и гемодинамики, e-mail: [erytrab@gmail.com](mailto:erytrab@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-4606-3627>

**Шахматов И.И.** – д.м.н., доцент, зав. кафедрой нормальной физиологии, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии гемостаза и гемодинамики, e-mail: [iish59@yandex.ru](mailto:iish59@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-0979-8560>

**Толстокоров И.Г.** – хирург, e-mail: [igorka69@yandex.ru](mailto:igorka69@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0001-5406-9191>

**Орехов Д.А.** – хирург, e-mail: [orekhoffs@mail.ru](mailto:orekhoffs@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-0644-6313>

**Шевченко В.О.** – хирург, e-mail: [valentin\\_shevche@mail.ru](mailto:valentin_shevche@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3471-3426>

**Лычёва Н.А.** – к.б.н., доцент кафедры нормальной физиологии, младший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии гемостаза и гемодинамики, e-mail: [natalia.lycheva@yandex.ru](mailto:natalia.lycheva@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6488-340X>

**Кудинов А.В.** – к.б.н., доцент кафедры фармакологии, e-mail: [kudinovalexej@gmail.com](mailto:kudinovalexej@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-0967-6117>

**Белозерская Г.Г.** – д.м.н., зав. лабораторией, e-mail: [Belozerskaya.G@blood.ru](mailto:Belozerskaya.G@blood.ru), <http://orcid.org/0000-0001-8620-153X>

**Киселёв В.И.** – д.м.н., чл.-корр. РАН, проф. кафедры нормальной физиологии, зав. лабораторией, главный научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии гемостаза и гемодинамики, e-mail: [vik@agmu.ru](mailto:vik@agmu.ru), <https://orcid.org/0000-0003-2683-3118>

Исследование системы гемостаза включало в себя оценку числа тромбоцитов в венозной крови, уровней фибриногена и D-димера в плазме крови. **Результаты и их обсуждение.** Кровопотеря после дозированной травмы при введении плацебо составила 10,0 [4,0; 15,7] % объема циркулирующей крови (медиана [25-й перцентиль; 75-й перцентиль]). Введение ФМ в дозах 0,25, 2,5 и 5,0 мг/кг приводило к уменьшению кровопотери в 6,3 ( $p < 0,001$ ), 7,8 ( $p < 0,001$ ) и 2,7 раза ( $p = 0,04$ ) (1,6 [1,0; 3,0], 1,3 [0,6; 1,6] и 3,7 [2,8; 5,5] % объема циркулирующей крови соответственно). В высоких дозах (2,5 и 5,0 мг/кг) ФМ минимизировал кровопотерю за счет активации коагуляционных свойств крови и тромбообразования, что иллюстрировалось 7–8-кратным ростом уровня D-димера (в сравнении с плацебо). Применение ФМ в дозе 0,25 мг/кг не сопровождалось увеличением содержания D-димера, хотя и многократно уменьшало кровопотерю. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о наличии у низкодозированного ФМ (0,25 мг/кг) уникальных гемостатических свойств, открывают возможности к созданию нового поколения гемостатических препаратов системного действия.

**Ключевые слова:** система гемостаза, фибрин-мономер, травма печени, паренхиматозное кровотечение, гемостатический эффект, кролики.

Обширные травмы относят к неотложным состояниям, которые, как правило, сопровождаются тяжелыми кровотечениями, нередко с формированием геморрагического шока, что представляет собой серьезную угрозу для здоровья и жизни людей [16]. В рамках данной проблемы внимание исследователей привлечено к поиску новых и эффективных способов управления травма-ассоциированной кровопотери, в том числе на фоне действия известных антипротромботических препаратов [12]. В настоящее время в медицинской практике используется ряд лекарственных препаратов, обладающих доказанным и объяснимым системным гемостатическим действием [14]. Их эффективность обусловлена усилением коагуляционных свойств крови/тромботического потенциала, что, помимо терапевтического эффекта, не исключает риск развития артериальных или венозных тромбозов [11, 16]. Данное обстоятельство способствует поиску инновационных, сравнительно более безопасных препаратов, обладающих системным кровоостанавливающим действием.

В основе механизмов, приводящих к остановке кровотечения при травме, лежит образование тромба (сгустка фибрина, содержащего клетки крови). Последний формируется, как известно, в результате взаимодействия тромбина (фактора IIa) с фибриногеном в ходе реакций самосборки фибрин-мономера (ФМ), лишённого фибринопептидов А и В [2, 4]. Интерес к системному применению ФМ в эксперименте *in vivo* и оценке его влияния на систему гемостаза возник около 50 лет назад, что иллюстрируется работой Б.А. Кудряшова и соавт. [3]. По ее результатам установлена прямая связь введения в кровоток экспериментальных животных экзогенного ФМ (25 мг/кг и более) с массивным тромбообразованием магистральных сосудов и летальностью. Ранее, с нашим участием, продемонстрировано, что значительно меньшие дозы ФМ (от 0,5

до 5,0 мг/кг), вводимые внутривенно, совместимы с жизнью животных [5], однако анализа биологических свойств ФМ в данной работе проведено не было. Целью настоящего исследования явилась оценка системных гемостатических и протромботических эффектов ФМ при его внутривенном введении животным на фоне дозированной травмы печени.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа включала в себя два этапа. Первый был посвящен исследованиям лиофилизированного препарата ФМ, полученного из плазмы крови человека в соответствии с ранее зарегистрированной технологией [6], второй – проведению экспериментальных исследований *in vivo*. Исследования на животных проводили в соответствии с Европейской конвенцией и директивами по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте, 86/609/ЕЕС, а также Хельсинкской декларацией и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» [10]. Работа одобрена локальным этическим комитетом Алтайского государственного медицинского университета.

Анализ ФМ предусматривал:

- характеристику ФМ по молекулярной массе  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -цепей с помощью денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия по методу U.K. Laemmli [13];

- оценку иммунологического сходства ФМ и фибриногена человека («Sigma-Aldrich», США) методом иммуноблоттинга с использованием оборудования и реагентов фирмы «Bio-Rad» по технологии, описанной G.L. Soe et al. [17];

- исследование на наличие примесей тромбина (фактора IIa) в препарате ФМ по измерению скорости гидролиза хромогенного субстрата тромбином (при 405 нм) на спектрофотометре

«Photometer 5010 v5+» («Robert Riele GmbH Co & KG», Германия). Эту активность идентифицировали в смеси водного раствора ФМ (11,0 мг/мл) и специфичного к тромбину «Tos-Gly-Pro-Arg-ANBA-IPA» («Siemens AG», Германия) хромогенного субстрата, взятого в концентрации 2,0 ммоль/л. Параллельно такая активность определялась в растворах плацебо и тромбина человека (3 НИЕ ед/мл, «Технология-Стандарт», Россия).

Работы, посвященные изучению системных гемостатических и протромботических эффектов ФМ, проведены на 82 кроликах-самцах породы «Шиншилла» массой 3,0–4,0 кг. С использованием генератора случайных чисел статистической программы Statistica 10 («StatSoft», США) были сформированы 7 групп экспериментальных животных. В первую группу вошли животные, которым ввели в краевую вену уха плацебо (4,0 М раствор мочевины, соответствующий ее концентрации в растворе ФМ), группы 2–7 составили животные, которым внутривенно вводили раствор ФМ в дозах 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 2,5 и 5,0 мг/кг массы тела соответственно. Забор крови проводили после надреза краевой вены уха в пробирку, содержащую 0,11 М (3,8%-й) раствор цитрата натрия (соотношение крови и цитрата 9 : 1). Стабилизированную цитратом кровь центрифугировали при 1200 г в течение 15 минут, полученную обедненную тромбоцитами плазму использовали для исследования системы гемостаза. Кровь забиралась дважды: до внутривенного введения при помощи иглы-катетера «Cathy» (фирма «HMD») препаратов (раствора плацебо и ФМ), а также спустя 1 ч после инъекции – перед нанесением дозированной травмы печени.

Дозированную травму печени у наркотизированных кроликов проводили в соответствии с имеющимися рекомендациями [8]. Объем кровопотери устанавливали в % от объема циркулирующей крови с учетом массы тела животных [7–9].

Исследование системы гемостаза включало в себя оценку числа тромбоцитов в венозной крови с использованием гематологического анализатора «Drew3» («Drew Scientific Group», США), концентрации фибриногена на коагулометре «Thrombostat 2» («Behnk Elektronik», Германия) с применением набора реагентов «Тех-Фибриноген-тест» («Технология-Стандарт», Россия) и уровня D-димера в плазме крови (тест-система «Nycocard® D-Dimer», «Axis-Shield PoC AS», Норвегия) с использованием анализатора-рефлектометра «Nycocard Reader II» («Axis-Shield PoC AS»).

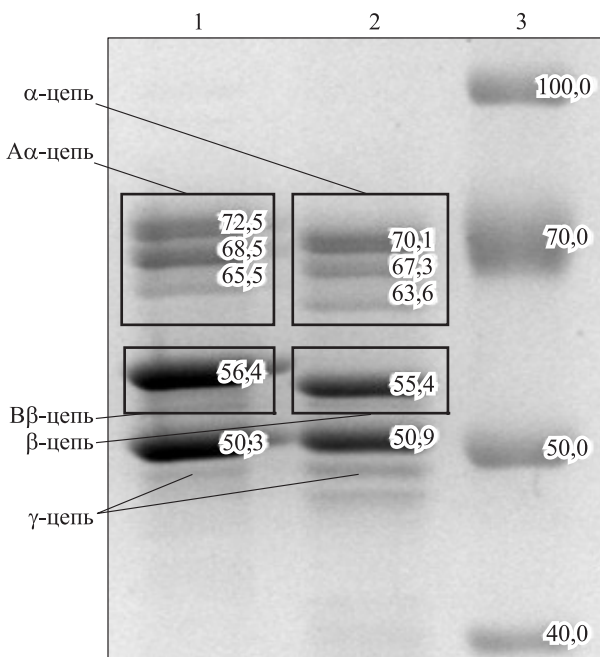
Распределение признаков в выборках оценивали по критерию Шапиро – Уилка. В зависимости от распределения признаков использовали

*t*-критерий Стьюдента или *U*-критерий Манна – Уитни, а также *F*-критерий Фишера для оценки дисперсий выборок. Различия считали достоверными при уровне статистической значимости  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Анализ фибрин-мономера.** Из рис. 1 видно, что молекулярная масса  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -цепей коммерческого фибриногена, определенная в ходе гель-электрофореза, соответствует литературным данным [15]. При этом  $\gamma$ -цепи фибриногена и ФМ не различались по молекулярной массе, в то время как молекулярная масса  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей ФМ была меньше, чем у  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей фибриногена. Полученная разница примерно соответствовала потере молекулой ФМ двух фибринопептидов А (CAS No. 25422-31-5) – 1536 Да и двух фибринопептидов В (CAS No. 36204-23-6) – 1552 Да. Таким образом, была подтверждена принадлежность исследуемого препарата ФМ к дез-ААВВ-фибриногену с учетом ранее выполненных фундаментальных исследований [1, 4].

В результате переноса и детекции при помощи поликлональных кроличьих антител против фибриногена человека на мембране при длительной экспозиции в образцах коммерческого фибриногена и препарата ФМ обнаружено по два



**Рис. 1.** Электрофореграммы полипептидных цепей А $\alpha$ , В $\beta$  и  $\gamma$  фибриногена и  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  фибрин-мономера. 1 – трек коммерческого фибриногена (кДа); 2 – трек фибрин-мономера (кДа); 3 – трек смеси маркерных белков с известной молекулярной массой (кДа)

Таблица 1

Динамика поглощения в смесях исследуемого образца с хромогенным субстратом, усл. ед.

Образец	0 мин	Через 2 мин	Динамика
Плацебо	0,180	0,178	-0,002 (2 %)
Препарат ФМ	0,220	0,216	-0,004 (3 %)
Тромбин (3 НИН ед/мл)	0,220	0,746	+0,256 (339 %)

пятна, соответствующих  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепям сравниваемых молекул, следовательно, сравниваемые препараты иммунологически сопоставимы.

Учитывая применение тромбина человека в технологии изготовления ФМ [6], проведено исследование по оценке возможной амидолитической тромбиновой активности раствора ФМ (в сравнении с растворами плацебо и тромбина). Данные, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о том, что растворы плацебо и ФМ не обладают сколько-нибудь значимой тромбиновой активностью.

**Результаты экспериментальных исследований *in vivo*.** При проведении дисперсионного анализа полученных данных показано, что пошаговое увеличение дозы вводимого ФМ от 0,1 до 5,0 мг/кг оказало статистически значимое влияние на изменение объема кровопотери ( $F = 3,92$ ,  $p < 0,001$ ). В частности, установлено, что наиболее низкая доза ФМ (0,1 мг/кг) при сравнении с плацебо практически не влияла на объем кровопотери (рис. 2). В то же время применение ФМ в дозах 0,25, 2,5 и 5,0 мг/кг (в сравнении с плацебо) приводило к уменьшению посттравматической

кровопотери, по медиане, соответственно в 6,3 ( $p < 0,001$ ), 7,8 ( $p < 0,001$ ) и 2,7 раза ( $p = 0,04$ ).

В работе не выявлено сколько-нибудь значимое снижение числа тромбоцитов и уровня фибриногена (до и после инъекции) во всех сравниваемых группах, за исключением уменьшения, по медиане, на 32,5 % количества тромбоцитов у животных, получивших максимальную дозу ФМ – 5,0 мг/кг (табл. 2). Наряду с этим установлена связь между дозой вводимого ФМ и уровнем D-димера в плазме крови методом дисперсионного анализа ( $F = 6,37$ ;  $p < 0,001$ ). Из табл. 2 также видно, что повышение содержания D-димера наблюдалось после применения ФМ в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

В первой части работы, посвященной исследованию коммерческого препарата ФМ, проведена его молекулярная и иммунологическая идентификация. При этом был принят во внимание ряд известных методических подходов [1, 2, 4]. В соответствии с полученными данными было установлено соответствие характеристик принятого в работу препарата известным характеристикам ФМ (дез-ААВВ-фибриногена). Наряду с этим в работе исключено потенциальное влияние на изучаемые гемостатические эффекты следовых концентраций тромбина, поскольку данная коагулаза используется в технологии приготовления препарата ФМ [6].

Во второй части работы изучались системные гемостатические и протромботические свойства ФМ в экспериментах *in vivo*. Показано, что внутривенное введение ФМ приводит к закономерному уменьшению объема посттравматической кровопотери, однако линейный дозозависимый эффект отсутствовал. Наибольшее снижение данного показателя было связано с использованием трех доз ФМ – 0,25, 2,5 и 5,0 мг/кг. Другие дозы препарата (0,5 и 1,0 мг/кг) не оказывали значимого влияния. При этом следует отметить, что высокие дозы вводимого ФМ (2,5 и 5,0 мг/кг) способствовали внутрисосудистому тромбообразованию, что иллюстрировалось увеличением

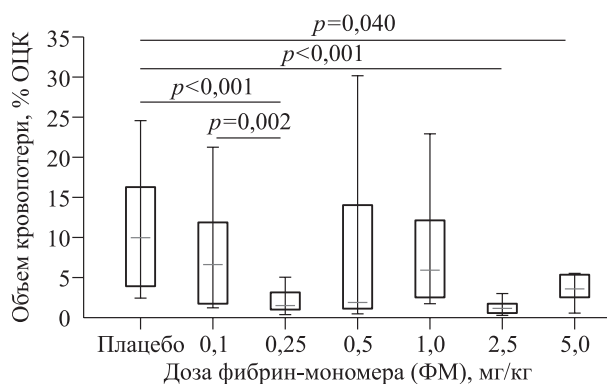


Рис. 2. Объем кровопотери (% ОЦК) в группах сравнения после дозированной травмы печени. ОЦК – объем циркулирующей крови; значения представлены в виде медианы – горизонтальной линии внутри прямоугольника, нижней и верхней границей которого служат соответственно 25-й и 75-й перцентили, и значений, соответствующих перцентильям 2,5 и 97,5 – нижний и верхний концы «усов»



Таблица 2

Показатели системы гемостаза у животных, получивших плацебо и фибрин-мономер в разных дозах

Группа	Количество тромбоцитов в крови, $\times 10^9/\text{л}$		Уровень фибриногена, г/л		Уровень D-димера, нг/мл	
	до	после	до	после	до	после
Плацебо (n = 11)	617,0 [456,0÷760,5]	524,0 [480,5÷686,5]	3,30 [2,80÷4,40]	3,70 [2,80÷4,50]	100,0 [100,0÷100,0]	100,0 [100,0÷175,0]
ФМ 0,1 мг/кг (n = 12)	592,5 [511,8÷666,3]	531,0 [465,0÷609,8]	3,70 [3,40÷3,80]	3,50 [3,00÷3,90]	150,0 [100,0÷200,0]	200,0 [175,0÷300,0]
ФМ 0,25 мг/кг (n = 15)	526,0 [464,3÷602,8]	524,0 [452,0÷600,5]	3,75 [2,80÷4,45]	3,40 [2,80÷4,80]	100,0 [100,0÷175,0]	100,0 [100,0÷200,0]
ФМ 0,5 мг/кг (n = 12)	595,0 [562,0÷718,0]	606,0 [554,5÷633,5]	2,80 [2,20÷3,00]	2,60 [2,28÷2,85]	100,0 [100,0÷100,0]	100,0 [100,0÷100,0]
ФМ 1,0 мг/кг (n = 10)	572,0 [510,0÷647,0]	544,0 [455,5÷592,0]	2,90 [2,50÷3,90]	3,20 [2,60÷3,80]	100,0 [100,0÷100,0]	200,0 [100,0÷200,0]
ФМ 2,5 мг/кг (n = 13)	551,5 [437,3÷600,5]	479,0 [403,5÷568,3]	3,25 [2,59÷3,93]	3,20 [2,60÷3,35]	100,0 [100,0÷200,0]	700,0* [500,0÷800,0]
ФМ 5,0 мг/кг (n = 9)	607,0 [500,0÷631,0]	410,0# [353,0÷566,0]	2,80 [2,55÷3,20]	3,00 [2,85÷3,80]	100,0 [100,0÷100,0]	800,0^ [550,0÷1100,0]

*Примечание.* Результаты представлены в виде Me [25÷75], где Me – медиана в выборочной совокупности; [25÷75] – 25-й и 75-й процентиля; n – количество особей в группе; «до» – показатели до введения ФМ или плацебо, «после» – показатели через 1 ч после введения ФМ или плацебо; обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей до введения ФМ или плацебо: \* – при  $p = 0,002$ , # – при  $p = 0,04$ , ^ – при  $p = 0,01$ .

уровня D-димера в плазме крови наряду со снижением числа тромбоцитов (при применении ФМ в дозе 5,0 мг/кг). В последнем случае при массивном тромбозе (тромботические отложения в аорте и сосудах легких) погибло одно из 11 животных.

Отмеченные в работе протромботические эффекты высоких доз ФМ (2,5–5,0 мг/кг) могут быть вполне объяснимы, поскольку, как отмечалось выше, ФМ в достаточных концентрациях в плазме крови представляет собой классическую основу для фибринообразования и формирования тромба. И с этим согласуется их способность уменьшать кровопотерю при дозированной травме печени. Однако факт снижения объема потерянной крови при применении в 10–20 раз меньшей дозы ФМ (0,25 мг/кг), не сопровождаемого потреблением тромбоцитов и увеличением уровня D-димера, может рассматриваться как феномен, не имеющий в настоящее время своего объяснения.

Можно принять также во внимание, что после внутривенного введения ФМ в дозе 0,25 мг/кг его расчетная концентрация в плазме крови составляет около 0,007 г/л, в то время как концентрация собственного фибриногена у экспериментальных животных варьирует в диапазоне от 3,3 до 3,7 г/л по медиане (см. табл. 2). Сопоставляя уровни этих белков (1 : 470–1 : 530) в плазме крови, можно утверждать, что введенный ФМ (в дозе 0,25 мг/кг) не способен самостоятельно форми-

ровать фибриновые сгустки, и индуцированный им гемостатический эффект имеет другую, не известную пока природу.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленный в работе системный гемостатический эффект ФМ (в дозе 0,25 мг/кг), не сопровождающийся активацией свертывающей системы крови, может послужить основой для создания нового поколения гемостатиков. В продолжение исследований и для расшифровки механизмов действия ФМ предполагается анализ его гемостатических свойств на моделях у животных со сниженным гемостатическим потенциалом на фоне применения представителей различных групп антитромботических препаратов.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Научные исследования, результаты которых изложены в статье, выполнены при финансовой поддержке РФФИ (в рамках гранта на реализацию научного проекта № 18-415-220001).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белицер В.А., Варецкая Т.В. Фибриноген и фибрин: строение молекул, самосборка волокон // Успехи соврем. биологии. 1975. 80. (1). 5–21.
2. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: Фэн, 2000. 367 с.
3. Кудряшов Б.А., Молчанова Л.В., Калишевская Т.М., Базазьян Г.Г., Пасторова В.Е., Сытина Н.П. О функциональном состоянии противосвертывающей системы при внутривенном введении фибрин-мономера // Вопр. мед. химии. 1969. XV. (5). 483–486.
4. Луговской Э.В., Макогоненко Е.М., Комисаренко С.В. Молекулярные механизмы образования и разрушения фибрина: физико-химический и иммунохимический анализ. Киев: Наук. думка, 2013. 230 с.
5. Макаров В.А., Белозерская Г.Г., Момот А.П., Соколов Э.А., Тер-Арутюнянц А.А., Васильева Т.М. Гемостатическое средство. Пат. 2308287 РФ; опубл. 20.10.2007.
6. Момот А.П., Шахматов И.И., Ломаев И.С., Терехов С.С. Способ промышленного получения фибрин-мономера из плазмы крови. Пат. 2522237 РФ; опубл. 15.05.2014.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / ред. А.Н. Миронов. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / ред. Р.Ю. Хабриев. М.: Медицина, 2005. 832 с.
9. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / ред. В.Г. Макаров. СПб.: ЛЕМА, 2013. 116 с.
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasburg: Council of Europe, 1986. 11 p.
11. Damage Control Resuscitation at Level IIb/III Treatment Facilities / Joint Theater Trauma System Clinical Practice Guideline. Feb. 2013. 32 p.
12. Dreijer A.R., Kruip M.J., Diepstraten J., Polinder S., Brouwer R., Leebeek F.W., Vulto A.G., Bemt P.M. Antithrombotic stewardship: a multidisciplinary team approach towards improving antithrombotic therapy outcomes during and after hospitalisation: a study protocol // BMJ Open. 2016. 6. (12). e011537.
13. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. 227. (5259). 680–685.
14. Levi M. Management of bleeding in patients treated with direct oral anticoagulants // Crit. Care. 2016. 20. 249.
15. Putnam F.W. The Plasma Proteins. 2nd ed. Vol. 2. N.Y.: Acad. Press, 1975. 148 p.
16. Rossaint R., Bouillon B., Cerny V., Coats T.J., Duranteau J., Fernández-Mondéjar E., Filipescu D., Hunt B.J., Komadina R., Nardi G., Neugebauer E.A., Ozier Y., Riddez L., Schultz A., Vincent J.L., Spahn D.R. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition // Crit. Care. 2016.12. (20). 100.
17. Soe G.L., Kohno I., Inuzuka K., Itoh Y., Matsuda M. A monoclonal antibody that recognizes a neo-antigen exposed in the E domain of fibrin monomer complexed with fibrinogen or its derivatives: its application to the measurement of soluble fibrin in plasma // Blood. 1996. 188. (6). 2109–2117.

## SYSTEMIC HEMOSTATIC AND PROTHROMBOTIC EFFECTS OF FIBRIN-MONOMER IN EXPERIMENT WITH DOSED LIVER THERAPY

Andrey Pavlovich MOMOT<sup>1,3</sup>, Vyacheslav Mikhaylovich VDOVIN<sup>2,3</sup>,  
Igor Ilyich SHAKHMATOV<sup>2,3</sup>, Igor Gennadievich TOLSTOKOROV<sup>4</sup>,  
Dmitriy Andreevich OREKHOV<sup>5</sup>, Valentin Olegovich SHEVCHENKO<sup>4</sup>,  
Natalya Alexandrovna LYCHEVA<sup>2,3</sup>, Alexey Vladimirovich KUDINOV<sup>2</sup>,  
Galina Gennadievna BELOZERSKAYA<sup>6</sup>, Valeriy Ivanovich KISELEV<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> National Research Center for Hematology of Minzdrav of Russia, Altai Branch  
656045, Barnaul, Lyapidevskogo str., 1

<sup>2</sup> Altai State Medical University of Minzdrav of Russia  
656038, Barnaul, Lenin av., 40

<sup>3</sup> Research Institute of Physiology and Fundamental Medicine  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 4

<sup>4</sup> Consulting Diagnostic Center «Dobryi Doktor» Ltd.  
656006, Barnaul, Baltiyskaya str., 4a

<sup>5</sup> Altai Regional Cardiology Health Center  
656055, Barnaul, Malakhov str., 46

<sup>6</sup> National Research Center for Hematology of Minzdrav of Russia  
125167, Moscow, Novyy Zykovsky dr., 4

Objective of the study is to experimentally evaluate system hemostatic and prothrombotic effects of intravenous fibrin monomer (FM). **Materials and methods.** Eighty two Chinchilla rabbits weighing 3–4 kg were used in the study. In addition to the placebo, animals were administered an aqueous solution of fibrin monomer (FM) intravenously at doses of 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5 and 5.0 mg/kg. After 1 hour, a standard liver injury was performed and the blood loss (% of the circulating blood volume) resulting from parenchymal hemorrhage was estimated. Hemostatic system examination included platelet number in venous blood and fibrinogen and D-dimer levels in blood plasma. **Results and discussion.** Blood loss after dosed injury with placebo was 10.0 [4.0; 15.7] % blood volume (median [25th percentile; 75th percentile]). FM preparation doses of 0.25, 2.5 and 5.0 mg/kg resulted in a decrease of blood loss by 6.3 ( $p < 0.001$ ), 7.8 ( $p < 0.001$ ) and 2.7 times ( $p = 0.04$ ) (1.6 [1.0; 3.0], 1.3 [0.6; 1,6] and 3.7 [2.8; 5.3] % blood volume, respectively). High doses of FM preparation (2.5 and 5.0 mg/kg) minimized blood loss due to activation of coagulation and thrombus formation, which was illustrated by a 7.0–8.0-fold increase in D-dimer level (compared to placebo). 0.25 mg/kg of FM preparation did not lead to an increase of D-dimer content, although the blood loss was greatly reduced. **Conclusion.** The data obtained show the presence of unique hemostatic properties in low-dose FM preparation (0.25 mg/kg), which allows creating system hemostatic agents of a new generation.

**Key words:** hemostatic system, fibrin monomer, liver injury, parenchymal hemorrhage, hemostatic effect, rabbits.

*Momot A.P.* – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: xyzan@yandex.ru

*Vdovin V.M.* – candidate of medical sciences, associate professor, head of the department of pathological physiology, e-mail: erytrab@gmail.com

*Shakhmatov I.I.* – doctor of medical sciences, professor, head of the department of normal physiology, e-mail: iish59@yandex.ru

*Tolstokorov I.G.* – surgeon, e-mail: igorka69@yandex.ru

*Orekhov D.A.* – surgeon, e-mail: orekhoffs@mail.ru

*Shevchenko V.O.* – surgeon, e-mail: valentin\_shevche@mail.ru

*Lycheva N.A.* – candidate of biological sciences, associate professor of the department of normal physiology, e-mail: natalia.lycheva@yandex.ru

*Kudinov A.V.* – candidate of biological sciences, associate professor of the department of pharmacology, e-mail: kudinovalexej@gmail.com

*Belozerskaya G.G.* – doctor of medical sciences, head of laboratory of pathology and pharmacology of hemostasis, e-mail: belgalgen53@mail.ru

*Kiselev V.I.* – corresponding member of RAS, doctor of medical sciences, professor of the department of normal physiology, e-mail: vik@agmu.ru

## ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ БАЛАНС ОБОРОНИТЕЛЬНОЙ И ПОДКРЕПЛЯЮЩЕЙ МОТИВАЦИОННЫХ СИСТЕМ МОЗГА КАК ВЕРОЯТНЫЙ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЭНДОФЕНОТИП ДЕПРЕССИИ В МЕТРИКЕ КОГНИТИВНЫХ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ

Любомир Иванович АФТАНАС<sup>1</sup>, Светлана Марковна ПУСТОВОЙТ<sup>1</sup>,  
Наталья Владимировна НОВОЖИЛОВА<sup>1</sup>, Ольга Александровна АХМЕТОВА<sup>1</sup>,  
Анатолий Александрович ОВЧИННИКОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ физиологии и фундаментальной медицины  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

<sup>2</sup> Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

Целью исследования являлось изучение особенностей индивидуального баланса активности оборонительной и подкрепляющей систем головного мозга у пациентов с большим депрессивным расстройством. **Материал и методы.** У 41 пациента с большим депрессивным расстройством и 32 здоровых испытуемых исследовали зрительные вызванные потенциалы, зарегистрированные в парадигме эмоционального Oddball при восприятии сильных и слабых мотивационно значимых сигналов положительного подкрепления и страдания. **Результаты и их обсуждение.** Установлено, что снижение амплитуды нейронального ответа при восприятии сильных мотивационно значимых сигналов положительного подкрепления и, в меньшей степени, страдания связано с клинической выраженностью депрессии. Это свидетельствует в пользу патогенетической модели невосприимчивости к эмоциональному контексту при депрессии. Однако большая супрессия нейронального ответа на подкрепляющие стимулы свидетельствует о перекосе баланса активности мотивационных систем в сторону большей дефицитарности системы подкрепления. Таким образом, величину амплитуды позднего позитивного потенциала зрительных вызванных потенциалов на сильные мотивационно значимые сигналы положительного подкрепления и страдания можно рассматривать в качестве перспективного объективного нейробиологического маркера мониторинга динамики искаженного индивидуального баланса оборонительной и подкрепляющей систем головного мозга у пациентов с большим депрессивным расстройством, который может стать важным инструментом построения тактики и стратегии персонализированной профилактики и терапии.

**Ключевые слова:** большое депрессивное расстройство, зрительные вызванные потенциалы, поздний позитивный потенциал, индивидуальный баланс мотивационных систем, нейрофизиологический эндотип.

Депрессия – распространенное заболевание, связанное с патологией аффекта, когнитивной деятельности и поведения. В основе данных феноменов лежит нарушение индивидуального баланса активности подкрепляющей и оборонительной мотивационных систем [12]. Вознаграждение и угроза страдания представляют собой два фундаментальных мотивационных императива, которые вызывают тенденции соответственно

приближения и избегания [2]. Нейрофизиологические экспериментальные модели изучения мотивационного внимания у человека на связанные с выживанием сигналы положительного подкрепления и страдания [12] могут стать важным инструментом биологической психиатрии для объективной количественной оценки индивидуального баланса мотивационных систем при депрессии и возможной сегрегации различных

*Афтанас Л.И.* – д.м.н., проф., академик РАН, директор, врач-психиатр, врач-психотерапевт, зав. лабораторией аффективной, когнитивной и трансляционной нейронауки

*Пустовойт С.М.* – научный сотрудник лаборатории аффективной, когнитивной и трансляционной нейронауки, e-mail: kvurts@gmail.com

*Новожилова Н.В.* – младший научный сотрудник лаборатории аффективной, когнитивной и трансляционной нейронауки

*Ахметова О.А.* – научный сотрудник лаборатории аффективной, когнитивной и трансляционной нейронауки

*Овчинников А.А.* – д.м.н., проф., зав. кафедрой психиатрии, наркологии, психотерапии и клинической психологии



клинических подтипов внутри данной нозологической единицы [17].

В литературе [1] представлено несколько патогенетических моделей эмоциональной дисфункции при большом депрессивном расстройстве (БДР): 1) снижения общей реактивности, согласно которой усиление депрессивной симптоматики сопровождается уменьшением амплитуды мозгового ответа на не только положительные и отрицательные эмоциогенные, но и на нейтральные стимулы; 2) селективной гипореактивности подкрепляющей системы (предполагает отрицательную корреляцию выраженности депрессии с реактивностью на положительные эмоциогенные сигналы); 3) избирательной гиперреактивности на эмоционально негативные стимулы; 4) невосприимчивости к эмоциональному контексту, согласно которой депрессия характеризуется гипореактивностью только на эмоциогенные сигналы обоих знаков [14]. Представленные гипотезы только начинают получать экспериментально-клиническую аргументацию. Например, существуют единичные экспериментальные подтверждения, позволяющие рассматривать гипореактивность на положительные эмоциогенные сигналы в качестве уникального фактора депрессии [17, 19]. Наряду с этим в литературе представлены противоречивые доказательства о повышенном захвате угрозы [7] и невосприимчивости к эмоциональному контексту [4, 14, 15] при БДР.

Важнейшим вызовом в исследованиях данного направления является поиск надежных нейробиологических маркеров и эндофенотипов, отражающих нарушенный индивидуальный баланс активности мотивационных систем подкрепления и страдания у лиц с риском развития депрессии и при различных клинических формах течения данного заболевания. Одним из наиболее точных и перспективных инструментов такой объективной нейрометрики является изучение мотивационного внимания с помощью зрительных вызванных потенциалов (ВП) при восприятии связанных с выживанием мотивационно значимых стимулов противоположного эмоционального знака (т.е. сигнализирующих о положительном подкреплении или страдании) в парадигме эмоционального Oddball [8]. Эмоциональная активация на мотивационно значимый сигнал проявляется позитивной волной, возникающей в окне латентности 300–1000 мс от начала предъявления стимула [5], и включает в себя волну P300 и поздний позитивный потенциал (late positivity potential, LPP). LPP отражает работу нейрофизиологического механизма контрастирования и обеспечения приоритета обработки сильных мотивационно значи-

мых сигналов над менее значимыми. Установлена важная роль LPP в дифференциации баланса мотивационных систем при восприятии подкрепляющих и угрожающих сигналов. LPP надежно усиливается при восприятии эмоциональных стимулов по отношению к нейтральным [5, 16], и прежде всего тех, которые отражают базовые потребности, связанные с выживанием и репродуктивным успехом [3]. Тем самым на индивидуальном уровне амплитуда и временная динамика LPP позволяют достаточно тонко градуировать величину отклика подкрепляющей и оборонительной мотивационных систем на сильные и слабые мотивационно значимые стимулы [18], что дает возможность рассматривать LPP в качестве практически идеальной нейрометрики индивидуальной оценки характера нарушения баланса мотивационных систем у индивидов с риском развития и клинической манифестацией БДР.

Единичные результаты исследований LPP при клинической депрессии свидетельствуют в пользу модели невосприимчивости к эмоциональному контексту [15, 19], а сниженная амплитуда LPP гипотетически рассматривается в качестве предвестника и/или фактора риска дебюта БДР [9, 10].

Целью настоящей работы явился анализ особенностей нарушений индивидуального баланса активности оборонительной и подкрепляющей систем головного мозга у пациентов с БДР по данным LPP, зарегистрированным в парадигме эмоционального Oddball при восприятии зрительных сильных и слабых мотивационно значимых сигналов подкрепления и страдания. Главная задача исследования – установить характер клинико-нейрофизиологических ассоциаций показателей нарушенного баланса с ведущими факторами, определяющими тяжесть и прогноз развития заболевания – выраженность депрессии, ангедонии и патологической руминации.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании принял участие 41 пациент психотерапевтического отделения клиники НИИ физиологии и фундаментальной медицины (НИИФМ) с установленным диагнозом БДР (DSM-IV и DSM-V) и 32 здоровых добровольца. Группы не различались по возрасту и полу. Участники исследования проходили клиническое интервью по Шкале Гамильтона для оценки депрессии (Hamilton Rating Scale for Depression 17, HDRS-17), заполняли опросники депрессии Бека II (Beck Depression Inventory II, BDI-II), где вопросы «потеря удовольствия» и «потеря интереса» использовались для оценки ангедонии, и Шкалу руминации (Ruminative Responses Scale,

RRS), включающую субшкалу патологической руминации (brooding) [13]. Исследование выполнено в лаборатории аффективной, когнитивной и трансляционной науки НИИФФМ, предварительно было получено одобрение Комитета по биомедицинской этике НИИФФМ и информированное согласие пациентов и здоровых добровольцев.

В модифицированной парадигме 3-стимульного эмоционального Oddball в качестве эмоциональных дистракторов [8] предъявлялись мотивационно значимые сигналы положительного подкрепления и страдания, отобранные из Международной системы аффективных изображений (IAPS) [11], соответствующие пяти эмоциональным категориям, из них позитивные стимулы слабой (ментальное удовольствие/счастье) и сильной (физическое удовольствие/сексуальное возбуждение) мотивационной значимости, негативные стимулы слабой (дисфория/потеря) и сильной (физическая угроза/повреждение) мотивационной значимости, а также эмоционально нейтральные. Стандартные и целевые стимулы представлены геометрическими паттернами. Общее количество стимулов составляло 650, из них 60 % стандартных, 20 % целевых и 20 % эмоциогенных дистракторов. Разработка стимулирующей последовательности выполнялась с помощью программного комплекса Presentation («NeuroBehavioral Systems», США). Последовательность предъявления была следующая: 1) точка фиксации – 500 мс; 2) стимул – 1000 мс; 3) пустой экран – 1600–1800 мс.

Регистрация ЭЭГ производилась усилителями SynAmp<sup>2</sup> («NeuroScan», Австралия) и его mylab («ANT Neuro», Нидерланды), 64 канала, монополярно (референт CPz), вертикальная и горизонтальная электроокулограммы. Полоса пропускания 0–100 Гц, частота дискретизации 1000 Гц. Импеданс поддерживался ниже 5 кОм. Офлайн анализ выполнялся в среде EEGLab v 13.6.5b с использованием MATLAB (2007b; «Mathworks Inc.», США). Перереферирование производилось на усредненную активность M1 и M2. Для удаления глазодвигательных артефактов и миографической активности рассчитывали независимые компоненты (ICA) [6]. Эпохи выделены от –200 до 1000 мс. Коррекция базового уровня от –200 до 0. Усреднение эпох проведено отдельно по пяти эмоциональным категориям для каждого испытуемого. Сравнивались значения средней амплитуды потенциала в теменно-центральной области (Pz, P3, P4, CP3, CP4, C3, Cz, C4) в трех временных окнах: 300–500, 500–700 и 700–1000 мс. Данные экспортировались в статистический пакет SPSS, 22. Показатели амплитуды потенциалов были стандартизованы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены демографические и клинические характеристики выборок. Группы не различались по возрасту ( $t(71) = 1,50$ ;  $p = 0,14$ ), полу ( $\chi^2(1,73) = 2,512$ ;  $p = 0,11$ ), уровню образования ( $\chi^2(1,73) = 0,072$ ;  $p = 0,79$ ) и различались по семейному положению ( $\chi^2(1, 73) = 8,13$ ;  $p = 0,004$ ). В группе пациентов выраженность депрессии по HDRS-17 и BDI-II была выше, чем у здоровых испытуемых ( $t = 17,93$ ;  $p < 0,0001$  и  $t = 17,25$ ;  $p < 0,0001$  соответственно).

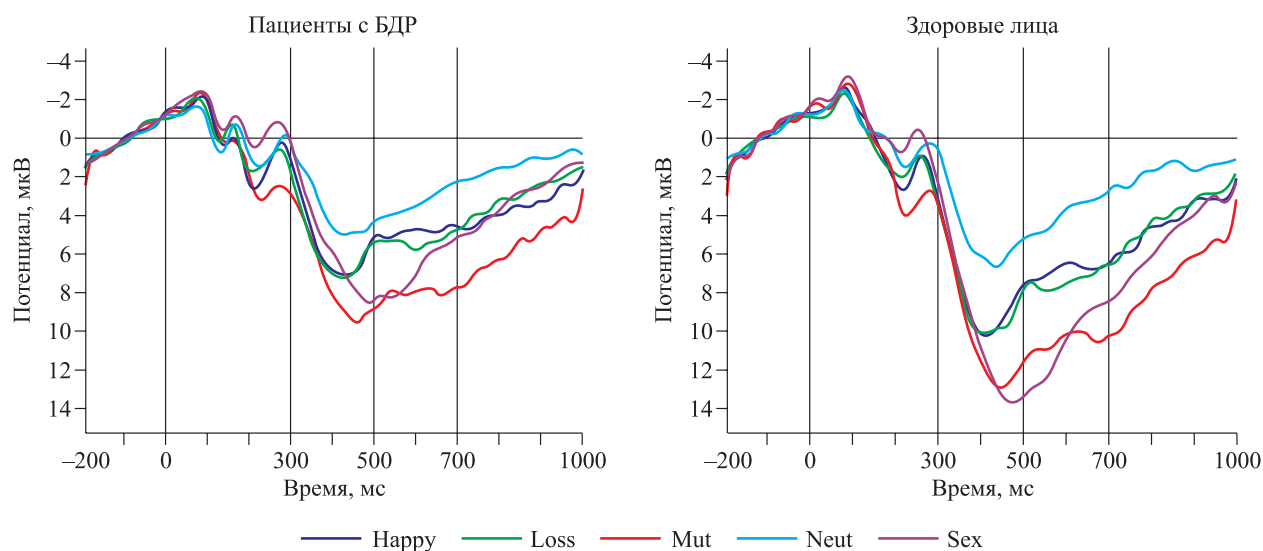
С помощью множественных ANOVA с факторами Группа (ГР 2: контроль, пациенты), Эмоциональная категория стимула (ЭК: 5) установлены достоверные взаимодействия ГР'ЭК во всех окнах LPP: 300–500 мс,  $F(1,68) = 4,74$ ,  $pG-G = 0,002$ ,  $\eta_p^2 = 0,063$ , 500–700 мс,  $F(1,68) = 5,40$ ,  $pG-G = 0,001$ ,  $\eta_p^2 = 0,071$ , 700–1000 мс,  $F(1,68) = 2,69$ ,  $pG-G = 0,037$ ,  $\eta_p^2 = 0,036$ . Последующие плановые сравнения показали, что у пациентов амплитуды ответов ниже, чем у здоровых испытуемых: в окне 300–500 мс – на стимулы всех эмоциональных категорий (ментальное удовольствие/счастье ( $p = 0,002$ ), физическое удовольствие/сексуальное возбуждение ( $p = 0,0001$ ), дисфория/потеря ( $p = 0,003$ ), физическая угроза/повреждение  $p = 0,001$ ), нейтральные стимулы ( $p = 0,039$ ), в окне 500–700 мс – на стимулы всех эмоциональных категорий, кроме нейтральных (ментальное удовольствие/счастье ( $p = 0,001$ ), физическое удовольствие/сексуальное возбуждение

Таблица 1

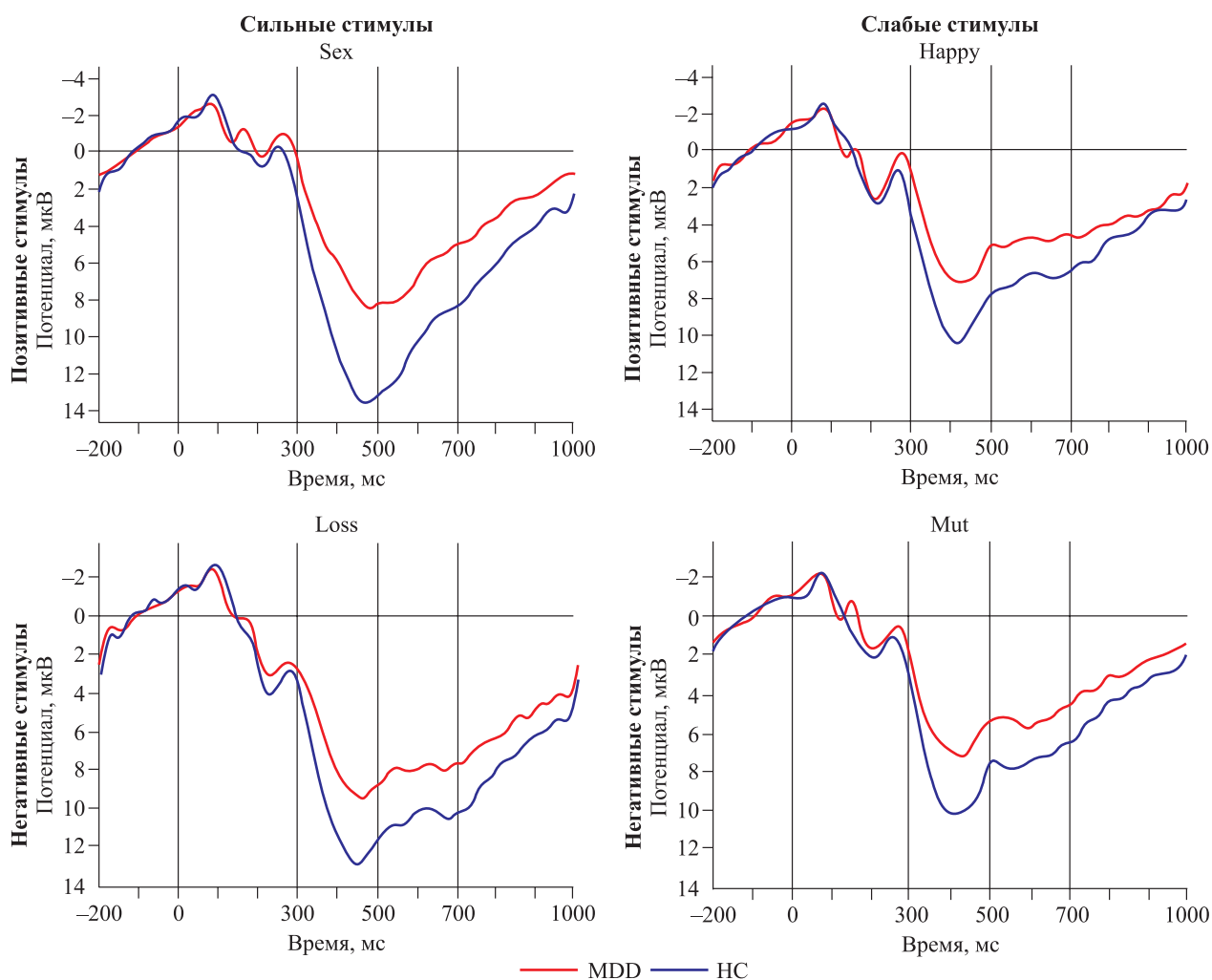
Характеристики выборки

Показатель	Здоровые лица, $n = 32$	Пациенты с БДР, $n = 41$
Возраст, М (SD)	39,94 (9,48)	43,78 (11,87)
Пол (мужчины/женщины)	16/16	13/28
Образование, %:		
среднее специальное	19,4	22,0
высшее	80,6	78,0
Семейное положение, %:		
в браке	71,9	46,3
в разводе	12,5	14,6
другое	15,6	39,1
Шкалы, М (SD):		
BDI-II	3,63 (3,29)	33,41 (10,41)
HDRS-17	2,40 (2,63)	17,39 (3,94)
RRS	35,83 (10,10)	58,49 (12,58)
Brooding	8,43 (2,84)	12,14 (3,94)

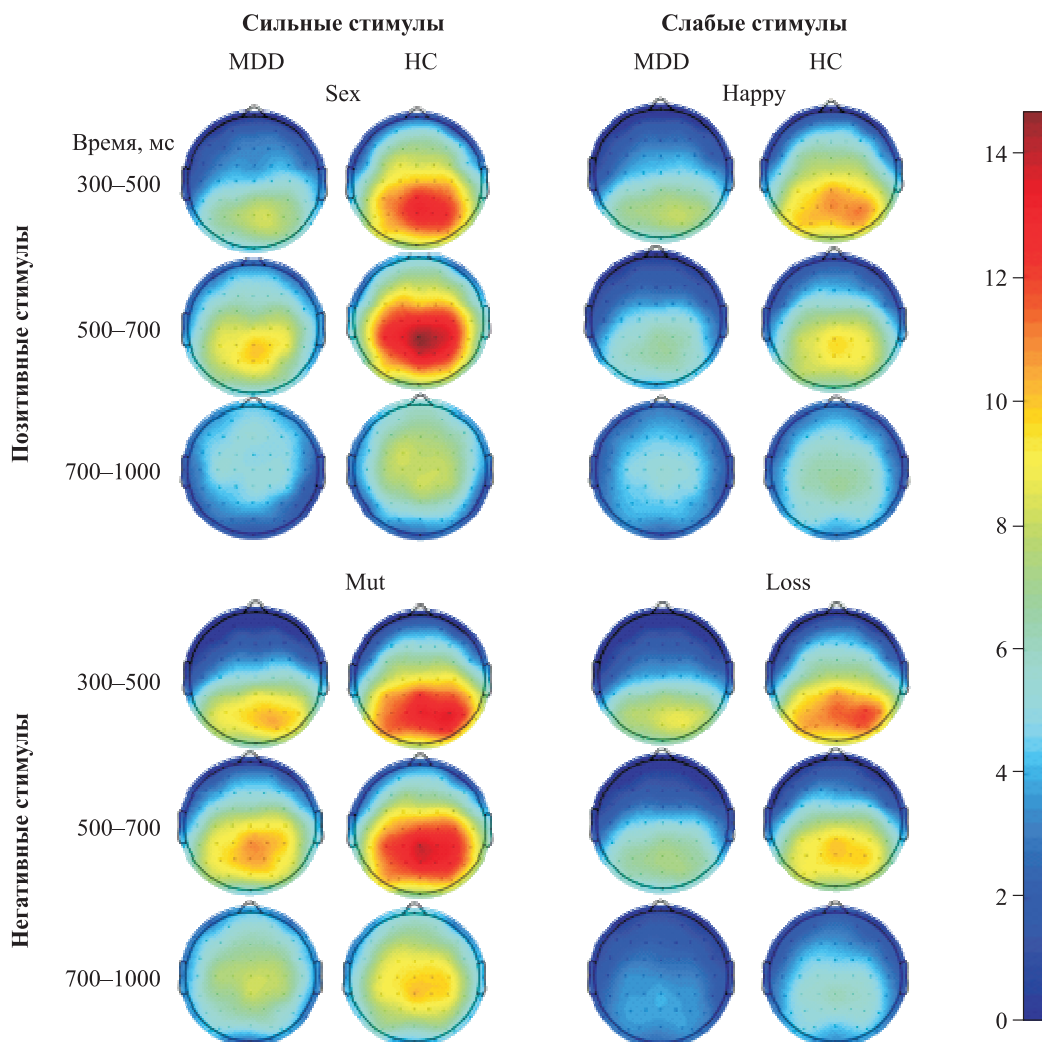
Примечание. М – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение.



**Рис. 1.** Усредненные ВП на различные мотивационно значимые стимулы (ментальное удовольствие/счастье (Happy), физическое удовольствие/сексуальное возбуждение (Sex), дисфория/потеря (Loss), физическая угроза/повреждение (Mut)), а также эмоционально-нейтральные стимулы (Neut) в теменно-центральной области (Pz, P3, P4, CP3, CP4, C3, Cz, C4) у пациентов с БДР и здоровых лиц



**Рис. 2.** Усредненные ВП в теменно-центральной области (Pz, P3, P4, CP3, CP4, C3, Cz, C4) на мотивационные стимулы у пациентов с БДР (MDD) и здоровых лиц (HC)



**Рис. 3.** Топографическое распределение амплитуды ВП на мотивационно значимые мотивационные стимулы в группах пациентов с БДР (MDD) и здорового контроля (HC) во временных окнах 300–500, 500–700 и 700–1000 мс

( $p = 0,0001$ ), дисфория/потеря ( $p = 0,002$ ), физическая угроза/повреждение ( $p = 0,001$ ), в окне 700–1000 мс – на стимулы эмоциональных категорий физическое удовольствие/сексуальное возбуждение ( $p = 0,0001$ ), дисфория/потеря ( $p = 0,009$ ), физическая угроза/повреждение ( $p = 0,010$ ). В дополнительных ANOVA с фиксацией фактора силы стимула (2: слабая/сильная мотивационная значимость стимула) получены значимые взаимодействия для положительных подкрепляющих сигналов во временных окнах LPP 300–500 мс ( $F(1,71) = 5,07$ ;  $p = 0,027$ ;  $\eta_p^2 = 0,067$ ) и 700–1000 мс ( $F(1,71) = 4,63$ ;  $p = 0,035$ ;  $\eta_p^2 = 0,061$ ). Анализ полученных взаимодействий свидетельствует, что у пациентов более выраженная супрессия амплитуды LPP наблюдается в ответ на сильные подкрепляющие сигналы, а это, в свою очередь, приводит к более выраженным межгрупповым различиям (рис. 1–3).

По данным корреляционного анализа установлены отрицательные ассоциации показателей выраженности депрессии и ангедонии с амплитудой LPP на сильные и слабые стимулы положительного подкрепления и страдания во всех временных окнах LPP. Наиболее высокие коэффициенты корреляции установлены для сильных подкрепляющих сигналов в окне LPP 500–700 мс с выраженностью депрессии (BDI-II:  $r = -0,48$ ;  $p = 0,001$ ) и ангедонией для факторов Потеря удовольствия ( $r = -0,47$ ;  $p = 0,001$ ) и Потеря интереса ( $r = -0,53$ ;  $p = 0,001$ ). Значимые отрицательные взаимосвязи между патологической руминацией и амплитудой LPP установлены только на сильные подкрепляющие сигналы в двух временных окнах LPP: 300–500 мс ( $r = -0,33$ ;  $p = 0,008$ ) и 700–1000 мс ( $r = -0,30$ ;  $p = 0,017$ ).

С помощью серии множественных пошаговых регрессий установлена предиктивная зна-



Таблица 2

Прогностическая значимость LPP на позитивные (sex) и негативные (mut) стимулы для депрессивных симптомов

Зависимая переменная	Множественный R	Скорректированный R <sup>2</sup>	F модели	Прогностическая переменная	$\beta$	<i>p</i>
BDI-II	0,50	0,24	23,08**	LPP(sex)500–700	–0,50	0,0001
	0,35	0,11	10,13*	LPP(mut)500–700	–0,35	0,002
Потеря удовольствия	0,47	0,21	19,71**	LPP(sex)500–700	–0,47	0,0001
	0,29	0,07	6,46*	LPP(mut)500–700	–0,35	0,013
Потеря интереса	0,53	0,27	28,01**	LPP(sex)500–700	–0,53	0,0001
	0,40	0,16	13,20*	LPP(mut)500–700	–0,40	0,001
Brooding	0,33	0,09	7,46*	LPP(sex)300–500	–0,33	0,008

Примечание. \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,0001$ .

чимось амплитуды LPP на мотивационно сильные стимулы положительного подкрепления (LPP(sex)) и страдания (LPP(mut)) в трех временных окнах LPP (300–500, 500–700, 700–1000 мс), на выраженность депрессии (BDI-II), ангедонии и патологической депрессивной руминации (статистически значимые результаты представлены в табл. 2). Амплитуда LPP на сильные мотивационные стимулы положительного подкрепления и, в меньшей степени, на мотивационно сильные сигналы страдания в окне LPP 500–700 мс достоверно предсказывает выраженность депрессии (BDI-II) и ангедонии, а в окне 300–500 мс амплитуда LPP только на сильные положительные мотивационные стимулы статистически значимо связана с выраженностью патологической руминации – низкие показатели амплитуды потенциала предсказывают высокие значения выраженности депрессии, ангедонии и патологической руминации.

В результате выполненного исследования зрительных ВП установлено, что снижение нейронального ответа (по данным LPP) в условиях восприятия сильных мотивационно значимых сигналов положительного подкрепления и, в меньшей степени, страдания значимо ассоциируется с выраженностью депрессии. Эти данные согласуются с результатами другой группы авторов, продемонстрировавших предиктивные свойства аттенюированного LPP на эмоциогенные сигналы в диагностике БДР [19]. Между тем в нашей работе выраженность депрессии значимо ассоциировалась и со снижением амплитуды LPP на сильные мотивационно значимые стимулы страдания, хотя и в меньшей степени. Полученные данные свидетельствуют в пользу патогенетической модели БДР, основанной на невосприимчивости к эмоциональному контексту, согласно которой при депрессии снижено внимание на все эмоциогенные стимулы [4, 14, 15]. Однако более выраженное снижение нейронального от-

вета на позитивные сигналы свидетельствует об одновременном наличии относительно большего дефицита системы подкрепления. Нами впервые установлено, что снижение амплитуды LPP на мотивационно сильные сигналы обоих знаков достоверно коррелирует не только с клинической выраженностью депрессии в целом, но и с симптомами ангедонии. Кроме того, мы впервые продемонстрировали, что гипореактивность LPP на мотивационно сильные подкрепляющие сигналы достоверно ассоциируется с усилением патологической руминации – повторяющегося непроизвольного самореферирования и фокусирования на собственных негативных переживаниях.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, величину амплитуды LPP зрительных ВП на сильные мотивационно значимые сигналы положительного подкрепления и страдания можно рассматривать в качестве перспективного нейробиологического маркера нарушений индивидуального баланса активности оборонительной и подкрепляющей систем головного мозга у пациентов с БДР. С учетом установленных значимых клинико-нейрофизиологических ассоциаций, особенно с выраженностью прогностически неблагоприятных симптомов ангедонии и патологической руминации, ухудшающих прогноз заболевания, нейрометрику LPP можно использовать в объективной диагностике риска возникновения депрессии, характера клинической динамики и для определения стратегии персонализированной терапии.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование поддержано грантом РФФ 16-15-00128 (руководитель – Л.И. Афтанас), проектом НТИ Нейронет «Нейроассистивные технологии», субпроект «Когниграф», 2017–2018 гг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Benning S.D., Ait Oumeziane B. Reduced positive emotion and underarousal are uniquely associated with subclinical depression symptoms: Evidence from psychophysiology, self-report, and symptom clusters // *Psychophysiology*. 2017. 54. (7). 1010–1030.
2. Bradley M.M., Sabatinelli D., Lang P. Emotion and motivation in the perceptual processing of natural scenes // *Scene vision: Making sense of what we see* / Eds. K. Kveraga, M. Bar. Cambridge: MIT Press, 2014. 273–290.
3. Briggs K.E., Martin F.H. Affective picture processing and motivational relevance: Arousal and valence effects on ERPs in an oddball task // *Int. J. Psychophysiol.* 2009. 72. (3). 299–306.
4. Bylsma L.M., Morris B.H., Rottenberg J. A meta-analysis of emotional reactivity in major depressive disorder // *Clin. Psychol. Rev.* 2008. 28. (4). 676–691.
5. Cuthbert B.N., Schupp H.T., Bradley M.M., Birbaumer N., Lang P.J. Brain potentials in affective picture processing: Covariation with autonomic arousal and affective report // *Biol. Psychol.* 2000. 52. 95–111.
6. Frolich L., Andersen T., Morup M. Classification of independent components of EEG into multiple artifact classes // *Psychophysiology*. 2015. 52. (1). 32–45.
7. Groenewold N.A., Opmeer E.M., de Jonge P., Aleman A., Costafreda S.G. Emotional valence modulates brain functional abnormalities in depression: Evidence from a meta-analysis of fMRI studies // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2013. 37. (2). 152–163.
8. Hajcak G., MacNamara A., Olvet D.M. Event-related potentials, emotion, and emotion regulation: An integrative review // *Dev. Neuropsychol.* 2010. 35. (2). 129–155.
9. Kayser J., Tenke C.E., Abraham K.S., Alschuler D.M., Alvarenga J.E., Skipper J., Warner V., Bruder G.E., Weissman M.M. Motivated attention and family risk for depression: Neuronal generator patterns at scalp elicited by lateralized aversive pictures reveal blunted emotional responsivity // *Neuroimage Clin.* 2017. 14. 692–707.
10. Kujawa A., Hajcak G., Torpey D., Kim J., Klein D.N. Electrocortical reactivity to emotional faces in young children and associations with maternal and paternal depression // *J. Child Psychol. Psychiatry.* 2011. 53. (2). 207–215.
11. Lang P.J., Bradley M.M., Cuthbert B.N. International affective picture system (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual. Technical Report A-8. Gainesville: University of Florida, 2008.
12. Loonen A.J., Ivanova S.A. Circuits regulating pleasure and happiness in major depression // *Med. Hypotheses*. 2016. 87. 14–21.
13. Nolen-Hoeksema S. The role of rumination in depressive disorders and mixed anxiety/depressive symptoms // *J. Abnorm. Psychol.* 2000. 109. (3). 504–511.
14. Rottenberg J., Gross J.J., Gotlib I.H. Emotion context insensitivity in major depressive disorder // *J. Abnorm. Psychol.* 2005. 114. (4). 627–639.
15. Proudfit G.H., Bress J.N., Foti D., Kujawa A., Klein D.N. Depression and event-related potentials: Emotional disengagement and reward insensitivity // *Curr. Opin. Psychol.* 2015. 4. 110–113.
16. Schupp H.T., Cuthbert B.N., Bradley M.M., Cacioppo J.T., Ito T., Lang P.J. Affective picture processing: The late positive potential is modulated by motivational relevance // *Psychophysiology*. 2000. 37. (2). 257–261.
17. Shankman S.A., Nelson B.D., Sarapas C., Robison-Andrew E.J., Campbell M.L., Altman S.E., McGowan S.K., Katz A.C., Gorka S.M. A psychophysiological investigation of threat and reward sensitivity in individuals with panic disorder and/or major depressive disorder // *J. Abnorm. Psychol.* 2013. 122. (2). 322–338.
18. Stockburger J., Renner B., Weike A.I., Hamm A.O., Schupp H.T. Vegetarianism and food perception. Selective visual attention to meat pictures // *Appetite*. 2009. 52. (2). 513–516.
19. Weinberg A., Perlman G., Kotov R., Hajcak G. Depression and reduced neural response to emotional images: Distinction from anxiety, and importance of symptom dimensions and age of onset // *J. Abnorm. Psychol.* 2016. 125. (1). 26–39.

## **INDIVIDUAL BALANCE OF DEFENSIVE AND APPETITIVE MOTIVATIONAL SYSTEMS OF THE BRAIN AS A LIKELY NEUROPHYSIOLOGICAL ENDOPHENOTYPE OF DEPRESSION IN THE METRIC OF COGNITIVE EVOKED POTENTIALS**

**Lyubomir Ivanovich AFTANAS<sup>1</sup>, Svetlana Markovna PUSTOVOYT<sup>1</sup>,  
Natalya Vladimirovna NOVOZHILOVA<sup>1</sup>, Olga Aleksandrovna AKHMETOVA<sup>1</sup>,  
Anatoliy Aleksandrovich OVCHINNIKOV<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

<sup>2</sup> *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

---

The aim of the study was to investigate the characteristics of the individual balance of the activity of brain defensive and reinforcing systems in patients with major depressive disorder. **Material and methods.** In 41 patients with major depressive disorder and 32 healthy subjects, we investigated visual evoked potentials in the emotional Oddball paradigm in perception of high and low arousal motivational signals of reward and threat. **Results and discussion.** It was established that reduced amplitude of the neuronal response in the perception of high arousal motivational signals of reward and, in a less degree, threat, is associated with an indicator of the clinical severity of depression. It supports the model of emotion context insensitivity in depression. However, a more pronounced reduce in the neuronal response to stimuli of reward may indicate a prevailing deficiency of the reinforcement system. Thus, the late positive potential magnitude of visual evoked potentials for high arousal motivational signals of reward and threat can be viewed as a promising objective neurobiological marker for monitoring the dynamics of the disturbed individual balance of the defensive and reinforcing brain systems in major depressive disorder patients which can become an important tool of personalized prevention and treatment strategy.

---

**Key words:** major depressive disorder, visual evoked potentials, late positive potential, individual balance of motivational systems, neurophysiological endophenotype.

---

*Aftanas L.I. – doctor of medical sciences, professor, academician of the RAS, director, psychiatrist, psychotherapist, head of laboratory for affective, cognitive and translational neurosciences*

*Pustovoyt S.M. – researcher of laboratory for affective, cognitive and translational neurosciences,  
e-mail: kvurts@gmail.com*

*Novozhilova N.V. – junior researcher of laboratory for affective, cognitive and translational neurosciences*

*Akhmetova O.A. – researcher of laboratory for affective, cognitive and translational neurosciences*

*Ovchinnikov A.A. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for psychiatry, narcology, psychiatry and clinical psychology*

## КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КЛЕТОК С ИЗОЛИРОВАННОЙ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ДЕЛЕЦИЕЙ 13q14 ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ

Тамара Павловна ЗАГОСКИНА<sup>1</sup>, Екатерина Николаевна ЗОТИНА<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Кировский государственный медицинский университет Минздрава России  
610998, г. Киров, ул. Карла Маркса, 112

<sup>2</sup> Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России  
610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72

В настоящее время является актуальным поиск новых факторов прогноза, улучшающих стратификацию пациентов на группы риска и позволяющих определить показания к различным программам терапии хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) с целью повышения их клинической эффективности. **Материал и методы.** В работе представлены данные исследования хромосомных aberrаций с помощью метода FISH у 224 больных ХЛЛ в момент постановки диагноза, в том числе у 49 пациентов в стадии А, у 166 – в стадии В и у 29 – в стадии С. **Результаты и их обсуждение.** Хромосомные нарушения обнаружены у 176 (72 %) больных. Наиболее частой aberrацией при ХЛЛ явилась del13q14, которая обнаружена у 124 (51 %) пациентов и встречалась изолированно или в сочетании с другими хромосомными изменениями. В качестве единственной хромосомной аномалии del13q14 обнаружена у 77 пациентов, которые отличались друг от друга по количеству опухолевых клеток, имеющих изолированную del13q14. Мы изучили прогностическое значение содержания опухолевых клеток с изолированной делецией 13q14 у больных ХЛЛ в момент постановки диагноза. Проведен сравнительный анализ двух групп пациентов, у которых количество лейкозных клеток, имеющих указанную делецию, составило 60 % и более или менее 60 %. Установлено, что количество клеток с изолированной del13q14 является предиктором выживаемости, свободной от лечения, а также общей выживаемости больных ХЛЛ и может служить дополнительным фактором прогноза.

**Ключевые слова:** хронический лимфолейкоз, делеция 13q14, клинический исход, прогноз.

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) представляет собой лимфопролиферативное заболевание, возникающее вследствие мутаций в геноме В-лимфоцитов, которые приводят к трансформации и аномальному разрастанию отдельных В-клеточных клонов. Заболевание характеризуется разнообразной клинической картиной, длительностью и ответом на терапию. Продолжительность жизни пациентов варьирует от полутора до двух десятков лет. В одних случаях заболевание протекает индолентно и длительное время не требует назначения лечения, в других – быстро прогрессирует в течение нескольких месяцев, несмотря на интенсивную терапию [3, 9]. Принимая во внимание выраженную гетерогенность ХЛЛ, не исключено, что он представлен разными болезнями, отличающимися по патогенезу. Единственный биологический маркер, определяющий вариант ХЛЛ, до сих пор не найден. В настоящее время варианты заболевания дифференцируются с помощью мутационного статуса генов *IgVH* или

суррогатных маркеров [2, 6]. Возможно, различия в патогенезе проявляются разным распределением хромосомных нарушений.

В последние годы достигнут значительный прогресс в лечении ХЛЛ. Вместе с тем при использовании современной терапии полные и частичные ремиссии удается достичь не у всех пациентов. Резистентных к терапии больных следует относить к группе высокого риска, поскольку продолжительность их жизни не превышает 3–5 лет, и очень важно найти критерии, которые позволили бы выделить пациентов с ожидаемой рефрактерностью к химио- и иммунохимиотерапии [9, 12]. Причины различного течения заболевания и неоднородности ответа на терапию при ХЛЛ остаются до конца не расшифрованными. Но можно предположить, что хромосомные нарушения играют решающую роль в развитии ХЛЛ.

В интерфазных ядрах опухолевых клеток до 80 % пациентов с ХЛЛ могут встречаться хромосомные aberrации [6]. На сегодняшний день

*Загоскина Т.П.* – к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии, e-mail: zagoskina@blood.kirov.ru

*Зотина Е.Н.* – к.м.н., руководитель научно-клинического отдела гематологии, химиотерапии и трансплантации костного мозга, e-mail: zotina@niigpk.ru



доказано, что хромосомные нарушения являются значимыми независимыми предикторами беспрогрессивной и общей выживаемости больных ХЛЛ. Наиболее распространенным хромосомным нарушением является делеция длинного плеча 13-й хромосомы (del13q14), которая связана с благоприятным прогнозом и с большим интервалом времени между постановкой диагноза и началом лечения [5, 7, 8, 10]. Делеция хромосомы 13 при ХЛЛ чаще всего охватывает участок 13q14. Наличие изолированной del13q14 у больных ХЛЛ продолжает считаться благоприятным фактором течения заболевания. Так, при обследовании 159 ранее не леченных больных ХЛЛ, выполненном в клинике Майо [7], изолированная del13q14 выявлена в 45 % случаях. Медиана общей выживаемости (ОВ) пациентов с единственной del13q14 равнялась 17 лет, тогда как у больных с нормальным кариотипом – 13,2 года.

В то же время установлено, что группа больных с изолированной del13q14 также характеризуется неоднородностью. При рассмотрении этой категории пациентов выявлены различия в клиническом течении заболевания, ответе на терапию. Больные с индолентным и прогрессирующим течением ХЛЛ отличались друг от друга по количеству опухолевых клеток, содержащих изолированную del13q14 [1, 4, 11]. Имеющиеся в литературе сведения по этому вопросу немногочисленны и противоречивы. Кроме того, отсутствуют данные о влиянии количества лейкозных клеток с del13q14 на выживаемость, свободную от лечения, и общую выживаемость больных ХЛЛ.

Целью настоящего исследования явилась оценка прогностического значения количества опухолевых клеток, содержащих изолированную del13q14, у больных ХЛЛ.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включено 244 больных ХЛЛ, в том числе 163 (67 %) мужчины, 81 (33 %) женщина. Возраст обследуемых колебался от 33 до 81 года. Медиана возраста составила 60 лет. У 49 (20 %) пациентов установлена стадия А, у 166 (68 %) – стадия В и у 29 (12 %) – стадия С по классификации Binet. Медиана времени наблюдения за больными составила 68 месяцев (от 2 до 175 месяцев). Диагноз ХЛЛ верифицирован согласно общепринятым критериям, а именно общему анализу крови, иммунофенотипированию клеток периферической крови и костного мозга, миелограмме пунктата грудины, гистологическому исследованию биоптата лимфатического узла и трепанобиоптата подвздошной кости с иммуно-

гистохимией [3]. Кроме того, для уточнения распространенности опухолевого процесса выполнялись рентгенография органов грудной клетки, ультразвуковое исследование или компьютерная томография органов брюшной полости и забрюшинного пространства.

Хромосомные аномалии в мононуклеарах периферической крови определяли методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH), с помощью зондов к локусам 13q14.3; 12p11-q11; 11q22.3 и 17p13.1. В работе использован коммерческий многоцветный набор ДНК-зондов («Abbott/Vysis», США), состоящий из двух коктейлей: LSI p53/LSI ATM (SpectrumOrange/SpectrumGreen) и LSI D13S319/LSI 13q34/CEP 12 (SpectrumOrange/SpectrumAqua/SpectrumGreen) («Abbott/Vysis»). Анализ препаратов проводили с помощью флуоресцентного микроскопа «Axioplan-2-mot» («Carl Zeiss», Германия) с набором фильтров DAPI, Orange, Green, Aqua (Vysis, США). В каждом случае анализировали не менее 200 интерфазных клеток с четкими сигналами. Пороговые значения всех исследованных делеций и трисомии-12 составляли соответственно 9 и 3 %.

Исследования выполняли в момент постановки диагноза до начала проведения специфической терапии. Кроме того, у всех больных до начала лечения оценивали экспрессию антигена CD38 и белка Zap-70 с помощью проточной цитофлуориметрии, а также содержание тимидинкиназы в сыворотке крови радиоэнзимным методом. Уровень экспрессии Zap-70 и CD38 считали позитивным, если он выявлялся на поверхности соответственно более чем 30 и 20 % клеток.

Для изучения достоверности различий качественных признаков в сравниваемых группах использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса, а в случаях малого числа наблюдения – точный критерий Фишера. Кривые выживаемости, свободной от лечения, и ОВ строили по методу Каплана – Майера. Кривые выживаемости сравнивали по значению логрангового критерия. Оценка прогностической ценности признаков в отношении ОВ изучали, применяя модель пропорциональных рисков Кокса. Различия между показателями считали статистически значимыми при  $p < 0,05$  для всех критериев.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью метода FISH хромосомные аберрации обнаружены у 176 (72 %) больных ХЛЛ. Нормальный кариотип выявлен у 68 (28 %) обследованных. У 127 (72 %) пациентов встречалось одно хромосомное нарушение, у 42 (24 %) – два, у 5 (3 %) – три и у 2 (1 %) – четыре хромосомных

аномалии. Наиболее частой хромосомной аберрацией являлась del13q14, она обнаружена у 124 (51 %) пациентов, реже встречались del11q22 и трисомия-12 – у 49 (20 %) и 24 (10 %) больных соответственно. Делеция 17p13 выявлена у 12 (5 %) пациентов. В качестве единственной хромосомной аномалии del13q14 обнаружена у 77 (62 %) больных, в сочетании с другими хромосомными нарушениями – у 47 (38 %) пациентов. Среди больных с изолированной del13q14 у 54 (70 %) делеция произошла в локусе D13S319, у 5 (7 %) – в локусе RB-1 и у 18 (23 %) – в обоих локусах.

Наряду с этим отмечено, что больные ХЛЛ отличаются друг от друга по количеству опухоле-

вых клеток, имеющих изолированную del13q14. Нами изучены особенности клинического течения ХЛЛ в зависимости от количества лейкозных клеток с del13q14. Больные с изолированной del13q14 были разделены на две группы в зависимости от содержания клеток, имеющих данную аберрацию. Согласно результатам ROC-анализа, пороговое значение (чувствительность – 95 %, специфичность – 87 %) равнялось 60 %. В первую группу вошли 36 (47 %) пациентов с del13q14 в менее чем 60 % клеток, во вторую группу – 41 (53 %) больной с del13q14 в 60 % клеток и более. В табл. 1 и 2 представлена характеристика больных ХЛЛ в зависимости от коли-

**Таблица 1**

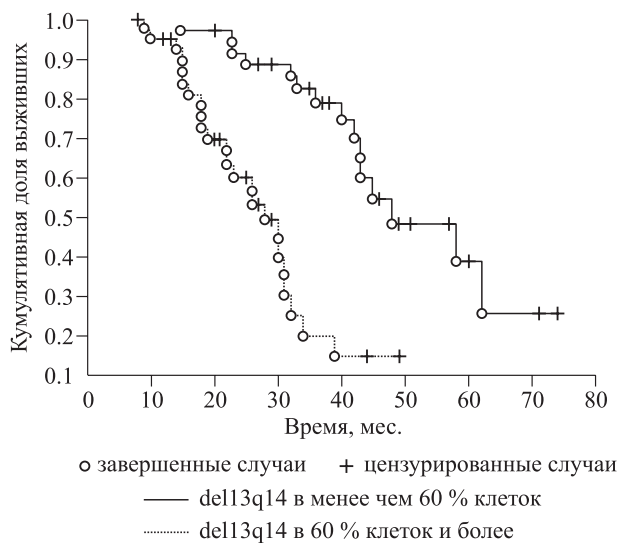
*Клиническая характеристика больных ХЛЛ в зависимости от количества клеток с del13q14*

Параметр	Количество клеток с del13q14		p
	< 60 % (n = 36)	≥ 60 % (n = 41)	
Медиана возраста (диапазон), лет	63 (35–81)	60 (38–75)	0,723
Пол			0,803
Количество мужчин	20 (56 %)	25 (61 %)	
Количество женщин	16 (44 %)	16 (39 %)	
Стадия по Binet:			0,964
А	6 (17 %)	4 (10 %)	
В	28 (78 %)	31 (76 %)	
С	2 (5 %)	16 (14 %)	
В-симптомы:			0,903
есть	17 (47 %)	21 (51 %)	
нет	19 (53 %)	20 (49 %)	
Лимфаденопатия:			0,330
есть	31 (86 %)	39 (95 %)	
нет	5 (14 %)	2 (5 %)	
Гепатомегалия:			0,096
есть	24 (67 %)	35 (85 %)	
нет	12 (33 %)	6 (15 %)	

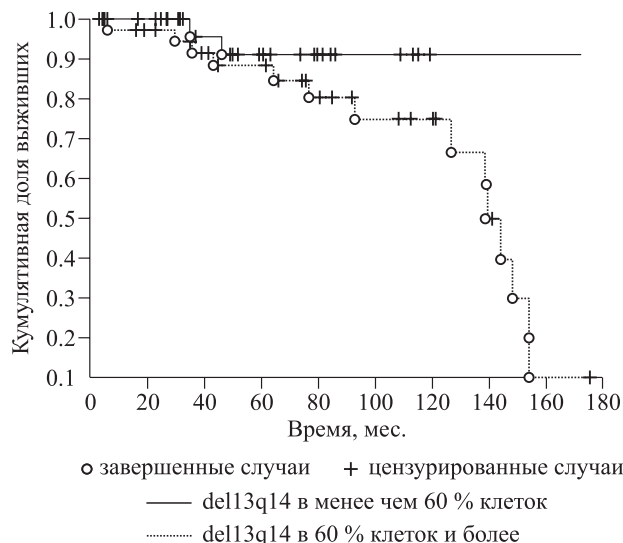
**Таблица 2**

*Биологическая характеристика больных ХЛЛ в зависимости от количества клеток с del13q14*

Параметр	Количество клеток с del13q14		p
	< 60 % (n = 36)	≥ 60 % (n = 41)	
Содержание гемоглобина, г/л	131,8 ± 5,62	127,1 ± 4,59	0,515
Содержание тромбоцитов, ×10 <sup>9</sup> /л	168,8 ± 12,41	157,3 ± 11,90	0,506
Содержание лейкоцитов, ×10 <sup>9</sup> /л	21,2 ± 4,44	39,3 ± 5,37	0,015
Содержание лимфоцитов, ×10 <sup>9</sup> /л	18,5 ± 3,12	31,7 ± 4,75	0,027
Содержание лактатдегидрогеназы, Ед/л	351,2 ± 23,37	408,6 ± 35,41	0,193
Содержание тимидинкиназы, Ед/л	9,7 ± 1,75	18,9 ± 2,46	0,004
CD38+	30 (83 %)	37 (90 %)	0,324
CD38-	6 (17 %)	4 (10 %)	
Zap-70+	4 (11 %)	40 (98 %)	< 0,001
Zap-70-	32 (89 %)	1 (2 %)	



**Рис. 1.** Выживаемость, свободная от лечения, больных ХЛЛ в зависимости от количества клеток с del13q14



**Рис. 2.** Общая выживаемость больных ХЛЛ в зависимости от количества клеток с del13q14

чества опухолевых клеток с del13q14. Пациенты с различным количеством клеток, имеющих данное хромосомное нарушение, не отличались друг от друга по возрасту, полу, стадии заболевания, наличию В-симптомов, лимфаденопатии, органомегалии, содержанию гемоглобина, тромбоцитов, уровню ЛДГ, экспрессии CD38. Вместе с тем группы больных отличались друг от друга по количеству лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови, по концентрации сывороточной тимидинкиназы, а также по уровню экспрессии белка Zap-70.

Медиана наблюдения за больными составила 68 месяцев. При анализе свободной от лечения выживаемости больных ХЛЛ в зависимости от количества лейкозных клеток с del13q14 установлено, что ее медиана у пациентов с del13q14 в менее чем 60 % клеток равнялась 47 месяцам, у больных с del13q14 в 60 % клеток и более – 23 месяцам (рис. 1). У пациентов с del13q14 в менее чем 60 % клеток медиана ОВ не достигнута за период наблюдения, тогда как у больных с del13q14 в 60 % клеток и более она составила 139 месяцев (рис. 2). Таким образом, группы пациентов с различным количеством клеток с del13q14 значительно различались по выживаемости, свободной от лечения, и ОВ: у больных с del13q14 в 60 % клеток и более величины обоих показателей были достоверно меньше.

Для выявления независимых факторов прогноза ОВ проведен однофакторный и многофакторный анализ с использованием модели пропорциональных рисков Кокса, в который были включены такие параметры, как возраст ( $\leq 60$  лет

или  $> 60$  лет), пол (мужской или женский), стадия заболевания (стадия А или стадии В и С), содержание тимидинкиназы ( $\leq 10$  Ед/л или  $> 10$  Ед/л), уровень экспрессии белка Zap-70 ( $< 20$  % и  $\geq 20$  %) и содержание клеток с изолированной del13q14 ( $< 60$  % или  $\geq 60$  %). Однофакторный анализ ОВ показал, что продолжительность жизни больных ХЛЛ была значительно короче у пациентов старше 60 лет ( $p = 0,017$ ), со стадией В или С по Binet ( $p < 0,001$ ), с del13q14 в 60 % клеток и более ( $p = 0,009$ ), с содержанием тимидинкиназы в сыворотке крови 10 Ед/л и более ( $p = 0,023$ ) и положительным уровнем экспрессии Zap-70 ( $p < 0,001$ ). При проведении многофакторного анализа установлено, что независимыми факторами прогноза ОВ у больных ХЛЛ служат уровень экспрессии Zap-70, концентрация сывороточной тимидинкиназы, а также количество лейкозных клеток с изолированной del13q14 (табл. 3).

**Таблица 3**

Многофакторный анализ общей выживаемости у больных хроническим лимфолейкозом

Параметр	Отношение рисков (95%-й доверительный интервал)	<i>p</i>
Возраст	3,24 (0,67–15,8)	0,152
Стадия по Binet	2,74 (0,58–14,0)	0,206
Тимидинкиназа	1,42 (1,13–1,69)	$< 0,001$
Zap-70	1,30 (1,10–1,52)	$< 0,001$
Del13q14	1,25 (1,08–1,46)	$< 0,001$

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что количество опухолевых клеток с изолированной del13q14 влияет на клиническое течение ХЛЛ. Пациенты, имеющие изолированную del13q14 в 60 % лейкозных клеток и более, характеризуются менее благоприятным прогнозом заболевания по сравнению с больными с del13q14 в менее чем 60 % клеток. Содержание клеток с del13q14 в 60 % лимфоидных элементов и более является предиктором короткой выживаемости, свободной от лечения, и ОВ больных ХЛЛ. При этом число опухолевых клеток с изолированной del13q14 в комплексе с такими факторами прогноза, как уровень экспрессии белка Zap-70 и концентрация сывороточной тимидинкиназы, обеспечивает более точную стратификацию пациентов ХЛЛ на группы риска в момент постановки диагноза, позволяя тем самым более точно выделить лиц, подверженных быстрому прогрессированию опухолевого процесса.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кировского НИИ гематологии и переливания крови и Кировского государственного медицинского университета.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dal Bo M., Rossi F.M., Rossi D., Deambrogi C., Bertoni F., del Giudice I., Palumbo G., Nanni M., Rinaldi A., Kwee I., Tissino E., Corradini G., Gozzetti A., Cencini E., Ladetto M., Coletta A.M., Luciano F., Bulian P., Pozzato G., Laurenti L., Forconi F., di Raimondo F., Marasca R., del Poeta G., Gaidano G., Foa R., Guarini A., Gattei V. 13q14 deletion size and number of deleted cells both influence prognosis in chronic lymphocytic leukemia // *Genes Chromosomes Cancer*. 2011. 50. (8). 633–643.
2. Döhner H., Stilgenbauer S., Benner A., Leupolt E., Kröber A., Bullinger L., Döhner K., Bentz M., Lichter P. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia // *N. Engl. J. Med.* 2000. 343. (26). 1910–1916.
3. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D., Caligaris-Cappio F., Dighiero G., Döhner H., Hillmen P., Keating M., Montserrat E., Chiorazzi N., Stilgenbauer S., Rai K.R., Byr J.C., Eichhorst B., O'Brien S., Robak T., Seymour J.F., Kipps T.J. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL // *Blood*. 2018. 131. (25). 2745–2760.
4. Hernandez J.A., Rodriguez A.E., Gonzalez M., Benito R., Fontanillo C., Sandoval V., Romero M., Martin-Nunez G., de Coca A.G., Fisac R., Galende J., Recio I., Ortuno F., Garcia J.L., de las Rivas J., Gutierrez N.C., san Miguel J.F., Hernandez J.M. A high number of losses in 13q14 chromosome band is associated with a worse outcome and biological differences in patients with B-cell chronic lymphoid leukemia // *Haematologica*. 2009. 94. (3). 364–371.
5. Hrubá M., Subrt I. Multiclonal monoallelic 13q14 interstitial deletion in chronic lymphocytic leukemia // *Leuk. Lymphoma*. 2013. 54. (2). 413–416.
6. Janssens A., van Roy N., Poppe B., Noens L., Philippe J., Speleman F., Offner F. High-risk clonal evolution in chronic B-lymphocytic leukemia: single-center interphase fluorescence in situ hybridization study and review of the literature // *Eur. J. Haematol.* 2012. 89 (1). 72–80.
7. Ouillette P., Collins R., Shakhan S., Li J., Li C., Shedden K., Malek S.N. The prognostic significance of various 13q14 deletions in chronic lymphocytic leukemia // *Clin. Cancer Res.* 2011. 17. (21). 6778–6790.
8. Ouillette P., Erba H., Kujawski L., Kaminski M., Shedden K., Malek S.N. Integrated genomic profiling of chronic lymphocytic leukemia identifies subtypes of deletion 13q14 // *Cancer Res.* 2008. 68. (4). 1012–1021.
9. Rodriguez-Vicente A.E., Diaz M.G., Hernandez-Rivas J.M. Chronic lymphocytic leukemia: a clinical and molecular heterogenous disease // *Cancer Genet.* 2013. 206 (3). 49–62.
10. Van Dyke D.L., Shanafelt T.D., Call T.G., Zent C.S., Smoley S.A., Rabe K.G., Schwager S.M., Sonbert J.C., Slager S.L., Kay N.E. A comprehensive evaluation of the prognostic significance of 13q deletions in patients with B-chronic lymphocytic leukaemia // *Br. J. Haematol.* 2010. 148. (4). 544–550.
11. Yi S., Li H., Li Z., Xiong W., Liu H., Liu W., Lv R., Yu Z., Zou D., Xu Y., An G., Qiu L. The prognostic significance of 13q deletions of different sizes in patients with B-cell chronic lymphoproliferative disorders: a retrospective study // *Int. J. Hematol.* 2017. 106. (3). 418–425.
12. Zenz T., Döhner H., Stilgenbauer S. Genetics and risk-stratified approach to therapy in chronic lymphocytic leukemia // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2007. 20. (3). 439–453.



## **CLINICAL VALUE OF CELL CONTENT WITH ISOLATED INTERSTITIAL DELETION 13q14 IN CHRONIC LYMPHATIC LEUKEMIA**

**Tamara Pavlovna ZAGOSKINA<sup>1</sup>, Ekaterina Nikolaevna ZOTINA<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Kirov State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation  
610998, Kirov, Karl Marks str., 112*

<sup>2</sup> *Kirov Scientific Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of FMBA of Russia  
610027, Kirov, Krasnoarmeyskaya str., 72*

---

Currently, it is urgent to search for new prognostic factors that improve the stratification of patients into risk groups and allow the determination of indications for various CLL therapy programs with the aim of increasing their clinical effectiveness. **Material and methods.** The research presents the data on chromosomal aberrations with the help of the FISH method in 224 CLL patients during the diagnosis, among them 49 patients are in stage A, 166 patients – in stage B and 29 patients – in stage C. **Results and discussion.** Chromosomal abnormalities were detected in 176 (72 %) patients. The most frequent aberration in CLL was del13q14, which was found in 124 (51 %) patients and occurred alone or in combination with other chromosomal changes. As the only chromosomal abnormality, del13q14 was found in 77 patients who differed from each other in the number of tumor cells that had isolated del13q14. We have studied the prognostic value of the content of tumor cells with isolated 13q14 deletion in CLL patients during the diagnosis. A comparative analysis of 2 groups of patients who had the percentage of leukemia cells with this deletion (it was  $\geq 60$  % or  $< 60$  %) was conducted. It has been established that the number of cells with isolated del13q14 is an independent predictor of survival, free from treatment, as well as the overall survival of CLL patients and may serve as an additional prognostic factor.

---

**Key words:** chronic lymphocytic leukemia, 13q14 deletion, clinical outcome, prognosis.

**Zagoskina T.P.** – candidate of medical sciences, assistant professor of the department of hospital therapy, e-mail: zagoskina@blood.kirov.ru

**Zotina E.N.** – candidate of medical sciences, head of the scientific and clinical department of hematology, chemotherapy and bone marrow transplantation, e-mail: zotina@niigpk.ru

## ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СУБСТРАТА И ИММУНОГИСТОАРХИТЕКТониКИ ПРИ НОДУЛЯРНОЙ ЛИМФОМЕ ХОДЖКИНА С ЛИМФОИДНЫМ ПРЕОБЛАДАНИЕМ

Ирина Александровна ШУПЛЕЦОВА, Алла Михайловна КОВРИГИНА,  
Татьяна Николаевна МОИСЕЕВА, Елена Игоревна ДОРОХИНА

*Национальный медицинский исследовательский центр гематологии Минздрава России  
125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4*

**Цель исследования** – сопоставить характер роста опухоли с иммуногистохимическими подвариантами у пациентов с нодулярной лимфомой Ходжкина с лимфоидным преобладанием (НЛХЛП) в дебюте заболевания. **Материал и методы.** Диагноз НЛХЛП в дебюте заболевания был установлен 60 пациентам (соотношение количества мужчин и женщин 3,6:1, медиана возраста 37 лет (17–68)) с использованием морфологического и расширенного иммуногистохимического исследования. У всех больных был определен характер роста при морфологическом исследовании, иммуногистохимические подварианты (WHO 2017) и клинические стадии по классификации Ann Arbor. **Результаты и их обсуждение.** С учетом иммуногистоархитектоники при реакции с антителами к CD20 все пациенты были разделены на три иммуногистохимических подварианта: А – LP-клетки расположены в пределах В-клеточных нодулей, В – LP-клетки расположены интра- и экстранодулярно с сохранением В-клеточных нодулей или при наличии «вала» из В-лимфоцитов, С – преобладает (>50 % площади среза) диффузное или крупноочаговое разрозненное расположение LP-клеток без наличия В-клеточного «вала». С учетом иммуногистохимического подварианта пациенты были разделены на три группы: I (иммуногистохимический подвариант А – 17 человек, 28 %; I–II стадии – 82 %, III стадия – 18 %; нодулярный рост – 100 %), II (иммуногистохимический подвариант В – 30 человек, 50 %; I–II стадии – 40 %, III–IV стадии – 60 %; нодулярный рост – 3 %, нодулярный рост с наличием значительного количества экстранодулярных LP-клеток – 43 %, нодулярно-диффузный рост – 53 % случаев), III (иммуногистохимический подвариант С – 12 человек, 20 %; II стадия – 8 %, случай, богатый опухолевыми клетками, III–IV стадии – 92 %; нодулярно-диффузный рост – 75 %, преимущественно диффузный рост – 25 % случаев), 1 случай с трансформацией в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДВККЛ) (2 %; IV стадия). **Заключение.** НЛХЛП при клинической манифестации имеет варибельную морфологическую картину и иммуногистоархитектонику опухолевого субстрата, что позволило выделить четыре морфологических варианта и три иммуногистохимических подварианта, рассматриваемые нами как признаки иммуногистохимической трансформации в рамках одной нозологической формы НЛХЛП. Иммуногистохимический вариант не всегда является предиктором клинического течения заболевания. Случаи НЛХЛП, богатые опухолевыми клетками, требуют дальнейшего изучения.

**Ключевые слова:** нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоидным преобладанием, морфология, иммунофенотип, иммуногистоархитектоника.

Нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоидным преобладанием (НЛХЛП) – редкий тип лимфомы Ходжкина с варибельным характером роста и иммуногистоархитектоникой опухолевого субстрата. Диагноз НЛХЛП требует обязательного иммуногистохимического подтверждения и, как правило, пересмотра в референс-лабора-

ториях [2]. НЛХЛП может иметь нодулярный, нодулярно-диффузный и преимущественно диффузный характер роста, последний представляет наибольшие трудности при дифференциальной диагностике с крупноклеточной В-клеточной лимфомой, богатой Т-клетками/гистиоцитами (THRLBCL), так как крупные опухолевые клет-

*Шуплецова И.А. – аспирант патолого-анатомического отделения, e-mail: voda90@inbox.ru*

*Ковригина А.М. – д.б.н., проф. кафедры клинической лабораторной диагностики и патологической анатомии, e-mail: kovrigina.alla@gmail.com*

*Моисеева Т.Н. – к.м.н., зав. научно-клиническим отделением химиотерапии гематологических заболеваний со стационаром дневного пребывания, e-mail: taniamoiseeva@mail.ru*

*Дорохина Е.И. – к.м.н., врач-гематолог отделения химиотерапии гематологических заболеваний со стационаром дневного пребывания, e-mail: dorohina.ei@mail.ru*

ки располагаются разрозненно среди мелких Т-клеток [1]. По данным литературы, 7–30 % случаев НЛХЛП (в зависимости от медианы наблюдения) могут трансформироваться в диффузную В-клеточную крупноклеточную лимфому (ДВККЛ) [3]. Данные молекулярно-генетического исследования подтверждают клональную преемственность LP-клеток при НЛХЛП и крупных опухолевых клеток при ДВККЛ [6, 7, 10, 13].

В пересмотренной классификации WHO 2017 г. для НЛХЛП приведены шесть вариантов иммуноархитектоники, описанные Z. Fan et al. [5], выделение которых основано на расположении LP-клеток по отношению к В-клеточным нодулям и выраженности реактивного В-клеточного компонента при иммуногистохимическом исследовании с антителами к CD20. LP-клетки являются потомками В-клеток фолликулярного этапа дифференцировки и по своему иммунофенотипу напоминают промежуточную стадию развития В-клеток между герминальными и В-клетками памяти, чем объясняется сохранность В-клеточного иммунофенотипа по сравнению с субстратом классической лимфомы Ходжкина [4].

Целью настоящей работы было сопоставить характер опухолевого роста с иммуногистохимическими подвариантами у пациентов с нодулярной лимфомой Ходжкина с лимфоидным преобладанием в дебюте заболевания.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Диагноз НЛХЛП в дебюте заболевания был установлен 60 пациентам, с 2010 по 2017 г. проходивших лечение в Национальном медицинском исследовательском центре гематологии. Соотношение количества мужчин и женщин составило 3,6 : 1, медиана возраста 37 лет (17–68), возрастной диапазон 17–68 лет, медиана 37 лет. Диагноз НЛХЛП был верифицирован с помощью морфологического и иммуногистохимического (ИГХ) исследования на парафиновых срезах биоптатов лимфатических узлов или иной локализации с использованием расширенной панели антител к CD20 (L-26), CD30 (Ber-H2), CD15 (Carb-3/BY87), PAX5 (DAK-PAX5), Oct.2 (Oct-207), PU.1 (EPR3158V), BCL-6 (PG-B6p), BCL-2 (124), EBV (CS1-4), CD19 (LE-CD19). Во всех образцах при морфологическом исследовании оценивался характер роста опухолевого субстрата, а при проведении ИГХ реакции с антителами к CD20 во всех 60 образцах определены ИГХ подварианты. У всех пациентов установлены клинические стадии по классификации Ann Arbor.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

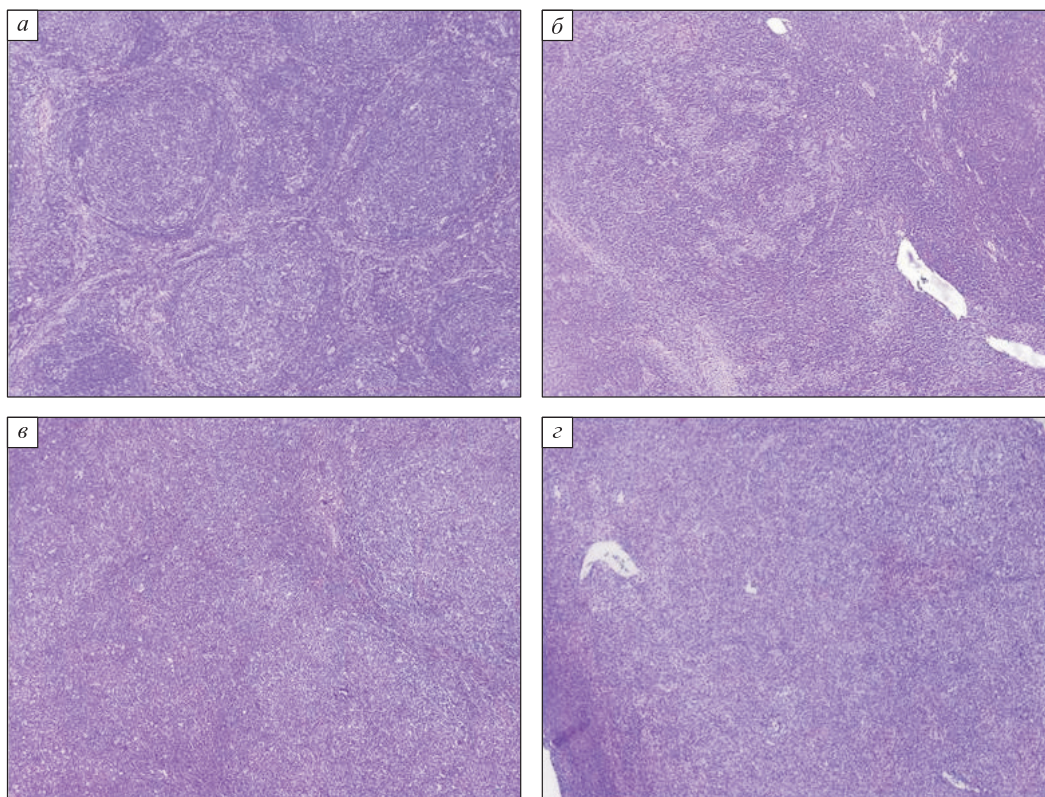
Нами выделено четыре морфологических варианта НЛХЛП: с нодулярным ростом, с нодулярным ростом и наличием значительного количества экстранодулярных LP-клеток, с нодулярно-диффузным ростом (25–75 % диффузный рост), преимущественно диффузным ростом (>75 % диффузный рост с наличием хотя бы одного типичного нодуля) (рис. 1). Критерием трансформации в ДВККЛ явилось наличие пластов крупных опухолевых клеток с морфологией центробластов и иммунобластов без формирования нодулярных структур мелкими В-клетками.

На основании расположения опухолевых LP-клеток при реакции с антителами к CD20 в исследуемой группе выделены три ИГХ подварианта НЛХЛП: А – LP-клетки расположены в пределах В-клеточных нодулей (классический подвариант), В – LP-клетки расположены интра- и экстранодулярно с наличием В-клеточного микроокружения в виде полусохранных нодулей или «вала» из В-лимфоцитов, С – преобладает (>50 % площади среза) крупноочаговое дискретное (THRLBCL-подобные нодули) и диффузное (THRLBCL-подобный вариант) расположение LP-клеток без наличия В-клеточного «вала» (рис. 2). У трех (5 %) пациентов отмечалось наличие синцитиоподобных скоплений или пластов опухолевых клеток (1/3 – нодулярный характер роста, I клиническая стадия, 2/3 – нодулярно-диффузный характер роста, I и III клинические стадии), однако иммуногистоархитектоника в этих случаях оценивалась в рамках трех иммуногистохимических подвариантов.

С учетом ИГХ подварианта пациенты были разделены на три группы: I (только ИГХ подвариант А – 17 человек, 28 %; I–II стадии – 82 %, III стадия – 18 %), II (ИГХ подвариант В, преобладающий подвариант или минорный компонент при подварианте А – 30 человек, 50 %; I–II стадии – 40 %, III–IV стадии – 60 %), III (ИГХ подвариант С – 12 человек, 20 %; II стадия – 8 %, случай, богатый опухолевыми клетками, III–IV стадии – 92 %), 1 случай с трансформацией в ДВККЛ (2 %, IV стадия).

При ИГХ подварианте А во всех случаях наблюдался нодулярный характер роста – 100 % (17 человек из 17); при ИГХ подварианте В нодулярный рост отмечен в одном случае из 30 – 3 %, нодулярный рост с наличием значительного количества экстранодулярных LP-клеток – в 43 % (13 из 30) случаев, нодулярно-диффузный рост – в 53 % (16 из 30) случаев; при ИГХ подварианте С нодулярно-диффузный рост наблюдался в 75 % (9 из 12) случаев, преимущественно диффузный рост – в 25 % (3 из 12) случаев.





**Рис. 1.** Спектр морфологической картины при НЛХЛП: а – нодулярный рост, б – нодулярный рост с наличием значительного количества экстранодулярных LP-клеток, в – нодулярно-диффузный рост, г – преимущественно диффузный рост. Окраска гематоксилином и эозином, ув.  $\times 50$

## ОБСУЖДЕНИЕ

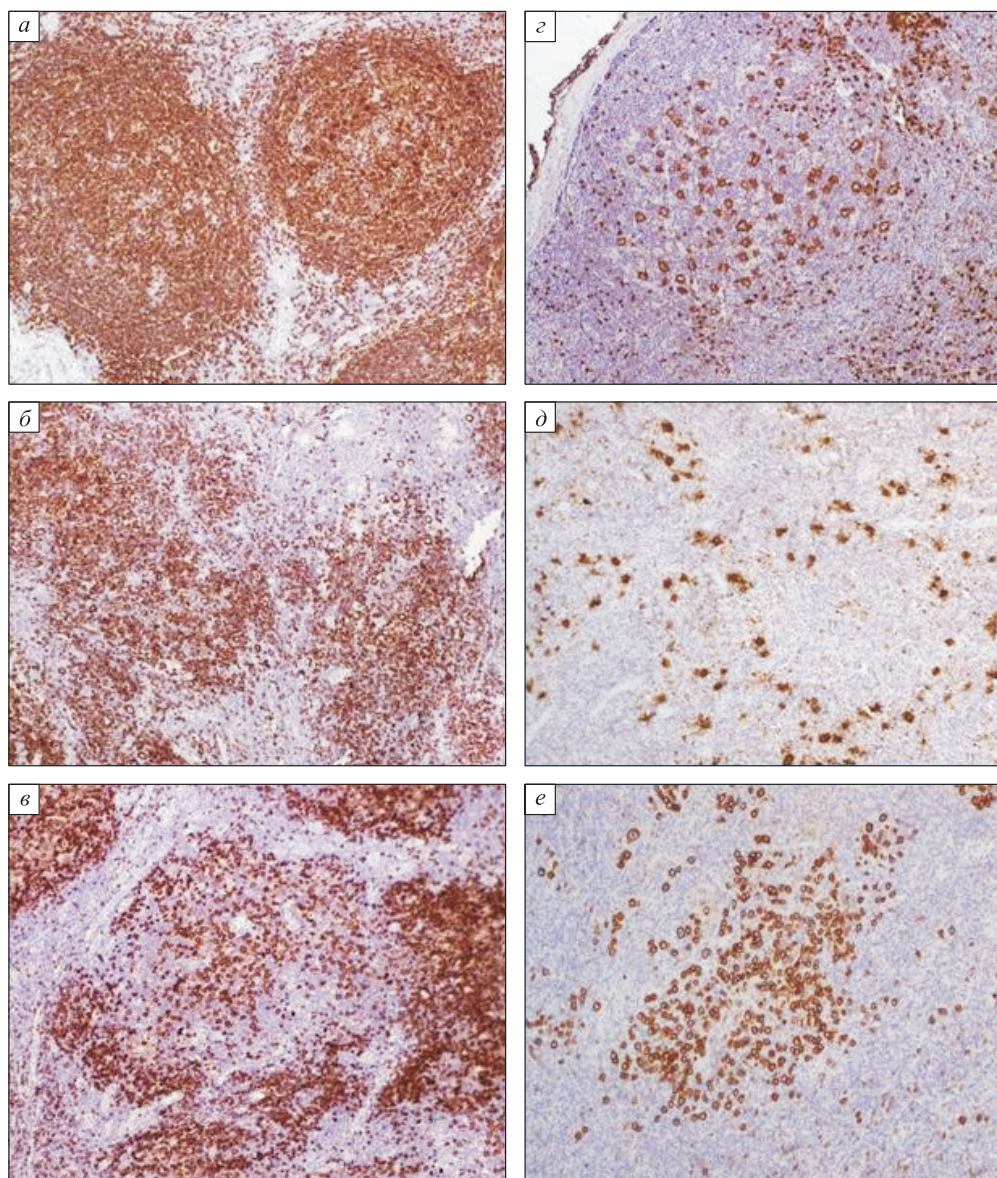
НЛХЛП – редкая нозологическая форма, составляющая до 10 % от всех случаев лимфомы Ходжкина с индолентным течением, вариабельной морфологической картиной и иммуноархитектоникой опухолевого субстрата, что обусловливает необходимость дифференциальной диагностики с широким спектром лимфом и реактивных изменений. НЛХЛП чаще встречается у мужчин в возрастном диапазоне 30–50 лет, начинается преимущественно с паховой, аксиллярной или шейной лимфаденопатии [11].

Поражение лимфатического узла может быть частичным, субтотальным или тотальным, в части случаев НЛХЛП возникает на фоне выраженной фолликулярной гиперплазии с наличием прогрессивно-трансформированных центров размножения, что требует детального морфологического изучения этих участков. При нодулярном характере роста в биоптате лимфатического узла или иной локализации определяются крупные нодулярные структуры из мелких лимфоидных клеток, с наличием эпителиоидных гистиоцитов, среди которых разрозненно расположены круп-

ные клетки с многолопастными ядрами с морфологией LP-клеток; в нодулярных структурах могут сохраняться резидуальные центры размножения, отдельные LP-клетки могут встречаться экстранодулярно. Крупные нодулярные структуры достаточно четко отграничены друг от друга, в части случаев могут быть окружены тонкими фиброваскулярными прослойками (при длительной лимфаденопатии). При выходе LP-клеток за пределы нодулей нодулярные структуры утрачивают четкую внешнюю границу, расстояние между ними увеличивается, иногда нодули приобретают более эозинофильный оттенок при окраске гематоксилином и эозином ввиду увеличения количества крупных клеток, гистиоцитов.

При нодулярно-диффузном характере роста нодулярные структуры сливаются между собой, внешняя граница теряется вследствие истощения слоя компактно расположенных мелких лимфоидных клеток по периферии нодулей, увеличивается количество гистиоцитов, визуализация LP-клеток в части случаев затруднена. В случаях с преобладанием диффузных участков роста отмечается полиморфный инфильтрат из мелких лимфоидных клеток и гистиоцитов с разрозненно





**Рис. 2.** Спектр иммуногистоархитектоники опухолевого субстрата при НЛХЛП: а – В-клеточные нодулы с интранодулярным расположением LP-клеток (классический подвариант), б – В-клеточные нодулы с наличием значительного количества экстранодулярных LP-клеток, в – нодулы с истощением В-клеток, г – THRLBCL-подобные нодулы, д – THRLBCL-подобный вариант, е – вариант НЛХЛП, богатый опухолевыми клетками. ИГХ-окрашивание с антителами к CD20, ув.  $\times 200$

расположенными крупными клетками с многолопастными ядрами. Для верификации НЛХЛП в этих случаях решающую роль играет ИГХ-исследование для оценки иммуногистоархитектоники опухолевого субстрата. Особенностью, отличающей НЛХЛП от THRLBCL, будет являться обнаружение хотя бы одного крупноочагового скопления LP-клеток с наличием «вала» из мелких В-клеток. Ввиду схожести морфологической картины, иммуногистоархитектоники, реактивного микроокружения и генетического профиля

НЛХЛП и THRLBCL существует гипотеза, что THRLBCL может являться единым континуумом с НЛХЛП, а не самостоятельной нозологией [8]. Дифференциальная диагностика с Т-клеточными лимфомами при НЛХЛП с наличием диффузных участков роста принципиально важна ввиду различий в терапевтической тактике и клиническом течении заболеваний.

У трех из 60 пациентов при морфологическом исследовании отмечалось расположение опухолевых клеток в виде синцитиоподобных скоплений

или пластов, что редко выявляется при НЛХЛП, вследствие чего при данном варианте не проводились клиничко-морфологические сопоставления [9]. В 2/3 случаев опухолевый субстрат был представлен не только LP-клетками, но и крупными клетками с округло-овальным гиперхромным ядром. Диагностика варианта НЛХЛП, богатого опухолевыми клетками, может представлять трудности, решающее значение имеет иммуногистоархитектоника опухолевого субстрата.

При классическом варианте НЛХЛП опытному патоморфологу достаточно использовать узкую панель антител к CD20 (оценка иммуноархитектоники, мономорфная мембранная реакция в LP-клетках), Oct.2 (ядерная гиперэкспрессия в LP-клетках), PD.1 (визуализация розеткоподобных структур вокруг LP-клеток). При всех остальных вариантах НЛХЛП необходимо расширение панели антител.

При выделении I группы пациентов с наличием только ИГХ подварианта А, при котором LP-клетки расположены в пределах нодулярных структур среди выраженного В-клеточного микроокружения, мы руководствовались рекомендациями немецкой группы по изучению лимфомы Ходжкина: сочетание в биопсийном материале ИГХ подварианта А с другими подвариантами было связано с более продвинутыми клиническими стадиями и являлось независимым фактором риска для прогрессии или рецидива заболевания [9]. В нашей группе в случаях с ИГХ подвариантом А преобладали I–II клинические стадии заболевания, однако в 18 % случаев отмечалась III клиническая стадия заболевания.

III группа пациентов является наиболее сложной для верификации субстрата НЛХЛП, так как в этих случаях отмечался нодулярно-диффузный рост, в 25 % случаев преобладали диффузные участки роста, а иммуногистоархитектоника опухолевого субстрата напоминала THRLBCL. В последней редакции классификации WHO [11] рекомендуется обозначать участки диффузного роста при НЛХЛП как THRLBCL-подобные, указывать их в патогистологическом заключении, так как эти случаи характеризуются более агрессивным клиническим течением заболевания [8, 12]. В нашей III группе пациентов преобладали III–IV клинические стадии заболевания (92 %), однако в одном случае (8 %) отмечалась II стадия.

II группа пациентов (ИГХ подвариант В) – самая большая и разнородная, с наличием разной степени выраженности В-клеточного реактивного микроокружения, значительного количества экстранодулярных LP-клеток, а в половине случаев – с нодулярно-диффузным характером ро-

ста, начальными и продвинутыми клиническими стадиями.

ИГХ подвариант не всегда является предиктором клинического течения заболевания. При ИГХ подварианте А в 18 % случаев отмечалась III клиническая стадия заболевания, а в 8 % случаев с подвариантом С – II клиническая стадия. НЛХЛП развивается на основе светлого зародышевого центра лимфоидного фолликула и в процессе патогенеза может характеризоваться разными ИГХ подвариантами. По нашему опыту, в одном лимфатическом узле или у одного пациента в разных лимфатических узлах иммуногистоархитектоника опухолевого субстрата может различаться и характеризоваться сочетанием ИГХ подвариантов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

НЛХЛП имеет вариабельную морфологическую картину и иммуногистоархитектонику опухолевого субстрата, что позволило выделить четыре морфологических варианта и три ИГХ подварианта, рассматривающиеся нами как признаки иммуногистохимической трансформации в рамках одной нозологической формы НЛХЛП. ИГХ подвариант не всегда является предиктором клинического течения заболевания. Случаи, богатые опухолевыми клетками, требуют дальнейшего изучения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ковригина А.М., Пробатова Н.А. Лимфома Ходжкина и крупноклеточные лимфомы. М.: МИА, 2007. 268 с.
2. Моисеева Т.Н., Аль-Ради Л.С., Ковригина А.М., Горячева С.Р., Джулакян У.Л., Марголин О.В., Скидан Н.И., Цейтлина М.А., Кравченко С.К. Нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоидным преобладанием: принципы диагностики и лечения // *Терапевт. арх.* 2015. 87. (11). 78–83.
3. Al-Mansour M., Connors J.M., Gascoyne R.D., Skinnider B., Savage K.J. Transformation to aggressive lymphoma in nodular lymphocyte-predominant Hodgkin's lymphoma // *J. Clin. Oncol.* 2010. 28. (5). 793–799.
4. Brune V., Tiacchi E., Pfeil I., Döring C., Eckerle S., van Noesel C.J.M., Küppers R. Origin and pathogenesis of nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma as revealed by global gene expression analysis // *J. Exp. Med.* 2008. 205. 2251–2268.
5. Fan Z., Natkunam Y., Bair E., Tibshirani R., Warnke R.A. Characterization of variant patterns of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma with immunohistologic and clinical correlation // *Am. J. Surg. Pathol.* 2003. 27. (10). 1346–1356.



6. Greiner T.C., Gascoyne R.D., Anderson M.E. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin's disease associated with large-cell lymphoma: Analysis of Ig gene rearrangements by V-J polymerase chain reaction // *Blood*. 1996. 88. 657–666.
7. Hansmann M.L., Stein H., Fellbaum C. Nodular paraganglioma can transform into high-grade malignant lymphoma of B type // *Hum. Pathol.* 1989. 20. 1169–1175.
8. Hartmann S., Döring C., Jakobus C., Rengstl B., Newrzela S., Tousseyn T., Sagaert X., Ponzoni M., Facchetti F., de Wolf-Peeters C., Steidl C., Gascoyne R., Küppers R., Hansmann M.L. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma and T cell/histiocyte rich large B cell lymphoma – endpoints of a spectrum of one disease? // *PLoS One*. 2013. 11. 8. (11). e78812
9. Hartmann S., Eichenauer D.A., Plütschow A., Mottok A., Bob R., Koch K., Bernd H.W., Cogliatti S., Hummel M., Feller A.C., Ott G., Möller P., Rosenwald A., Stein H., Hansmann M.L., Engert A., Klapper W. The prognostic impact of variant histology in nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma: a report from the German Hodgkin Study Group (GHSg) // *Blood*. 2013. 122. (26). 4246–4252.
10. Ohno T., Huang J.Z., Wu G., Park K.H., Weisenburger D.D., Chan W.C. The tumor cells in nodular lymphocyte predominant Hodgkin disease are clonally related to the large cell lymphoma occurring in the same individual. Direct demonstration by single cell analysis // *Am. J. Clin. Pathol.* 2001. 116. 506–511.
11. Swerdlow S.H., Campo E., Pileri S.A., Harris N.L., Stein H., Siebert R., Jaffe E.S. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms // *Blood*. 2016. 127. (20). 2375–2390.
12. Xing K.H., Connors J.M., Lai A., Al-Mansour M., Sehn L.H., Villa D., Klasa R., Shenkier T., Gascoyne R.D., Skinnider B., Savage K.J. Advanced-stage nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma compared with classical Hodgkin lymphoma: a matched pair outcome analysis // *Blood*. 2014. 123. (23). 3567–3573.
13. Wickert R.S., Weisenburger D.D., Tierens A. Clonal relationship between lymphocytic predominance Hodgkin's disease and concurrent or subsequent large cell lymphoma of B lineage // *Blood*. 1995. 86. 2312–2320.

## THE MORPHOLOGICAL SUBSTRATE AND IMMUNOHYSTOARCHITECTURAL PATTERNS IN NODULAR LYMPHOCYTE PREDOMINANT HODGKIN LYMPHOMA

Irina Alexandrovna SHUPLETSOVA, Alla Mikhaylovna KOVRIGINA,  
Tatyana Nikolaevna MOISEEVA, Elena Igorevna DOROKHINA

National Research Center for Hematology of Minzdrav of Russia  
125167, Moscow, Novy Zykovsky dr., 4

The aim of the study is to compare the tumour growth pattern with immunohistoarchitectural patterns in patients with nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL) in the debut of the disease. **Material and methods.** The diagnosis of NLPHL in the debut of the disease was established in 60 patients (male/female ratio is 3.6:1, median age – 37 (range 17–68)) using morphology and an expanded immunohistochemical study. The tumor growth pattern was determined by morphological study and immunohistochemical patterns (WHO 2017) – using antibodies to CD20 and clinical stages (Ann Arbor). **Results and discussion.** All patients were divided into 3 immunohistoarchitectural patterns (subject to immunohistoarchitectonics in reaction with antibodies to CD20): A – LP cells are located within B cell nodules; B – LP cells are located intra- and extranodular with the preservation of B cell nodules or in the presence of a border of B-lymphocytes; C – predominant (> 50 % of section area) diffuse or large-focal discrete arrangement of LP cells without the presence of a B cell border. Concerning to the immunohistoarchitectural patterns, all the patients were divided into three groups: I (immunohistochemical pattern A – 17 cases, 28 %, stage – I–II 82 %, stage III – 18 %, nodular growth – 100 %), II (immunohistochemical pattern B – 30 cases, 50 %, stage I–II – 40 %, stage III–IV – 60 %, nodular growth – 3 %, nodular growth with a significant number of extranodular LP cells – 43 %, nodular-diffuse growth – 53 % cases), III (immunohistochemical pattern C – 12 patients, 20 %; II stage – 8 %, tumor cell-rich case, stage III–IV – 92 %; nodular-diffuse growth – 75 % cases, mainly diffuse growth – 25 % cases), 1 case with transformation in DLBCL (2 %, IV stage). **Conclusions.** NLPHL is characterized by variable morphological immunohistochemical patterns among which we've revealed 4 morphological variants and 3 immunohistochemical patterns considered as sign of immunohistochemical transformation within the continuum of the same entity of NLPHL. The immunohistochemical patterns are not always a predictor of the clinical course of the disease. «Tumor cell-rich» cases require further detailed research.

**Key words:** nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma, morphology, immunophenotype, immunohistoarchitectonics.

*Shupletsova I.A.* – post-graduate student of anatomic pathology department, e-mail: voda90@inbox.ru

*Kovrigina A.M.* – doctor of medical sciences, head of department of laboratory diagnostics and pathological anatomy, e-mail: kovrigina.alla@gmail.com

*Moiseeva T.N.* – candidate of medical sciences, head of the scientific and clinical department of chemotherapy for hematological diseases with a day hospital, e-mail: taniamoiseeva@mail.ru

*Dorokhina E.I.* – candidate of medical sciences, hematologist of clinical department of chemotherapy for hematological diseases with a-day hospital, e-mail: dorokhina.ei@mail.ru



## КАРДИОТОКСИЧНОСТЬ И МЕТОДЫ ЕЕ ДИАГНОСТИКИ У ПАЦИЕНТОВ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Татьяна Павловна КУЗЬМИНА<sup>1</sup>, Игорь Леонидович ДАВЫДКИН<sup>1</sup>,  
Ольга Владимировна ТЕРЕШИНА<sup>2</sup>, Олеся Евгеньевна ДАНИЛОВА<sup>1,2</sup>,  
Александр Семенович ШПИГЕЛЬ<sup>1</sup>, Тенгиз Шотович БЕТАНЕЛИ<sup>1</sup>,  
Ксения Викторовна НАУМОВА<sup>1</sup>, Наталья Сергеевна ПОПЕЛЬНЮК<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Самарский государственный медицинский университет Минздрава России  
443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

<sup>2</sup> Клиники Самарского государственного медицинского университета Минздрава России  
443079, г. Самара, просп. Карла Маркса, 165Б

Статья посвящена современному представлению о кардиотоксичности, индуцированной химиотерапией у пациентов с гематологической патологией, и методам ее диагностики. Изучение кардиотоксичности является одним из актуальных направлений в онкологии и онкогематологии в настоящее время, так как побочные эффекты химиотерапевтических препаратов на сердечно-сосудистую систему оказывают влияние на качество и продолжительность жизни пациентов, независимо от прогноза, связанного с онкогематологическим заболеванием. В то время как современные стратегии лечения онкогематологических заболеваний позволяют добиваться стойких ремиссий и увеличения продолжительности и качества жизни пациентов, такие успехи могут быть нивелированы повышением смертности в данной группе пациентов за счет развития побочных эффектов химиотерапии применительно к сердечно-сосудистой системе. В настоящем обзоре на современном уровне развития медицинской науки представлены проблемы и перспективы диагностики кардиотоксичности у пациентов с гематологическими заболеваниями на фоне проведения химиотерапевтического лечения. Использование для диагностики кардиотоксичности таких методов, как трехмерная эхокардиография, эхокардиография с определением глобальной продольной деформации миокарда, стресс-эхокардиография с определением контрактильного резерва, определение содержания тропонинов и натрийуретического пептида позволяет обнаруживать проявления кардиотоксичности на более ранних сроках и таким образом снижать смертность у пациентов онкогематологического профиля, получающих химиотерапевтическое лечение от негематологических причин.

**Ключевые слова:** кардиотоксичность, химиотерапевтическое лечение, трехмерная эхокардиография, фракция выброса, глобальная продольная деформация миокарда, стресс-эхокардиография, тропонины Т и I, натрийуретический пептид.

**Кузьмина Т.П.** – аспирант кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: [tatyana\\_kuzmina\\_91@bk.ru](mailto:tatyana_kuzmina_91@bk.ru)

**Давыдкин И.Л.** – д.м.н., проф., зав. кафедрой госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: [dagi2006@rambler.ru](mailto:dagi2006@rambler.ru)

**Терешина О.В.** – к.м.н., зав. отделением ультразвуковой и функциональной диагностики, e-mail: [ovpis@yandex.ru](mailto:ovpis@yandex.ru)

**Данилова О.Е.** – к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, зав. отделением гематологии и химиотерапии № 2, e-mail: [dani29051978@yandex.ru](mailto:dani29051978@yandex.ru)

**Шпигель А.С.** – д.м.н., проф., зав. кафедрой доказательной медицины и клинической фармакологии, e-mail: [ashpigel@yandex.ru](mailto:ashpigel@yandex.ru)

**Бетанели Т.Ш.** – к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: [tengiz-betaneli@yandex.ru](mailto:tengiz-betaneli@yandex.ru)

**Наумова К.В.** – аспирант кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: [senechka.naumova@rambler.ru](mailto:senechka.naumova@rambler.ru)

**Попельнюк Н.С.** – к.м.н., ассистент кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: [rambleruse@rambler.ru](mailto:rambleruse@rambler.ru)

Стремительный прогресс медицинской науки в области онкогематологии привел к созданию новых методов диагностики и появлению молекулярных таргетных препаратов, что позволило увеличить продолжительность жизни и улучшить ее качество у пациентов с онкогематологическими заболеваниями. Однако в долгосрочной перспективе пациенты, перенесшие химиотерапевтическое лечение, подвержены более высокому риску развития сердечно-сосудистых заболеваний по сравнению с группой людей, которые не получали подобной терапии, данный факт влечет за собой увеличение в этой группе пациентов смертности от негематологических причин [8]. Побочные эффекты химиотерапевтических препаратов на сердечно-сосудистую систему оказывают влияние на качество и продолжительность жизни пациентов, независимо от прогноза, связанного с онкогематологическим заболеванием. Риск летального исхода от заболеваний сердечно-сосудистой системы может стать выше, чем риск смерти в результате рецидива или прогрессии опухоли [43]. Современные подходы к оценке индуцированного повреждения миокарда химиотерапевтическими агентами имеют определенные недостатки, к числу которых относится низкая чувствительность ранней диагностики субклинической сердечной дисфункции. В немногочисленных исследованиях предложены шкалы для оценки риска кардиотоксичности у различных групп онкологических больных [1]. Однако степень доказательности этих методик ограничена, так как ни одна из этих шкал не была проверена проспективно. Новые методы визуализации и определение биомаркеров имеют большой потенциал для улучшения ранней диагностики кардиотоксичности. В связи с вышесказанным изучение кардиотоксичности является одним из актуальных направлений в онкогематологии в настоящее время.

Цель настоящего обзора – на современном уровне развития медицинской науки представить проблемы и перспективы диагностики кардиотоксичности у пациентов с гематологическими заболеваниями на фоне проведения химиотерапевтического лечения. Выполнен поиск результатов клинических исследований по изучению кардиотоксичности при применении химиотерапевтических препаратов из различных групп и методов ее диагностики в базах данных PubMed, РИНЦ за последние 10 лет (с 1 января 2008 г. по 1 июля 2018 г.) с использованием ключевых слов: кардиотоксичность, сердечно-сосудистые события, антрациклины, алкилирующие агенты, моноклональные антитела, ингибиторы тирозинкиназы (ИТК), трехмерная эхокардиография, глобальная продольная деформация миокарда,

стресс-эхокардиография, тропонины Т и I, натрийуретический пептид. Отдельно изучены данные литературы за последние 15 лет (с 2003 г.), в которых описываются патофизиология и клинические проявления кардиотоксичности. Полнотекстовые версии статей оценивались качественно и суммировались описательно.

**Понятие и классификация кардиотоксичности.** Кардиотоксичность у пациентов с онкологическими заболеваниями впервые описана в 1967 г. и клинически проявлялась симптомами застойной сердечной недостаточности, отека легких, перегрузки объемом, а ее появление в большей степени связывают с широким распространением препаратов из группы антрациклинов в терапии пациентов [36]. Кардиотоксичность – часто используемый термин для описания широкого спектра неблагоприятных эффектов воздействия лекарственных средств на сердечную функцию [27]. В настоящее время Американское общество эхокардиографии и Европейская ассоциация сердечно-сосудистой визуализации определяют кардиотоксичность как снижение фракции выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) на 10 % от исходного уровня при значении ФВ менее 53 %. Это снижение должно быть подтверждено повторным исследованием, которое следует проводить через 2–3 недели после исходного обследования [31].

Предложены различные классификации кардиотоксичности. Одна из них фокусируется на патофизиологических аспектах и отличает необратимые повреждения миокарда, вызванные повреждением микроструктуры кардиомиоцитов, приводящие к гибели клеток посредством некроза или апоптоза (тип I), от обратимой дисфункции кардиомиоцитов без микроструктурных повреждений (тип II) [16, 45]. В основу другой классификации положен временной характер кардиотоксичности. При этом выделяются острая кардиотоксичность (от момента введения химиопрепарата до одной недели), подострая (до двух недель после завершения химиотерапии) и хроническая кардиотоксичность (по истечении двух недель), подразделяющаяся на раннюю и позднюю (более одного года после окончания лечения). Хроническая кардиотоксичность, как правило, проявляется бессимптомной систолической и/или диастолической дисфункцией левого желудочка и застойной сердечной недостаточностью с частотой встречаемости от 3 до 30 %, в основном из-за различий клинических критериев в изученных популяциях пациентов [14, 41]. Поздняя хроническая кардиотоксичность может возникнуть после первого года, но может развиваться и через 6–20 лет после проведения курсов химиотерапии, и неясно, есть ли какие-либо временные

ограничения для ее развития. Степень выраженности проявлений кардиотоксичности зависит от молекулярного механизма действия препарата, кумулятивной дозы, способа введения, а также возраста пациента и наличия или отсутствия сопутствующей сердечно-сосудистой патологии.

**Патогенез и клинические проявления кардиотоксичности при применении основных групп цитостатических препаратов, используемых в гематологии.** Применение препаратов из большинства групп противоопухолевых средств для лечения пациентов с гематологическими заболеваниями, таких как антрациклины, алкилирующие агенты, моноклональные антитела, ИТК, ассоциировано с повышением уровня смертности, в том числе из-за развития кардиотоксичности [22].

Первое описание кардиотоксичности антрациклинов появилось в 1967 г. Кардиотоксичность, вызванная препаратами данной группы, классифицируется как тип I, или необратимая; риск будущих сердечно-сосудистых осложнений существенно возрастает при кумулятивных дозах  $\geq 450$  мг/м<sup>2</sup> [24]. Наиболее широко распространенные механизмы действия антрациклинов связаны с тем, что они препятствуют окислительно-восстановительному циклу, что приводит к повреждению ДНК из-за производства активных форм кислорода (АФК), затем последовательно и/или одновременно развивается окислительный стресс, усиливаются процессы перекисного окисления липидов, возникает митохондриальная дисфункция, запускается апоптоз [26]. Доксорубин, в частности, непосредственно повреждает митохондрии клеток, продуцирует АФК, нарушает баланс антиоксидантной системы и приводит к окислительному стрессу. В целом показано, что окислительный стресс является одной из основных потенциальных причин, в конечном итоге приводящей к кардиомиопатии и сердечной недостаточности [39]. Кроме того, окислительный стресс может вызвать гипертрофию клеток миокарда, ремоделирование внеклеточного матрикса и в конечном итоге – гибель кардиомиоцитов [45]. Антрациклины приводят к прогрессирующему и кумулятивному клеточному повреждению, потере кардиомиоцитов вследствие апоптоза и некроза, расширению полостей сердца, ремоделированию миокарда.

Кардиотоксичность, развивающаяся при применении препаратов из группы антрациклинов, классифицируется на острую и хроническую. Острая кардиотоксичность возникает во время или вскоре после начала терапии. Обычно это неспецифические изменения на электрокардиограмме, аритмии, повышение уровня тропонинов и транзиторная дисфункция левого желудочка.

Хроническая, наиболее распространенная форма антрациклиновой кардиотоксичности, проявляется систолической дисфункцией ЛЖ, которая бессимптомна на ранних стадиях, но может прогрессировать до дилатационной кардиомиопатии и хронической сердечной недостаточности; как правило, данные изменения необратимы. У большинства больных хроническая кардиотоксичность развивается в течение первого года после окончания терапии [9]. Суммарная пожизненная кумулятивная доза антрациклинов является важнейшим детерминантом кардиотоксичности данной группы лекарств. Также в литературе описано, что перегрузка железом вследствие частых переливаний крови или добавления к терапии препаратов железа увеличивает риск возникновения кардиотоксичности при применении антрациклинов [30]. В целом механизмы, лежащие в основе антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, являются мультигенными, многофакторными и многоэтапными процессами и требуют дальнейшего изучения.

Алкилирующие агенты – старейший класс противоопухолевых препаратов. В гематологической практике из данной группы чаще всего используется циклофосфамид, который при применении преимущественно в высоких дозах вызывает кардиотоксичность, точный механизм которой до сих пор находится на стадии изучения. Предложенные механизмы кардиотоксичности циклофосфамида заключаются в повреждении эндотелия сосудистых клеток и кардиомиоцитов токсическим метаболитом циклофосфамида с последующим интерстициальным кровоизлиянием и отеком, дальнейшим некрозом клеток миокарда с образованием фибриновых микротромбов [43], а также избыточной генерации АФК и ослаблении антиоксидантной защиты. Кроме того, применение циклофосфамида ассоциировано с гиперхолестеринемией, гипертриглицеридемией и нарушением секреции липопротеиновой липазы сердца. Циклофосфамид-индуцированные изменения липидного обмена в различных условиях приводят к накоплению липидов в миокарде и способствуют развитию липотоксической кардиомиопатии [10]. Проявления кардиотоксичности при применении циклофосфамида включают перикардальный выпот, миокардит, перикардит и сердечную недостаточность. Примечательно, что у 25 % пациентов, получавших дозы циклофосфамида более 1,55 г/м<sup>2</sup> в сутки, наблюдалась необратимая сердечная недостаточность. У больных, при лечении которых циклофосфамид использовался в дозах более 50 мг/кг, присоединилось снижение диуреза через 6–8 ч после введения препарата с увеличением веса, заметным повышением

осмоляльности мочи и снижением осмоляльности сыворотки крови вследствие гипонатриемии. Антидиуретический синдром, в свою очередь, усугубляет выраженность сердечной недостаточности. Высокие дозы циклофосфамида могут вызывать злокачественные аритмии, иногда приводящие к летальным исходам [28].

Моноклональные антитела представляют собой один из важнейших классов препаратов, которые используются для лечения широкого спектра гематологических заболеваний. Технологии их разработки продолжают развиваться в целях получения лекарственных средств со все более улучшенными профилями безопасности. Моноклональные антитела, используемые в гематологии, направлены против различных антигенов раковых клеток, таких как CD52 (алемтузумаб), CD20 (ритуксимаб). Применение алемтузумаба ассоциировалось с развитием гипотензии на первой неделе терапии. В редких случаях сообщалось о дисфункции ЛЖ у пациентов, получающих лечение по включающим алемтузумаб схемам [44]. Осведомленность о профиле кардиотоксичности ритуксимаба важна для минимизации риска осложнений и смертности, связанных с лечением. Патофизиология кардиотоксичности при применении ритуксимаба остается предметом дискуссий. Большинство исследователей считают, что основным патофизиологическим механизмом кардиотоксичности является изменение нейрогормональной активации и, как следствие, избыточная симпатическая стимуляция, что, в свою очередь, приводит к микрососудистой дисфункции на уровне коронарных артерий, вызывая преходящее нарушение кровоснабжения миокарда [42]. В литературе описано возникновение острого коронарного синдрома, аритмий (мономорфная желудочковая тахикардия, суправентрикулярная тахикардия, экстрасистолия), неишемических кардиомиопатий на фоне инфузии ритуксимаба [12].

ИТК, которые являются стандартом терапии пациентов с хроническим миелолейкозом, в настоящее время также рассматриваются в ряду препаратов, обладающих кардиотоксичностью [29]. Механизмы ее развития предположительно связаны с внецелевым действием ИТК на белки-киназы и находятся в процессе изучения [4]. В качестве возможных механизмов обсуждается воздействие на эндотелий сосудистой стенки, функциональное состояние тромбоцитов, а также метаболизм липидов и глюкозы, что в совокупности может приводить к раннему возникновению атеросклероза как одного из основных факторов развития сердечно-сосудистых заболеваний. Основные проявления кардиотоксичности на фоне

терапии ИТК включают в себя развитие хронической сердечной недостаточности, артериальной гипертензии, ишемии миокарда, тромбоэмболических осложнений.

**Современные методы выявления кардиотоксичности.** Первым шагом в диагностике кардиотоксичности должна быть тщательная клиническая оценка модифицируемых и немодифицируемых факторов риска. На втором этапе необходимо оценить жалобы, анамнез и данные физикального обследования. Пациенты могут предъявлять жалобы на одышку вплоть до развития ортопноэ, общую слабость, боль в груди, сердцебиение и другие неспецифические симптомы [2], но для выявления кардиотоксичности крайне важно дифференцировать данную симптоматику с проявлениями основного заболевания и его осложнениями. Электрокардиографические изменения у пациентов в процессе химиотерапевтического лечения часто не специфичны и проявляются изменениями ST-сегмента, снижением вольтажа, удлинением QT-интервала. Хроническая антрациклиновая кардиотоксичность (даже спустя много лет после окончания терапии) часто проявляется в виде угрожающих жизни аритмий [19]. Эхокардиография является краеугольным камнем диагностики кардиотоксичности в связи с широкой доступностью, универсальностью, отсутствием радиационного облучения и безопасностью для пациентов [13].

Современный подход к мониторингу сердечной функции у пациентов, получающих кардиотоксичную противоопухолевую терапию, базируется на последовательной оценке ФВ ЛЖ [3], которая является золотым стандартом для мониторинга функции ЛЖ. Хотя ФВ ЛЖ служит надежным предиктором сердечно-сосудистых осложнений в общей популяции, она имеет низкую чувствительность для обнаружения небольших изменений функции ЛЖ. ФВ ЛЖ, рассчитанная с помощью обычного двухмерного режима эхокардиографии, имеет достаточно высокую вариабельность измерений, связанную с недостаточной визуализацией верхушки ЛЖ, недооценкой тонких аномалий регионарного движения стенки левого желудочка [20]. Улучшение воспроизводимости эхокардиографической оценки ФВ может быть достигнуто при использовании трехмерного режима, так как этот метод обладает значительно меньшей вариабельностью измерений, что особенно важно при серийных наблюдениях за пациентом [37]. По сравнению с данными магнитно-резонансной томографии чувствительность в выявлении сниженной фракции изгнания у двухмерной эхокардиографии составляет 25 %, у трехмерной – 53 % [5]. В настоящее время до-



ступными эхокардиографическими критериями кардиотоксичности являются снижение ФВ ЛЖ на 10 % или снижение ФВ менее 53 % по сравнению с исходными значениями [45]. Однако измерение ФВ ЛЖ – относительно нечувствительный инструмент для выявления кардиотоксичности на ранней стадии. Это связано с тем, что ФВ ЛЖ практически не меняется до достижения критического уровня повреждения миокарда, и ее снижение происходит только после того, как компенсаторные механизмы полностью исчерпаны. При использовании этого критерия как единственного можно переоценивать актуальное состояние ЛЖ, так как компенсаторные механизмы обеспечивают поддержание сердечного выброса даже при наличии острого повреждения миоцитов.

Определение глобальной деформации миокарда ЛЖ методом отслеживания частиц (speckle tracking) позволяет обнаруживать субклиническую дисфункцию ЛЖ и может быть полезным для раннего выявления кардиотоксичности, индуцированной химиотерапией, и для наблюдения за пациентами в динамике [38]. Глобальная деформация миокарда желудочков во время сердечного цикла обычно измеряется на пике систолы (при закрытии аортального клапана) в продольной, радиальной и окружной плоскостях [18]. Из всех изучаемых индексов продольная деформация наиболее воспроизводима [32], и определение глобальной продольной деформации миокарда для оценки субклинической дисфункции ЛЖ, вызванной противоопухолевым лечением, является перспективной стратегией [11]. В недавно проведенных исследованиях сообщено, что показатель глобальной продольной деформации миокарда предсказывает субклиническую дисфункцию ЛЖ прежде чем произойдет снижение ФВ ЛЖ [40]. В качестве предиктора ранней дисфункции ЛЖ предлагается относительное снижение показателя глобальной продольной деформации миокарда на 15 % от исходного уровня, и данный подход представляется более надежным, чем определение абсолютного значения глобальной продольной деформации миокарда [38].

Стресс-эхокардиография полезна при наблюдении за пациентами с ишемической болезнью сердца, которым показано химиотерапевтическое лечение. Стресс-эхокардиография также используется для выявления индуцированной химиотерапией субклинической дисфункции ЛЖ и оценки контрактильного резерва [15]. У 10 из 23 пациентов, получавших антрациклины в детском возрасте по поводу острого лимфобластного лейкоза до лечения и спустя 21 год после достижения ремиссии, при проведении стресс-эхокардиографии зафиксировано снижение ФВ

ЛЖ по сравнению с исходными показателями [21]. Стресс-эхокардиография позволяет идентифицировать ранние и отсроченные проявления кардиотоксичности посредством определения сниженного контрактильного резерва, однако требуется дальнейшее изучение этой методики в группах пациентов, получающих химиотерапию [17].

В клинической практике определение концентрации тропонинов Т и I является чувствительным и специфическим маркером повреждения миокарда и регулярно используется при подозрении на острый коронарный синдром в диагностических и прогностических целях [33]. Тем не менее уровень тропонинов может быть повышен в других клинических ситуациях, таких как гипертонические кризы, почечная недостаточность, сепсис, а также при развитии кардиотоксичности, что объясняет низкую специфичность данного теста [25]. Большинство исследований, направленных на изучение изменения содержания данных биомаркеров у пациентов, получающих курсы химиотерапевтического лечения с антрациклинами, показывают, что раннее повышение их концентрации предшествует изменениям ФВ ЛЖ [6].

В нескольких исследованиях показано, что определение уровня натрийуретических пептидов является более чувствительным методом выявления кардиотоксичности, чем эхокардиография. Стойкое повышение содержания предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) на ранних стадиях после высокодозной химиотерапии достоверно ассоциировалось с развитием систолической и диастолической дисфункции ЛЖ в течение одного года после завершения лечения [34]. Среди 205 детей, получавших доксорубин при остром лейкозе, увеличение концентрации NT-proBNP в течение первых 90 дней химиотерапии прогнозировало наличие дисфункции ЛЖ по данным эхокардиографии через 4 года [23]. Необходимо отметить, что пожилые люди и женщины имеют более высокий нормальный уровень натрийуретических пептидов, на данный показатель оказывает влияние нарушенная функция почек [35], кроме того, само онкологическое заболевание может способствовать его увеличению посредством воспалительной реакции [7]. Эти противоречивые факторы, безусловно, следует принимать во внимание при интерпретации результатов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данным обзором литературы мы обозначили растущую важность ранней диагностики кардиотоксичности у онкогематологических больных с

особым вниманием к пониманию молекулярных и клеточных механизмов сердечно-сосудистой токсичности на фоне применения химиопрепаратов из различных групп. В то время как современные стратегии лечения онкогематологических заболеваний позволяют добиваться стойких ремиссий, увеличения продолжительности и качества жизни пациентов, такие успехи могут быть нивелированы повышением смертности в данной группе пациентов за счет развития побочных эффектов химиотерапии применительно к сердечно-сосудистой системе. Поэтому мы считаем необходимым использование для диагностики кардиотоксичности таких методов, как трехмерная эхокардиография, эхокардиография с определением глобальной продольной деформации миокарда, стресс-эхокардиография с определением контрактильного резерва, определение содержания тропонинов Т и I и натрийуретического пептида, что позволит сократить смертность у пациентов онкогематологического профиля, получающих химиотерапевтическое лечение от негематологических причин.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи заявили об отсутствии конфликта интересов.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Меморандум ESC по лечению онкологических заболеваний и сердечно-сосудистой токсичности, разработанный под эгидой комитета по практике ESC 2016 // Рос. кардиол. журн. 2017. 22. (3). 105–139.
2. Abidov A., Rozanski A., Hachamovitch R., Hayes S.W., Aboul-Enein F., Cohen I., Friedman J.D., Germano G., Berman D.S. Prognostic significance of dyspnea in patients referred for cardiac stress testing // N. Engl. J. Med. 2005. 353. (18). 1889–1898.
3. American College of Cardiology Foundation Appropriate Use Criteria Task Force. American Society of Echocardiography, American Heart Association, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Failure Society of America, Heart Rhythm Society, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Critical Care Medicine, Society of Cardiovascular Computed Tomography, Society for Cardiovascular Magnetic Resonance, American College of Chest Physicians; Douglas P.S., Garcia M.J., Haines D.E., Lai W.W., Manning W.J., Patel A.R., Picard M.H., Polk D.M., Ragosta M., Parker Ward R., Weiner R.B. ACCF/AHA/ASA/ASNC/HFSA/HRS/SCAI/SCCM/SCCT/SCMR 2011 appropriate use criteria for echocardiography. A report of the American College of Cardiology Foundation Appropriate Use Criteria Task Force, American Society of Echocardiography, American Heart Association, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Failure Society of America, Heart Rhythm Society, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Critical Care Medicine, Society of Cardiovascular Computed Tomography, Society for Cardiovascular Magnetic Resonance American College of Chest Physicians // J. Am. Soc. Echocardiogr. 2011. 24. (3). 229–267.
4. Anhel N., Delgado D.H., Lipton J.H. Cardiovascular toxicities of BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia: preventive strategies and cardiovascular surveillance // Vasc. Health Risk Manag. 2017. 13. 293–303.
5. Armstrong G.T., Plana J.C., Zhang N., Srivastava D., Green D.M., Ness K.K., Daniel D.F., Metzger M.L., Arevalo A., Durand J.B., Joshi V., Hudson M.M., Robison L.L., Flamm S.D. Screening adult survivors of childhood cancer for cardiomyopathy: comparison of echocardiography and cardiac magnetic resonance imaging // J. Clin. Oncol. 2012. 30. 2876–2884.
6. Auner H.W., Tinchon C., Linkesch W., Tiran A., Quehenberger F., Link H., Sill H. Prolonged monitoring of troponin T for the detection of anthracycline cardiotoxicity in adults with hematological malignancies // Ann. Hematol. 2003. 82. (4). 218–222.
7. Bando S., Soeki T., Matsuura T., Tobiume T., Ise T., Kusunose K., Yamaguchi K., Yagi S., Fukuda D., Iwase T., Yamada H., Wakatsuki T., Shimabukuro M., Muguruma N., Takayama T., Kishimoto I., Kangawa K., Sata M. Plasma brain natriuretic peptide levels are elevated in patients with cancer // PLoS One. 2017. 12. (6). e0178607.
8. Bradshaw P.T., Stevens J., Khankari N., Teitelbaum S.L., Neugut A.I., Gammon M.D. Cardiovascular disease mortality among breast cancer survivors // Epidemiology. 2016. 27. (1). 6–13.
9. Cardinale D., Colombo A., Bacchiani G., Tedeschi I., Meroni C.A., Veglia F., Civelli M., Lamantia G., Colombo N., Curigliano G., Fiorentini C., Cipolla C.M. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy // Circulation. 2015. 131. 1981–1988.
10. Chakraborty M., Kamath J.V., Bhattacharjee A. Pharmacodynamic interaction of green tea extract with hydrochlorothiazide against cyclophosphamide-induced myocardial damage // Toxicol. Int. 2014. 21. 196–202.
11. Charbonnel C., Convers-Domart R., Rigaudau S., Taksin A.L., Baron N., Lambert J., Ghez S., Georges J.L., Farhat H., Lambert J., Rousselot P., Livarek B. Assessment of global longitudinal strain at low-dose anthracycline-based chemotherapy, for the

prediction of subsequent cardiotoxicity // *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging*. 2017. 18. 392–401.

12. *Cheungpasitporn W., Kopecky S.L., Specks U., Bharucha K., Fervenza F.C.* Non-ischemic cardiomyopathy after rituximab treatment for membranous nephropathy // *J. Renal Inj. Prev*. 2017. 6. (1). 18–25.

13. *Daher I.N., Kim C., Saleh R.R., Plana J.C., Yusuf S.W., Banchs J.* Prevalence of abnormal echocardiographic findings in cancer patients: a retrospective evaluation of echocardiography for identifying cardiac abnormalities in cancer patients // *Echocardiography*. 2011. 28. 1061–1067.

14. *Dolci A., Dominici R., Cardinale D., Sandri M.T., Panteghini M.* Biochemical markers for prediction of chemotherapy-induced cardiotoxicity: systematic review of the literature and recommendations for use // *Am. J. Clin. Pathol*. 2008. 130. (5). 688–695.

15. *Douglas P.S., Carr J.J., Cerqueira M.D., Cummings J.E., Gerber T.C., Mukherjee D., Taylor A.J.* Developing an action plan for patient radiation safety in adult cardiovascular medicine: proceedings from the Duke University Clinical Research Institute/American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Think Tank held on February 28 // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2012. 59. 1833–1847.

16. *Fallah-Rad N., Walker J.R., Wassef A., Litywn M., Bohonis S., Fang T., Tian G., Kirkpatrick I.D., Singal P.K., Krahn M., Grenier D., Jassal D.S.* The utility of cardiac biomarkers, tissue velocity and strain imaging, and cardiac magnetic resonance imaging in predicting early left ventricular dysfunction in patients with human epidermal growth factor receptor II-positive breast cancer treated with adjuvant trastuzumab therapy // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2011. 57. (22). 2263–2270.

17. *Galderisi M., Marra F., Esposito R., Lomoriello V.S., Pardo M., de Divitiis O.* Cancer therapy and cardiotoxicity: The need of serial Doppler echocardiography // *Cardiovasc. Ultrasound*. 2007. 5. 4–18.

18. *Gorcsan J., Tanaka H.* Echocardiographic assessment of myocardial strain // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2011. 58. (14). 1401–1413.

19. *Gupta M., Thaler H.T., Steiner L.* Presence of prolonged dispersion of qt intervals in late survivors of childhood anthracycline therapy // *Pediatr. Hematol. Oncol*. 2002. 19. 533–542.

20. *Jacobs L.D., Salgo I.S., Goonewardena S., Weinert L., Coon P., Bardo D., Gerard O., Allain P., Zamorano J.L., de Isla L.P., Mor-Avi V., Lang R.M.* Rapid online quantification of left ventricular volume from real-time three-dimensional echocardiographic data // *Eur. Heart J*. 2006. 27. 460–468.

21. *Jarfelt M.* Exercise echocardiography reveals subclinical cardiac dysfunction in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia // *Pediatr. Blood Cancer*. 2007. 49. 835–840.

22. *Lipshultz S.E., Adams M.J., Colan S.D., Constine L.S., Herman E.H., Hsu D.T., Hudson M.M., Kremer L.C., Landy D.C., Miller T.L., Oeffinger K.C.,*

*Rosenthal D.N., Sable C.A., Sallan S.E., Singh G.K., Steinberger J., Cochran T.R., Wilkinson J.D.* American Heart Association Congenital Heart Defects Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on Basic Cardiovascular Sciences, Council on Cardiovascular and Stroke Nursing, Council on Cardiovascular Radiology. Long-term cardiovascular toxicity in children, adolescents, and young adults who receive cancer therapy: pathophysiology, course, monitoring, management, prevention, and research directions: a scientific statement from the American Heart Association // *Circulation*. 2013. 128. (17). 1927–95.

23. *Lipshultz S.E., Miller T.L., Scully R.E., Lipsitz S.R., Rifai N., Silverman L.B., Colan S.D., Neuberg D.S., Dahlberg S.E., Henkel J.M., Asselin B.L., Athale U.H., Clavell L.A., Laverdiere C., Michon B., Schorin M.A., Sallan S.E.* Changes in cardiac biomarkers during doxorubicin treatment of pediatric patients with high-risk acute lymphoblastic leukemia: associations with long-term echocardiographic outcomes // *J. Clin. Oncol*. 2012. 30. (10). 1042–1049.

24. *Manrique C.R., Park M., Tiwari N., Plana J.C., Garcia M.J.* Diagnostic strategies for early recognition of cancer therapeutics-related cardiac dysfunction // *Clin. Med. Insights Cardiol*. 2017. 11. 1179546817697983.

25. *Marini M.G., Cardillo M.T., Caroli A., Sonnino C., Biasucci L.M.* Increasing specificity of high-sensitivity troponin: new approaches and perspectives in the diagnosis of acute coronary syndromes // *J. Cardiol*. 2013. 62. (4). 205–209.

26. *McGowan J.V., Chung R., Maulik A., Piotrowska I., Walker J.M., Yellon D.M.* Anthracycline chemotherapy and cardiotoxicity // *Cardiovasc. Drugs Ther*. 2017. 31. 63–75.

27. *Mellor H.R., Bell A.R., Valentin J.P., Roberts R.R.A.* Cardiotoxicity associated with targeting kinase pathways in cancer // *Toxicol. Sci*. 2011. 120. (1). 14–32.

28. *Nakamae H., Tsumura K., Hino M., Hayashi T., Tatsumi N.* QT dispersion as a predictor of acute heart failure after high-dose cyclophosphamide // *Lancet*. 2000. 355. 805–806.

29. *Orphanos G.S., Ioannidis G.N., Ardavanis A.G.* Cardiotoxicity induced by tyrosine kinase inhibitors // *Acta Oncol*. 2009. 48. (7). 964–970.

30. *Panjrath G.S., Patel V., Valdiviezo C.I., Narula N., Narula J., Jain D.* Potentiation of Doxorubicin cardiotoxicity by iron loading in a rodent model // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2007. 49. 2457–2464.

31. *Plana J.C., Galderisi M., Barac A., Ewer M.S., Ky B., Scherrer-Crosbie M., Ganame J., Sebag I.A., Agler D.A., Badano L.P., Banchs J., Cardinale D., Carver J., Cerqueira M., JM DC., Edvardsen T., Flamm S.D., Force T., Griffin B.P., Jerusalem G., Liu J.E., Magalhaes A., Marwick T., Sanchez L.Y., Sicari R., Villarraga H.R., Lancellotti P.* Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report



from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2014. 27. (9). 911–939.

32. Risum N., Ali S., Olsen N.T., Jons C., Khouri M.G., Lauridsen T.K., Samad Z., Velazquez E.J., Sogaard P., Kisslo J. Variability of global left ventricular deformation analysis using vendor dependent and independent two-dimensional speckle-tracking software in adults // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2012. 25. (11). 1195–1203.

33. Roffi M., Patrono C., Collet J.P., Mueller C., Valgimigli M., Andreotti F., Bax J.J., Borger M.A., Brotons C., Chew D.P., Gencer B., Hasenfuss G., Kjeldsen K., Lancellotti P., Landmesser U., Mehilli J., Mukherjee D., Storey R.F., Windecker S., Baumgartner H., Gaemperli O., Achenbach S., Agewall S., Badimon L., Baigent C., Bueno H., Bugiardini R., Carerj S., Casselman F., Cuisset T., Erol C., Fitzsimons D., Halle M., Hamm C., Hildick-Smith D., Huber K., Iliodromitis E., James S., Lewis B.S., Lip G.Y., Piepoli M.F., Richter D., Rosemann T., Sechtem U., Steg P.G., Vrints C., Luis Zamorano J. Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-SEotESoC. 2015 ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: task force for the Management of Acute Coronary Syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) // *Eur. Heart J.* 2016. 37. (3). 267–315.

34. Sandri M.T., Salvatici M., Cardinale D., Zorzino L., Passerini R., Lentati P., Leon M., Civelli M., Martinelli G., Cipolla C.M. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide after high-dose chemotherapy: a marker predictive of cardiac dysfunction? // *Clin. Chem.* 2005. 51. (8). 1405–1410.

35. Takase H., Dohi Y. Kidney function crucially affects B-type natriuretic peptide (BNP), N-terminal proBNP and their relationship // *Eur. J. Clin. Investig.* 2014. 44. (3). 303–308.

36. Tan C., Tasaka H., Yu K.P., Murphy M.L., Karnofsky D.A. Daunomycin, an antitumor antibiotic, in the treatment of neoplastic disease. Clinical evaluation with special reference to childhood leukemia // *Cancer.* 1967. (20). 333–353.

37. Thavendiranathan P., Grant A.D., Negishi T., Plana J.C., Popović Z.B., Marwick T.H. Reproducibility of echocardiographic techniques for sequential assessment of left ventricular ejection fraction and volumes: application to patients undergoing cancer chemotherapy // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013. 61. 77–84.

38. Thavendiranathan P., Poulin F., Lim K.D., Plana J.C., Woo A., Marwick T.H. Use of myocardial strain imaging by standardizecardiography for the early

detection of cardiotoxicity in patients during and after cancer chemotherapy: a systematic review // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014. 63. (25). 2751–2768.

39. Varga Z.V., Ferdinandy P., Liaudet L., Pacher P. Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2015. 309. 1453–1467.

40. Voigt J.U., Pedrizzetti G., Lysyansky P., Marwick T.H., Houle H., Baumann R., Pedri S., Ito Y., Abe Y., Metz S., Song J.H., Hamilton J., Sengupta P.P., Koliass T.J., d'Hooge J., Aurigemma G.P., Thomas J.D., Badano L.P. Definitions for a common standard for 2D speckle tracking echocardiography: consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging // *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2015. 16. 1–11.

41. Wang J., Nachtigal M.W., Kardami E., Cattini P.A. FGF-2 protects cardiomyocytes from doxorubicin damage via protein kinase C-dependent effects on efflux transporters // *Cardiovasc. Res.* 2013. 98. (1). 56–63.

42. Wittstein I.S., Thiemann D.R., Lima J.A., Baughman K.L., Schulman S.P., Gerstenblith G., Wu K.C., Rade J.J., Bivalacqua T.J., Champion H.C. Neurohumoral features of myocardial stunning due to sudden emotional stress // *N. Engl. J. Med.* 2005. 352. (6). 539–48.

43. Yeh E.T., Bickford C.L. Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis, and management // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009. 53. (24). 2231–2247.

44. Yeh E.T., Tong A.T., Lenihan D.J., Yusuf S.W., Swafford J., Champion C., Durand J.B., Gibbs H., Zafarmand A.A., Ewer M.S. Cardiovascular complications of cancer therapy: diagnosis, pathogenesis, and management // *Circulation.* 2004. 29. 109. (25). 3122–3131.

45. Zamorano J.L., Lancellotti P., Rodriguez M.D., Aboyans V., Asteggiano R., Galderisi M., Habib G., Lenihan D.J., Lip G.Y., Lyon A.R., Lopez Fernandez T., Mohty D., Piepoli M.F., Tamargo J., Torbicki A., Suter T.M., Zamorano J.L., Aboyans V., Achenbach S., Agewall S., Badimon L., Barón-Esquivias G., Baumgartner H., Bax J.J., Bueno H., Carerj S., Dean V., Erol Ç., Fitzsimons D., Gaemperli O., Kirchhof P., Kolh P., Lancellotti P., Lip G.Y., Nihoyannopoulos P., Piepoli M.F., Ponikowski P., Roffi M., Torbicki A., vaz Carneiro A., Windecker S. Authors/Task Force Members, ESC Committee for Practice Guidelines (CPG), Document Reviewers. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: the Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC) // *Eur. J. Heart Fail.* 2017. 19. 9–42.



## **CARDIOTOXICITY AND METHODS OF ITS DIAGNOSIS IN HEMATOLOGY PATIENTS (REVIEW)**

**Tatyana Pavlovna KUZMINA<sup>1</sup>, Igor Leonidovich DAVYDKIN<sup>1</sup>, Olga Vladimirovna TERESHINA<sup>2</sup>,  
Olesya Evgenevna DANILOVA<sup>1,2</sup>, Alexandr Semenovich SHPIGEL<sup>1</sup>, Tengiz Shotovich BETANELI<sup>1</sup>,  
Kseniya Victorovna NAUMOVA<sup>1</sup>, Natalya Sergeevna POPELNYUK<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Samara State Medical University of Minzdrav of Russia  
443099, Samara, Chapaevskaya str., 89*

<sup>2</sup> *Clinics Samara State Medical University of Minzdrav of Russia  
443079, Samara, Karl Marks av., 165B*

---

The article is devoted to the modern concept of cardiotoxicity, induced chemotherapy in patients with hematological pathology and methods of its diagnosis. The study of cardiotoxicity is one of the current trends in oncology and oncohematology, as the side effects of chemotherapy drugs on the cardiovascular system affect the quality and life expectancy of patients, regardless of the prognosis associated with oncohematological disease. While modern strategies for the treatment of oncohematological diseases make it possible to achieve stable remissions and increase the duration and quality of life of patients, such successes can be offset by an increase in mortality in this group of patients due to the development of side effects of chemotherapy in relation to the cardiovascular system. In the review problems and prospects of cardiotoxicity diagnosis in patients with hematological diseases on the background of chemotherapy are presented at modern level of medical science development. The use of such methods as three-dimensional echocardiography, echocardiography with determination of global longitudinal myocardial deformation, stress echocardiography with determination of contractile reserve, determination of troponin and natriuretic peptide levels for diagnosis of cardiotoxicity makes it possible to detect manifestations of cardiotoxicity at an earlier stage and thus will reduce mortality in patients with oncohematological profile receiving chemotherapy for non-hematological reasons.

---

**Key words:** cardiotoxicity, chemotherapy, three-dimensional echocardiography, ejection fraction, global longitudinal myocardial deformation, stress echocardiography, troponins T and I, natriuretic peptide.

---

**Kuzmina T.P.** – resident, e-mail: [tatyana\\_kuzmina\\_91@bk.ru](mailto:tatyana_kuzmina_91@bk.ru)

**Davydkin I.L.** – doctor of medical sciences, professor, head of department of hospital therapy with courses of polyclinic therapy and transfusiology, e-mail: [dagi2006@rambler.ru](mailto:dagi2006@rambler.ru)

**Tereshina O.V.** – candidate of medical sciences, head department of ultrasound and functional diagnostics, e-mail: [ovpis@yandex.ru](mailto:ovpis@yandex.ru)

**Danilova O.E.** – candidate of medical sciences, associate professor of department of hospital therapy with courses of polyclinic therapy and transfusiology, head of the department of hematology and chemotherapy, e-mail: [dani29051978@yandex.ru](mailto:dani29051978@yandex.ru)

**Shpigel A.S.** – doctor of medical sciences, professor, head of department of evidence-based medicine and clinical pharmacology, e-mail: [ashpigel@yandex.ru](mailto:ashpigel@yandex.ru)

**Betaneli T.Sh.** – candidate of medical sciences, associate professor of department of hospital therapy with courses of polyclinic therapy and transfusiology, e-mail: [tengiz-betaneli@yandex.ru](mailto:tengiz-betaneli@yandex.ru)

**Naumova K.V.** – postgraduate student, e-mail: [senechka.naumova@rambler.ru](mailto:senechka.naumova@rambler.ru)

**Popelnyuk N.S.** – candidate of medical sciences, professor assistant of department of hospital therapy with courses of polyclinic therapy and transfusiology, e-mail: [rambleruse@rambler.ru](mailto:rambleruse@rambler.ru)

## ОЦЕНКА МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ ЛИМФОМОЙ ХОДЖКИНА

Мария Сергеевна ВОЙТКО<sup>1</sup>, Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА<sup>1</sup>,  
Вадим Валерьевич КЛИМОНТОВ<sup>1,2</sup>, Ольга Николаевна ФАЗУЛЛИНА<sup>2</sup>,  
Елена Викторовна МЕЗИТ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

<sup>2</sup> НИИ клинической и экспериментальной лимфологии –  
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН  
630117, г. Новосибирск, ул. Арбузова, 6

В настоящее время лимфома Ходжкина (ЛХ) признана высококурабельным заболеванием. Стандартом лечения являются протоколы полихимиотерапии (ПХТ), содержащие различные комбинации цитостатических препаратов и глюкокортикостероидов. На промежуточных этапах болезни используется комбинированный подход: ПХТ в сочетании с лучевой терапией на зоны исходного поражения. Достижение стойкой безрецидивной выживаемости поставило перед врачами вопрос обеспечения пациентов удовлетворительным качеством жизни и профилактики отдаленных последствий противоопухолевой терапии. Одним из таких последствий может быть изменение минеральной плотности костей (МПК) скелета. Цель исследования – оценить МПК и выявить факторы, влияющие на remodelирование костной ткани, у больных с различными стадиями и гистологическими вариантами ЛХ. **Материал и методы.** Мы исследовали МПК у больных ЛХ с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DXA) на аппарате LunarProdigy (GE, США). Определение риска основных низкоэнергетических переломов проводили с помощью опросника FRAX (веб-версия 3.8, расчет по российской модели). Оценивали общий риск низкоэнергетических переломов (FRAX total) и риск переломов шейки бедра (FRAX hip). **Результаты.** По результатам DXA 36 больных ЛХ (48,6 %) имеют снижение МПК. Пациенты с остеопорозом в целом были старше, имели меньший индекс массы тела, чем больные с нормальной МПК ( $p < 0,05$ ). Десятилетний риск основных низкоэнергетических переломов и переломов шейки бедра, согласно FRAX, оказался выше в группах больных с остеопорозом и остеопенией по сравнению с больными ЛХ с нормальной МПК ( $p < 0,05$ ). При оценке денситометрических показателей у больных ЛХ, получавших комбинированную терапию, в большинстве случаев ( $\chi^2 = 5,47$ ;  $p = 0,0194$ ) выявлялось снижение МПК в сравнении с пациентами, получавшими только ПХТ. Более чем у половины больных, получавших схемы ПХТ, содержащие глюкокортикостероиды (59,1 %), обнаружено уменьшение МПК. При сравнительном анализе установлено, что в группе пациентов моложе 50 лет МПК и величина Z-критерия поясничного отдела позвоночника на ранних стадиях заболевания были достоверно ниже, чем у больных с III–IV стадиями. В свою очередь, у больных старше 50 лет и женщин в постменопаузе на ранних стадиях заболевания зарегистрировано достоверное уменьшение МПК и величины T-критерия шейки бедра в сравнении с пациентами с распространенными стадиями заболевания. Результаты настоящей работы позволяют предполагать, что снижение денситометрических показателей на I–II стадиях ЛХ также связано с применением лучевой терапии на зоны исходного поражения в качестве общепринятого стандарта лечения преимущественно ранних стадий заболевания.

**Ключевые слова:** лимфома Ходжкина, минеральная плотность костной ткани, остеопороз, денситометрия, двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия.

*Войтко М.С.* – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
e-mail: voytko.marie@yandex.ru

*Поспелова Т.И.* – д.м.н., проф., проректор по научной работе, зав. кафедрой терапии,  
гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, e-mail: post\_gem@mail.ru

*Климентов В.В.* – д.м.н., проф. РАН, зам. руководителя филиала по научной работе,  
зав. лабораторией эндокринологии, e-mail: klimontov@mail.ru

*Фазуллина О.Н.* – м.н.с. лаборатории эндокринологии

*Мезит Е.В.* – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
e-mail: post\_gem@mail.ru

Лимфома Ходжкина (ЛХ) стала первым и до настоящего времени считается одним из немногих потенциально излечимых онкогематологических заболеваний, однако отдаленные последствия противоопухолевой терапии по-прежнему остаются серьезной проблемой для гематологического сообщества. Одним из таких последствий может быть снижение минеральной плотности костной ткани (МПК). Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о высокой частоте развития остеопороза у больных с лимфолиферативными заболеваниями, особенно с ЛХ. Помимо общепопуляционных факторов риска, снижение МПК у пациентов онкологического профиля может возникать под влиянием приема глюкокортикоидов и цитостатических препаратов, входящих в программы полихимиотерапии (ПХТ), дефицита половых гормонов, связанного с опухолью и ее лечением, и самого первичного заболевания [3]. Высокая значимость проблемы остеопороза определяется его социальными последствиями – переломами тел позвонков и костей периферического скелета, приводящими к экономическим рискам в области здравоохранения и обуславливающими высокий уровень нетрудоспособности, включая инвалидность и смертность. Однако исследование, посвященные изучению факторов риска остеопороза, ассоциированного с ЛХ, весьма немногочисленны.

Цель настоящего исследования – оценка МПК и выявление факторов, влияющих на ремоделирование костной ткани, у больных с различными стадиями и гистологическими вариантами ЛХ.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн: одномоментное (поперечное) обсервационное исследование. Критерии включения в исследование: мужской и женский пол, наличие ЛХ, возраст от 18 до 75 лет, согласие больных на участие в исследовании. Критерии исключения: заболевания эндокринной системы (гиперкортицизм, тиреотоксикоз, гипопитуитаризм, полигландулярные синдромы), возникшие до постановки диагноза ЛХ; ревматические заболевания (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, анкилозирующий спондилоартрит); сопутствующие заболевания органов пищеварения (синдром мальабсорбции, состояния после резекции желудка, шунтирующих операций на желудочно-кишечном тракте, печеночная недостаточность); сопутствующие онкологические заболевания; состояния с длительной (более месяца) иммобилизацией в анамнезе; алкоголизм и наркомания; анамнестические указания на прием антидепрессантов, бензодиазепинов, агонистов гонадотро-

пин-релизинг гормона, алюминий-содержащих антацидов, тиазолидиндионов, бисфосфонатов, кальцитонина, препаратов стронция, паратормона, гепарина (более месяца). Обследование соответствовало требованиям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов (2000). Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании.

В исследование включено 74 пациента с ЛХ (26 мужчин, 48 женщин) от 19 до 72 лет (медиана 45 лет). Шесть женщин находились в постменопаузальном периоде, длительность менопаузы от 2 до 24 лет. Клиническая характеристика больных ЛХ представлена в табл. 1. Длительность ЛХ составляла 6,5 года. Пациенты были включены в исследование в разные сроки от дебюта ЛХ: 4 (5,4 %) человека – на первом году болезни, 32 (43,2 %) – с давностью ЛХ 2–4 года, 21 (29,5 %) – 5–9 лет и 17 (21,9 %) человек с давностью заболевания 10 лет и более. О курении сообщили 17 мужчин. Дефицит массы тела имели четыре женщины, нормальную массу тела – 29 больных ЛХ, избыточную массу тела – 18, ожирение – 23 (из них 1-й степени – 12, 2-й степени – 8, 3-й степени – 3). Индекс массы тела (ИМТ) варьировал от 17,0 до 43,6 кг/м<sup>2</sup> (медиана – 25,9 кг/м<sup>2</sup>).

**Таблица 1**

*Клиническая характеристика больных ЛХ*

Показатель	Число больных	
	n	%
Возраст, лет:		
< 50	43	58,1
≥ 50	31	41,9
Пол:		
мужской	26	35,1
женский	48	64,9
Давность заболевания, лет:		
≤ 1	4	5,4
2–4	32	43,2
5–9	21	29,5
≥ 10	17	21,9
Стадия (Ann Arbor):		
I	2	2,7
II	35	47,3
III	22	29,8
IV	15	20,2
Гистологический вариант:		
нодулярный склероз, типы I и II	33	44,5
смешанно-клеточный	33	44,5
богатый лимфоцитами	1	1,3
лимфоидное истощение	1	1,3
нодулярное лимфоидное преобладание	6	8,4

Стадирование опухолевого процесса осуществлялось до момента начала лечения в соответствии с рекомендациями Ann Arbor, дополненные Costwolds 1988 г. В обследуемой группе преобладали пациенты со II и III стадиями – 35 (47,3 %) и 22 (29,8 %) человека соответственно. Среди гистологических типов ЛХ наиболее часто регистрировались нодулярный склероз (44,5 %) и смешанно-клеточный вариант (44,5 %), у 6 (8,4 %) пациентов выявлена редкая нозологическая форма – нодулярная ЛХ с лимфоидным преобладанием. В качестве индукции ремиссии пациенты получали ПХТ по программе ABVD ( $n = 21$ ) или ABVD + BEACOPP ( $n = 41$ ), последующая лучевая терапия проводилась 48 больным ЛХ в суммарной очаговой дозе 30 Гр на зоны исходного поражения. ПХТ II линии (DHAP, ESHAP) назначена 10 пациентам, по протоколу DAL-HD-2002 пролечены двое больных, по схеме ProMACE-СytaBOM – 1, COPDIC – 1, ДехаBEAM – 1, COPP – 3. Трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) проведена трем больным ЛХ. Терапия приводила к достижению оптимального ответа у 63 (85,1 %) пациентов. Большая опухолевая масса (bulky disease) была диагностирована у 22 пациентов. Экстранодальные поражения отмечены у 37 больных ЛХ, у 19 из которых в опухолевый процесс были вовлечены две и более экстранодальные зоны.

Исследование МПК проводилось с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DXA) на аппарате LunarProdigy (GE, США). Определяли показатели МПК, Т-критерий в позвоночнике (поясничные позвонки: L1-L4), проксимальных отделах бедра, шейке бедра, предплечье недоминантной руки у женщин до менопаузы, у мужчин моложе 50 лет и детей – Z-критерий. Значение Т-критерия в пределах от  $-1,0$  до  $-2,5$  SD соответствует остеопении,  $-2,5$  SD и ниже – остеопорозу. У женщин до менопаузы, мужчин моложе 50 лет и детей при значениях Z-критерия от  $-2,0$  и ниже следует давать определение «низкая МПК для хронологического возраста» или «ниже ожидаемых по возрасту значений». Определение риска основных низкоэнергетических переломов проводилось с помощью опросника FRAX (веб-версия 3.8, расчет по российской модели). Оценивали общий риск низкоэнергетических переломов (FRAX total) и риск переломов шейки бедра (FRAX hip).

Учитывая, что распределение большинства изученных признаков было отличным от нормального, применяли методы непараметрической статистики. Гипотезу о равенстве генеральных

средних в сравниваемых группах проверяли с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Для оценки статистической значимости различий двух или нескольких относительных показателей применяли критерий  $\chi^2$  Пирсона. Для всех видов анализа различия считали достоверными при  $p < 0,05$ . По каждому признаку в сравниваемых группах определяли среднюю арифметическую величину ( $M$ ) и ошибку средней ( $m$ ). Ряд данных представлен как медианы (25-е, 75-е процентиля).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам DXA 36 больных ЛХ (48,6 %) имели снижение МПК. На основании наименьшего Т-критерия пациенты старше 50 лет и женщины в постменопаузе распределены на группы с нормальной МПК ( $n = 4$ ), остеопенией ( $n = 16$ ) и остеопорозом ( $n = 11$ ), а больные ЛХ моложе 50 лет согласно наименьшему Z-критерию – на группы с нормальной МПК ( $n = 34$ ) и МПК ниже ожидаемых показателей для данного возраста ( $n = 9$ ). Как видно из табл. 2, пациенты с остеопорозом в целом были старше, имели меньший ИМТ, чем больные с нормальной МПК. Десятилетний риск основных низкоэнергетических переломов и переломов шейки бедра согласно FRAX оказался выше в группах больных с остеопорозом и остеопенией по сравнению с больными ЛХ с нормальной МПК ( $p < 0,05$ ). Количество проведенных курсов ПХТ и длительность заболевания не влияли на изменение МПК.

У больных ЛХ, получавших комбинированную терапию, в большинстве случаев выявлялось снижение МПК в сравнении с пациентами, получавшими только ПХТ (соответственно в 66,6 и 38,5 % случаев,  $\chi^2 = 5,47$ ;  $p = 0,0194$ ). У одного пациента с проведенной аутоТГСК выявлена остеопения. Более чем у половины больных, получавших схемы ПХТ, содержащие глюкокортикоиды (59,1 %), обнаружено уменьшение МПК. Результаты анализа МПК шейки бедра, поясничного отдела позвоночника, предплечья недоминантной руки в зависимости от стадии ЛХ представлены в табл. 3. В группе пациентов моложе 50 лет величины МПК и Z-критерия поясничного отдела позвоночника на ранних стадиях заболевания были статистически значимо меньше, чем у больных с III–IV стадиями. В шейке бедра и предплечье недоминантной руки достоверных различий в показателях не получено. В свою очередь, у больных старше 50 лет и женщин в постменопаузе на ранних стадиях заболевания зарегистрировано достоверное снижение величин МПК и Т-критерия шейки бедра в срав-



Таблица 2

Клиническая характеристика больных ЛХ в зависимости от МПК, медиана (25-й процентиль; 75-й процентиль)

Группа больных ЛХ	Параметр					
	Возраст, лет	Длительность ЛХ, лет	ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	FRAX total	FRAX hip	Количество курсов
Больные ЛХ < 50 лет						
МПК ниже ожидаемых по возрасту значений (n = 9)	34 (33; 44)	4 (3; 6)	29,4 (26,3; 32,2)	–	–	6 (4; 7)
Нормальная МПК (n = 34)	37,5 (31; 42)	5 (2; 8)	23,9 (21,5; 31,25)	–	–	6 (6; 8)
Больные ЛХ ≥ 50 лет и женщины в постменопаузе						
Остеопороз (n = 11)	58* (53; 61)	5 (2; 16)	23,6* (22,7; 28,1)	10* (8; 13)	1,2* (0,7; 2)	6 (5; 8)
Остеопения (n = 16)	57 (54; 61)	4,5 (3,5; 9,5)	28,5 (22,8; 31,3)	7,0 (4; 10,5)	0,3 (0,2; 0,8)	6 (5,5; 8)
Нормальная МПК (n = 4)	51 (50,5; 59,5)	4,5 (3,5; 7,5)	25,8 (23,5; 35,5)	6,4 (4,7; 10)	0,2 (0,1; 0,6)	6 (4; 11,5)

Примечание. \* – отличие от величины соответствующего показателя пациентов с нормальной МПК статистически значимо при  $p < 0,05$ .

Таблица 3

Изменение показателей МПК в зависимости от стадии заболевания,  $M \pm t$

Локализация	I и II стадии		III и IV стадии	
	МПК, г/см <sup>2</sup>	Z-критерий, SD	МПК, г/см <sup>2</sup>	Z-критерий, SD
Пациенты < 50 лет (n = 43)				
Шейка бедра	1,04 ± 0,03	0,13 ± 0,19	1,06 ± 0,04	0,21 ± 0,31
Поясничный отдел позвоночника	1,10 ± 0,03*	–0,13 ± 0,21*	1,25 ± 0,04	0,17 ± 0,32
Предплечье недоминантной руки	0,72 ± 0,01	–0,16 ± 0,21	0,74 ± 0,01	–0,20 ± 0,21
Пациенты ≥ 50 лет и женщины в постменопаузе (n = 31)				
Шейка бедра	0,79 ± 0,03*	–1,50 ± 0,32*	0,98 ± 0,02	–0,90 ± 0,17
Поясничный отдел позвоночника	1,08 ± 0,04	–1,01 ± 0,31	1,08 ± 0,04	–0,97 ± 0,31
Предплечье недоминантной руки	0,68 ± 0,03	–0,80 ± 0,32	0,64 ± 0,04	–0,80 ± 0,30

Примечание. \* – отличие от величины соответствующего показателя пациентов с III и IV стадиями ЛХ статистически значимо при  $p < 0,05$ .

нении с больными с распространенными стадиями заболевания (см. табл. 3). У данной группы пациентов не обнаружено статистически значимых различий в денситометрических показателях поясничного отдела позвоночника и предплечья недоминантной руки.

При сопоставлении денситометрических показателей в зависимости от гистологического типа заболевания их достоверная оценка не представляется возможной в связи с разнородностью и небольшим размером выборки для каждого варианта ЛХ.

## ОБСУЖДЕНИЕ

По данным литературы, гемобластозы являются распространенным фактором риска развития вторичного остеопороза и низкоэнергетических переломов [5]. Остеопороз и остеопения, как осложнения терапии лимфопролиферативных заболеваний, чаще встречаются у больных ЛХ (до 88 % пациентов), чем у больных неходжкинскими лимфомами (67 %) и хроническим лимфоцитарным лейкозом (49 %) [7]. В нашей выборке около половины пациентов имели сни-

жение МПК. Следует подчеркнуть, что 20,9 % случаев приходится на молодой возраст.

Нами установлено, что проведение протоколов ПХТ, включающих глюкокортикостероиды, положительно ассоциировано со снижением МПК у больных ЛХ. Полученные результаты подтверждают выводы других авторов, свидетельствующие о существовании связи между глюкокортикоидной терапией и риском развития остеопороза. Возникновение переломов у больных, получающих глюкокортикостероиды, преимущественно ассоциировано с пероральной терапией. Наибольшая опасность связана с использованием препаратов в суточных дозах, соответствующих 7,5 мг преднизолона и выше [4]. Следует отметить, больным ЛХ, получающим ПХТ по протоколу ВЕАСОРР, преднизолон назначается в дозировке 40 мг/м<sup>2</sup> ежедневно в течение 14 дней. Полный курс лечения по схеме ВЕАСОРР состоит из 4 циклов на ранних стадиях заболевания, из 6–8 циклов при распространенных стадиях или при наличии неблагоприятных факторов риска. Режим химиотерапии ДНАР предусматривает назначение дексаметазона в дозировке 40 мг в течение четырех дней цикла. Высокие дозы глюкокортикостероидов, используемые в указанных схемах ПХТ, создают значительный риск развития остеопороза.

Р.А. Пархоменко и соавт. в своем исследовании указывают на то, что вероятность снижения МПК зависит от числа циклов ПХТ [2], в то время как в данной работе установлено, что количество проведенных режимов и длительность заболевания не влияло на изменение МПК. Обнаружено, что МПК достоверно меньше у больных ЛХ, получавших комбинированную терапию. Результаты настоящей работы позволяют рассматривать лучевую терапию в качестве одного из решающих факторов риска развития остеопороза у больных ЛХ, что согласуется с данными других авторов [1].

Влияние лучевой терапии на МПК может быть опосредовано через эндокринные нарушения: гипогонадизм и дисфункцию щитовидной железы. Известно, что гиперфункция щитовидной железы ведет к ускорению процессов образования и резорбции костной ткани, с преобладанием последней, развитию дисбаланса регуляции кальций-фосфорного обмена в виде гипокальциемии, гиперфосфатемии, гиперкальциурии, также установлено прямое влияние эстрогенов на функцию клеток костной ткани через присутствующие в остеобластах, остеоцитах и остеокластах эстрогеновые рецепторы [6]. Необходимо отметить и стимулирующее влияние андрогенов на пролиферацию остеобластов и выработку ими коллагена

III типа. Дигидротестостерон способен увеличивать продукцию трансформирующего фактора роста  $\beta$ , количество рецепторов к инсулиноподобному фактору роста II в остеоцитах, активность щелочной фосфатазы и синтез проколлагена I типа, что говорит об усилении функции остеобластов [8]. Результаты настоящей работы позволяют предполагать, что снижение денситометрических показателей на I–II стадиях ЛХ также связано с применением лучевой терапии на зоны исходного поражения в качестве общепринятого стандарта лечения преимущественно ранних стадий заболевания.

В проведенном исследовании впервые установлена частота развития и структура факторов риска остеопороза, определен риск низкоэнергетических переломов у больных с различными стадиями ЛХ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нам удалось установить, что распространенность опухолевого процесса, проведение комбинированной терапии и протоколов ПХТ, включающих глюкокортикостероиды, положительно ассоциированы со снижением МПК у больных ЛХ. Механизмы развития остеопороза при ЛХ заслуживают дальнейшего изучения. В частности, требует уточнения вклад специфических факторов риска (опухолевой прогрессии, ПХТ, лучевой терапии), роль гормонов и других регуляторов, а также сигнальных путей, вовлеченных в костное ремоделирование. Актуальной задачей является разработка подходов к профилактике и лечению остеопороза при ЛХ.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Даниленко А.А. Отдаленные последствия лучевой и химиолучевой терапии первичных больных лимфомой Ходжкина: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Обнинск, 2017.
2. Пархоменко Р.А., Щербенко О.И., Удельнова И.А., Пуртова Г.С., Зуева А.В., Халиль Е.Ф., Сычева Н.А., Зелинская Н.И. Состояние минеральной плотности костной ткани у лиц, перенесших лимфому Ходжкина в детском или подростковом возрасте // Вестн. Рос. науч. центра рентгенодиагностики. Минздрава России. 2011. (11-1). 14.
3. Радulesку Г.Г., Матченкова Н.В., Белогурова М.Б. Эндокринологические осложнения у паци-

ентов, получивших противоопухолевую терапию в детском возрасте // Педиатр. 2016. 7. (1). 120–128.

4. Filipovich A.H., Weisdorf D., Pavletic S., Socie G., Wingard J.R., Lee S.J., Martin P., Chien J., Przepiorka D., Couriel D., Cowen E.W., Dinndorf P., Farrell A., Hartzman R., Henslee-Downey J., Jacobsohn D., McDonald G., Mittleman B., Rizzo J.D., Robinson M., Schubert M., Schultz K., Shulman H., Turner M., Vogelsang G., Flowers M.E. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease // Biol. Blood Marrow Transplant. 2005. 11. 945–956.

5. Inaba H., Cao X., Han A.Q., Panetta J.C., Ness K.K., Metzger M.L., Rubnitz J.E., Ribeiro R.C.,

Sandlund J.T., Jeha S., Cheng C., Pui C.H., Relling M.V., Kaste S.C. Bone mineral density in children with acute lymphoblastic leukemia // Cancer. 2018. 124. (5). 1025–1035.

6. Krum S.A. Direct transcriptional targets of sex steroid hormones in bone // J. Cell. Biochem. 2011. 2. 401–408.

7. Ruchlemer R., Amit-Kohn M., Tivito A., Sindelovsky I., Zimran A., Raveh-Brawer D. Bone loss and hematological malignancies in adults: a pilot study // Support Care Cancer. 2018. 26. (9). 3013–3020.

8. Soroco S., Barrett-Connor E.L., Edelstein S.L., Kritz-Silverstein D. Family history of osteoporosis and bone mineral density at the axial skeleton// J. Bone Miner. Res. 1997. 12. (1). 16–23.

## **ASSESSMENT OF BONE MINERAL DENSITY IN PATIENTS WITH HODGKIN'S LYMPHOMA**

**Mariya Sergeevna VOYTKO<sup>1</sup>, Tatyana Ivanovna POSPELOVA<sup>1</sup>,  
Vadim Valerievich KLIMONTOV<sup>1,2</sup>, Olga Nikolaevna FAZULLINA<sup>2</sup>,  
Elena Viktorovna MEZIT<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

<sup>2</sup> *Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –  
Branch of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS  
630117, Novosibirsk, Arbuzov str., 6*

---

Currently, Hodgkin's lymphoma (HL) is considered as a potentially curable disease. The polychemotherapy including various combinations of cytostatic drugs and glucocorticoids appears the standard of treatment in patients with HL. Patients with early stage disease (stage I to II) receive several cycles of chemotherapy followed by the radiotherapy. The possibility of achieving persistent disease-free survival poses a problem of ensuring a satisfactory quality of life and preventing the long-term consequences of antitumor therapy. One of those consequences may be a change in bone mineral density (BMD). Aim of the study was to assess the BMD in patients with HL. Material and methods. BMD was measured by dual-energy X-ray absorptiometry using a stationary LunarProdigy bone densitometer (GE, USA). The Russian FRAX model was used in this study. The model uses clinical data to calculate the major low-energy fractures and the hip fractures. Results. The decreased BMD was revealed in 36 observed HL subjects (48.6 %). Patients with osteoporosis were generally older, had a lower body mass index as compared to patients with normal BMD ( $p < 0.05$ ). Based on FRAX assessment, the 10-year risk of major low-energy fractures and the hip fractures was expectedly higher in patients with osteoporosis and osteopenia as compared to subjects with normal BMD ( $p < 0.05$ ). More patients with radiotherapy in anamnesis had decreased BMD compared to patients who received chemotherapy only ( $\chi^2 = 5.47$ ;  $p = 0.0194$ ). More than half of the patients (59.1 %) receiving regimens containing glucocorticosteroids had BMD decrease. A comparative analysis revealed that patients younger than 50 years old had lower values of BMD and Z-score of the lumbar spine in the early stages of HL as compared to patients with stage III-IV. In turn, in patients older 50 years and postmenopausal women at the early stages of HL was a significant decrease of BMD and T-score of the femoral neck as compared to patients with advanced stages of the disease. This research suggests that the decrease in BMD in stages I-II of HL can be associated with radiotherapy as the generally accepted standard for the treatment of early stages of the disease.

---

**Key words:** Hodgkin's lymphoma, bone mineral, osteoporosis, densitometry, dual-energy X-ray absorptiometry.

---

*Voytko M.S. – postgraduate student of the department of therapy, hematology and blood transfusion,  
e-mail: voytko.marie@yandex.ru*

*Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, head of the department of therapy, hematology  
and blood transfusion, prorector for science, e-mail: post\_gem@mail.ru*

*Klimontov V.V. – doctor of medical sciences, professor of the RAS, deputy director for science,  
head of the laboratory of endocrinology, e-mail: klimontov@mail.ru*

*Fazullina O.N. – junior researcher*

*Mezit E.V. – postgraduate student of the department of therapy, hematology and blood transfusion,  
e-mail: post\_gem@mail.ru*



## КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МУТАЦИОННОГО СТАТУСА ГЕНА *TP53* ПРИ ДИФФУЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ

Елена Николаевна ВОРОПАЕВА<sup>1</sup>, Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА<sup>2</sup>,  
Михаил Иванович ВОЕВОДА<sup>1</sup>, Владимир Николаевич МАКСИМОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН*  
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

<sup>2</sup> *Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России*  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

**Цель исследования** – выявить клиническое значение мутационного статуса гена *TP53* в группе больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) г. Новосибирска, получающих терапию с включением ритуксимаба. **Материал и методы.** Обследовано 74 пациента с ДВККЛ, госпитализировавшихся в Городской гематологический центр г. Новосибирска за период 2012–2015 гг. и получавших терапию с включением ритуксимаба. Методом прямого капиллярного секвенирования по Сэнгеру определена нуклеотидная последовательность кодирующей области гена *TP53* (экзоны 5–10) и примыкающих участков интронов. Проведен функциональный анализ выявленных мутаций, оценены непосредственные и отдаленные результаты терапии больных. **Результаты и их обсуждение.** В ходе работы впервые на российской выборке пациентов с ДВККЛ продемонстрировано, что мутационный статус *TP53* ассоциирован как с большей частотой выявления симптомов опухолевой интоксикации, спленомегалии, лейкемизации лимфомы, так и с неблагоприятными прогностическими группами согласно Международному прогностическому индексу лимфом. Выявлена тенденция к большей частоте достижения в ходе терапии полной клинико-гематологической ремиссии в подгруппе пациентов с ДВККЛ, имеющих каноническую последовательность гена или мутации в *TP53* с недоказанным онкогенным потенциалом. Больные с функционально значимыми мутациями *TP53* имели более низкие показатели общей выживаемости. **Заключение.** Следует надеяться, что терапевтические подходы, направленные на инактивированный путь *TP53*, могут дополнительно улучшить клинические исходы при ДВККЛ.

**Ключевые слова:** ген *TP53*, мутации, диффузная В-крупноклеточная лимфома, ритуксимаб, прогноз, таргетная терапия.

Среди широкого многообразия вариантов неходжкинских лимфом около трети случаев заболевания у взрослых составляет диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ), до 25–30 % в развитых и 30–40 % в развивающихся странах, что делает этот вариант одним из самых частых [16]. ДВККЛ относится к агрессивным вариантам лимфом со средней продолжительностью жизни пациентов без лечения менее 1 года, но является потенциально курабельным при применении антрациклин-содержащей химиотерапии заболеванием [7]. Добавление ритуксимаба к программе СНОР (циклофосфан, доксорубицин,

винкристин, преднизолон) привело к значительному увеличению прироста выживаемости пациентов и сделало протокол R-СНОР современным «золотым стандартом» терапии ДВККЛ первой линии [2]. Однако в настоящее время, при условии применения комбинированной химиоиммунотерапии, могут быть излечены лишь чуть более 60 % больных ДВККЛ [17]. В этой связи несомненный научный и практический интерес вызывает вопрос прогноза течения заболевания.

Ген *TP53* (OMIM No. 191117), расположенный на хромосоме 17p13.1, является одним из наиболее изученных генов-супрессоров опухо-

*Воропаева Е.Н.* – д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, e-mail: vena.81@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7542-7285>

*Поспелова Т.И.* – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, e-mail: post\_gem@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1261-5470>

*Воевода М.И.* – д.м.н., проф., академик РАН, директор, e-mail: office@iimed.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9425-413X>

*Максимов В.Н.* – д.м.н., проф., зав. лабораторией молекулярно-генетических методов исследования терапевтических заболеваний, e-mail: medik11@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7165-4496>

левого роста. Он играет ключевую роль в контроле клеточного цикла, репарации ДНК, запуска апоптоза, механизмов старения и аутофагии [20]. Частота инактивации TP53 посредством соматических мутаций при лимфомах ниже, чем при солидных новообразованиях. Вместе с тем исследования показали сильную корреляцию между мутантным статусом TP53 и ухудшением выживаемости пациентов, большей скоростью прогрессирования и устойчивостью лимфом к химиотерапии [8], при этом предшествующая неэффективная терапия лимфом строго ассоциирована с наличием мутаций TP53 и ответственна за развитие резистентности к терапии второй линии [15]. Частота аномалий TP53 при ДВККЛ выше, чем при неходжкинских лимфомах низкой степени злокачественности, и достигает 20–25 % [19]. Согласно данным ретроспективных клинических исследований, мутации в гене TP53 являются независимым прогностическим фактором плохой выживаемости больных ДВККЛ, получавших терапию по протоколам, не включающим ритуксимаб [10].

После добавления к терапии ДВККЛ ритуксимаба и значительного улучшения выживаемости пациентов с данным заболеванием требовалась переоценка влияния мутационного статуса гена TP53 на клинический исход заболевания. В относительно небольшом числе исследований показано, что существующие программы лечения ДВККЛ, включая таргетную терапию с применением моноклональных антител, не в состоянии преодолеть негативное прогностическое значение мутаций в гене TP53 [14, 16]. В частности, в наиболее крупном исследовании International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study выявлено доминирующее негативное влияние мутаций TP53 на общую и бессобытийную выживаемость пациентов [9].

Открытия в области изучения ДВККЛ происходят быстрыми темпами, что дает надежду на улучшение подходов к стратификации пациентов с ДВККЛ на прогностические группы с использованием молекулярных предикторов и разработку новых рациональных методов таргетной терапии [8]. В современной онкогематологии существуют примеры того, как детальное понимание генетических изменений, возникающих в конкретном типе опухоли, могут повлиять на разработку точечной терапии заболевания.

Путь патогенеза ДВККЛ, завязанный на TP53, может иметь большой потенциал в разработке новых методов лечения этого одного из самых частых и агрессивных вариантов неходжкинских лимфом, основанных на реактивации p53 или

шунтирующих механизмов программированной клеточной смерти [11]. В настоящее время в онкологии уже применяется ряд инновационных стратегий целенаправленной терапии с использованием мутантного TP53 в качестве мишени, которые имеют потенциальную терапевтическую ценность при ДВККЛ [4].

Целью данного исследования было выявить клиническое значение мутационного статуса гена TP53 в группе больных ДВККЛ г. Новосибирска, получающих терапию с включением ритуксимаба.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В группу исследования вошли 74 пациента (35 мужчин и 39 женщин) в возрасте от 21 до 78 лет (средний возраст  $52,8 \pm 14,3$  года), госпитализированных в Городской гематологический центр г. Новосибирска за период с 2012 по 2015 г. Клиническая характеристика больных представлена в табл. 1. Все пациенты получили 6–8 курсов полихимиотерапии по протоколам с включением ритуксимаба. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом. Все больные подписали информированное согласие на включение в исследование.

Геномную ДНК выделяли из парафиновых блоков биоптатов опухолевых лимфоузлов и экстранодальных очагов поражения методом фенольно-хлороформной экстракции с применением гуанидина. Использовали срезы ткани, содержащие не менее 80–90 % опухолевых клеток. Методом прямого капиллярного секвенирования по Сэнгеру определена нуклеотидная последовательность кодирующей области гена TP53 (экзоны 5–10) и примыкающих участков интронов, согласно протоколу IARC. Результаты секвенирования и выравнивание фрагментов анализировали с помощью программ Chromas, SeqScape v.2.7, Sequence Scanner. В качестве референсной использовали последовательность гена TP53 NG\_017013.

Анализировали частоту встречаемости выявленных мутаций в специализированных базах данных IARC TP53 mutation Database, The UMD TP53 mutation database, Human Gene Mutation Database, dbSNP и Human Gene Mutation Database (HGMD). Теоретическое прогнозирование возможных последствий обнаруженных мутаций проводилось с применением программ PolyPhen2, SIFT, Mut\_ass и NetGene2.

При сравнении наблюдаемых и ожидаемых частот использовали точный критерий Фишера. Для оценки ассоциации между изучаемыми генетическими маркерами и риском развития события рассчитывали отношение шансов (ОШ) с 95%-м доверительным интервалом (ДИ). Эффект

Таблица 1

## Клиническая характеристика больных ДВККЛ

Параметр	Вся группа (n = 74)	TP53mut (n = 12)	TP53wt (n = 62)	p
Средний возраст, лет	52,8 ± 14,3	50,3 ± 10,6	58,6 ± 18,5	0,347
Пол:				0,403
мужской	35	7	28	
женский	39	5	34	
Симптомы опухолевой интоксикации:				0,016
нет	36	2	34	
есть	38	10	28	
Общесоматический статус ECOG:				0,352
0–1	57	8	49	
2–3	17	4	13	
Стадия:				0,264
I–II	7	0	7	
III–IV	67	12	55	
Экстранодальные поражения:				0,074
нет	42	4	38	
есть	32	8	24	
Спленомегалия:				0,044
нет	59	7	52	
есть	15	5	10	
Поражение костного мозга:				0,028
нет	51	4	47	
есть	23	8	15	
Уровень ЛДГ:				0,296
норма	41	5	36	
повышен	33	7	26	
МПИ:				0,018
0–2	21	0	21	
3–5	53	12	41	
Полная ремиссия	58	7	51	0,066

Примечание. p – вероятность различия между подгруппами TP53mut и TP53wt, ЛДГ – лактатдегидрогеназа.

противоопухолевой терапии оценивали по критериям «частота ремиссий» и «5-летняя общая выживаемость» (ОВ). Выполняли анализ цензурированных данных с использованием функции вероятности выживания Каплана – Майера. Дополнительно определяли медиану выживаемости. Для сравнения кривых выживаемости и скорости ответа использовали непараметрический логранговый критерий. Для прогнозирования риска наступления события и оценки влияния независимых предикторов на этот риск применяли модель пропорциональных рисков регрессии Кокса с определением 95%-го ДИ. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В опухолевом материале от 74 больных ДВККЛ в гене TP53 выявлены 33 мутации: 21 – в кодирующей области и 12 – в интронных участках. К нарушению сплайсинга мРНК и к сдвигу рамки считывания приводили по одной мутации (3 %), 11 (33 %) были интронными мутациями, 12 (37 %) – миссенс-мутациями, шесть (18 %) – синонимичными, две (6 %) – нонсенс-мутациями. У четырех больных (6,8 %) обнаружены множественные мутации (табл. 2). Подробная характеристика мутаций описана нами в предыдущих публикациях [1, 18]. Согласно данным анализа, функционально значимыми мутациями TP53,

Таблица 2

Выявленные мутации в гене TP53

Номер случая	Мутация	Характеристика
1	p.L130F	ФЗ
	p.R156C	НФ
2	p.W146R	НФ
3	p.W146R	НФ
4	p.T155I	ФЗ
	p.A189Pfs	ФЗ
	IVS5+43G>T	ФЗ
	IVS4-30T>C	НД
5	p.T155I	ФЗ
6	p.A307A	ФЗ
	p.V157V	НД
	IVS4-30T>C	НД
	IVS8+20A>G	НД
7	p.H179H	НД
8	p.R196Q	ФЗ
9	p.R213X	ФЗ
10	p.R213X	ФЗ
11	p.G244S	ФЗ
12	p.L252L	НД
	IVS6-36G>C	ФЗ
13	p.V272E	ФЗ
14	p.V272E	ФЗ
15	p.V272V	НД
16	p.A276V	ФЗ
17	p.G293R	НФ
18	p.G302G	НД
	IVS8+10C>A	НД
19	IVS5-17T>C	НД
	IVS7+31G>C	НД
20	IVS8+37A>G	НД
21	IVS9+12T>C	НД
22	IVS9+12T>C	НД
23	IVS8+10C>A	НД
24	IVS7+31G>C	НД

Примечание. ФЗ – мутации с доказанным патогенным эффектом; НФ – мутации, не приводящие к потере функции белка p53; НД – мутации, функциональный эффект которых в настоящее время невозможно оценить.

выявленными в группе обследования, являются следующие: p.R213X и p.A189Pfs, приводящие к синтезу укороченного варианта белка p53; IVS6-36G>C, IVS5+43G>T и p.A307A, приводящие к нарушению сплайсинга; мутации p.L130F, p.T155I, p.R196Q, p.G244S, p.V272E и p.A276V,

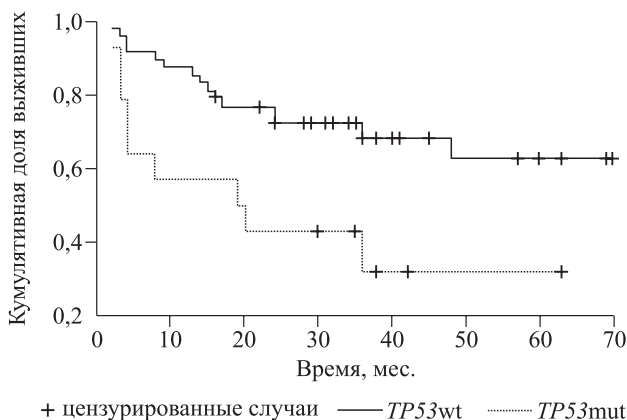


Рис. Общая выживаемость больных ДВККЛ с наличием и отсутствием функционально значимых мутаций в гене TP53

характеризующиеся утратой p53 антионкогенных свойств (см. табл. 2). В данной статье мы остановимся на анализе клинической значимости именно этих изменений.

Группа обследования была разделена на две подгруппы: с наличием функционально значимых мутаций в гене TP53 и без них (соответственно TP53mut и TP53wt). Подгруппу TP53mut составили 12 пациентов (см. табл. 2). Наличие функционально значимых мутаций коррелировало с большей частотой регистрации симптомов опухолевой интоксикации, спленомегалии, вовлечения в опухолевый процесс костного мозга, а также высоким (>2) Международным прогностическим индексом лимфом (МПИ) (см. табл. 1). Анализ непосредственных результатов терапии выявил, что пациенты подгруппы TP53mut имели тенденцию к меньшей частоте достижения полной ремиссии, чем больные без функционально значимых мутаций в гене TP53 (соответственно 58,3 и 79,7 %;  $p = 0,066$ ); пятилетняя ОВ составила соответственно 41,7 % с медианой выживаемости 20 месяцев и 69,4 % (медиана выживаемости не достигнута),  $p = 0,026$  (рисунок).

Однофакторный анализ показал, что наличие экстранодальных очагов поражения, МПИ > 2 и выявление функционально значимых мутаций в гене TP53 в опухолевой ткани ДВККЛ являются предикторами ухудшения ОВ пациентов (табл. 3). В ходе многофакторного анализа установлено, что только МПИ независимо от других факторов предсказывал ухудшение ОВ пациентов с ДВККЛ, получающих терапию по протоколам с включением ритуксимаба. Так, больные с МПИ > 2 имели в 3 раза больший риск не дожить до 5-летнего рубежа ОВ ( $p = 0,005$ ), чем пациенты с МПИ ≤ 2 (см. табл. 3).



Таблица 3

Однофакторный и многофакторный анализ предикторов общей выживаемости больных с ДВККЛ

Параметр	ОШ	95%-й ДИ	p
Однофакторный анализ			
Наличие симптомов опухолевой интоксикации	2,401	0,530–0,876	0,256
Общесоматический статус ECOG 2–3	1,938	0,905–4,149	0,088
Стадии III–IV	2,025	0,576–7,116	0,271
Наличие экстранодальных поражений	3,233	1,140–9,951	0,029
Поражение костного мозга	1,539	0,501–4,722	0,451
Повышение уровня ЛДГ	1,073	0,900–9,438	0,068
МПИ > 2	2,844	1,384–5,842	0,004
Наличие функционально значимых мутаций в гене TP53	2,707	1,077–6,800	0,034
Многофакторный анализ			
МПИ > 2	2,994	1,405–6,381	0,005
Наличие функционально значимых мутаций в гене TP53	2,128	0,627–7,217	0,226
Наличие экстранодальных поражений	2,405	0,787–7,369	0,125

## ОБСУЖДЕНИЕ

Мутации в TP53 фиксируются примерно в половине всех случаев злокачественных новообразований [9]. Подавляющее большинство работ, изучающих изменения в нуклеотидной последовательности TP53, были сосредоточены на анализе 5–8 экзонов гена, кодирующих ДНК-связывающий домен p53 [5]. Некодирующие последовательности, которые потенциально могут влиять не только на сплайсинг м-РНК, но и на экспрессию гена, нарушая авторегуляцию процессинга, нормальное прохождение посттранскрипционных модификаций м-РНК и посттрансляционных изменений белка, оставались за пределами внимания исследователей [5, 6].

В рамках данной работы в опухолевом материале от 74 больных ДВККЛ в гене TP53 выявлены 33 мутации: 21 – в кодирующей области и 12 – в интронных участках. Поскольку часть из данных мутаций являются причинными для развития и прогрессии ДВККЛ и могут быть обозначены как «драйверные», а часть не оказывают влияния на возникновение и рост опухоли, т.е. являются «мутациями-пассажирами» [5, 6], требовался анализ функциональной значимости каждой из выявленных в группе обследования aberrаций.

На сегодняшний день описано около 20 000 типов мутаций в кодирующей последовательности 5–8 экзонов TP53, которые обеспечивают ту или иную степень подавления его функции и подвергаются селекции в клетках опухолей [3]. Объединение функционального биоинформационного анализа с определением частоты каждой мутации в базах данных приводит к поразительному выводу о четкой обратной корреляции между частотой

конкретной мутации TP53 и активностью ее белкового продукта: частые мутанты TP53 всегда неактивны, тогда как продукты мутаций с единичной регистрацией в базе имеют активность более 50 % по сравнению с белком p53 дикого типа [13].

Подробно результаты такого комплексного анализа мутаций TP53, выявленных в группе исследования, описаны нами в предыдущих публикациях [1, 18]. В целом показано, что из выявленных aberrаций функционально значимы 11 типов мутаций: p.R213X и p.A189Pfs, приводящие к синтезу укороченного варианта белка p53; IVS6-36G>C, IVS5+43G>T и p.A307A, приводящие к нарушению сплайсинга; p.L130F, p.T155I, p.R196Q, p.G244S, p.V272E и p.A276V, характеризующиеся утратой p53 антионкогенных свойств. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о необходимости анализа всех выявленных в ходе секвенирования изменений, поскольку на этапах опухолевой прогрессии ДВККЛ может происходить функциональная селекция изменений не только в 5–8 экзонах, но и в интронах гена TP53.

Целью данного исследования было выявить клиническое значение мутационного статуса гена TP53 в группе больных ДВККЛ г. Новосибирска, получающих терапию с включением ритуксимаба. В ходе работы впервые на российской выборке пациентов с ДВККЛ продемонстрировано, что мутационный статус TP53 ассоциирован как с большей частотой выявления В-симптомов, спленомегалии, лейкемизации лимфомы, так и с неблагоприятными прогностическими группами согласно МПИ. Более того, обнаружена тенденция к большей частоте достижения в ходе терапии полной клинико-гематологической ремиссии

в подгруппе пациентов с ДВККЛ, имеющих каноническую последовательность гена или мутации в TP53 с недоказанным онкогенным потенциалом ( $p = 0,066$ ). Полученные результаты свидетельствуют о более агрессивном течении заболевания и большем объеме опухолевого поражения у больных ДВККЛ с функционально значимыми мутациями TP53, чем у пациентов без данных молекулярно-генетических aberrаций.

На следующем этапе работ выполнялся анализ отдаленных результатов лечения больных лимфомой. Известно, что, несмотря на присоединение к стандартным протоколам терапии ДВККЛ ритуксимаба, таргетного препарата моноклонального антитела к CD20, мутации TP53 являются независимым прогностическим фактором выживаемости больных [21]. Согласно полученным нами данным, пациенты подгруппы TP53wt также имели значимо лучше общую выживаемость ( $p = 0,026$ ) в сравнении с больными подгруппы TP53mut, что согласуется с опубликованным ранее исследованием [19].

Однофакторный анализ методом регрессии Кокса показал, что наряду с наличием экстранодальных очагов опухолевого поражения и МПИ > 2 мутантный статус TP53 является независимым предиктором ухудшения общей выживаемости больных ДВККЛ в условиях терапии схемами, содержащими ритуксимаб. Однако в многофакторной модели значимое влияние на показатели общей выживаемости оказывал только МПИ > 2, что может быть связано с относительно небольшой группой исследования и малым числом наблюдений в анализируемой нами выборке функционально значимых мутаций TP53.

Важность изучения конкретных механизмов инактивации гена TP53 при ДВККЛ, ставших объектом данного исследования, трудно переоценить. Представляется, что знания о конкретных типах мутаций в каждом отдельном случае заболевания имеют прямой выход в персонализированную терапию ДВККЛ. Функциональная значимость мутаций в гене TP53, выявленных в рамках данного исследования в опухолевой ткани больных ДВККЛ, делает их потенциальной терапевтической мишенью, тем более что в настоящее время уже разработан ряд инновационных стратегий, которые имеют потенциальную терапевтическую ценность при лимфопролиферативных новообразованиях [4]. Так, мутация p.R213X, выявленная в анализируемой выборке больных ДВККЛ, является наиболее распространенной нонсенс-мутацией в гене TP53 и встречается чаще, чем любые другие миссенс-мутации при опухолях человека. Интересно, что аминокислоты, например гентамицин и G418, индуциру-

ют сквозное «чтение» в точке мутации p.R213X и приводят к экспрессии полноразмерного белка p53 [22]. Также существует несколько экспериментальных молекул, нацеленных на широкий спектр мутантов p53 (PRIMA-1, RITA, ScFv), и соединений, которые специально направлены на восстановление структуры p53 дикого типа при конкретной миссенс-мутации (например, молекула Phikan059, нацеленная на pR220C) [12]. Созданы белки, специфически взаимодействующие с несколькими типами мутантного p53 и блокирующие приобретенные им проонкогенные трансактивационные свойства.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящем исследовании мы определили спектр функционально значимых мутаций TP53 в российской когорте пациентов с ДВККЛ, которые получали лечение с включением ритуксимаба, и подтвердили, что мутационный статус TP53 является ценным прогностическим биомаркером. Полученные данные являются еще одним подтверждением критически важной роли нарушений функций p53 в опухолевой прогрессии и чувствительности к терапии опухолей, в том числе ДВККЛ. По этой причине следует надеяться, что терапевтические подходы, направленные на инактивированный путь TP53, могут дополнительно улучшить клинические исходы при ДВККЛ.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-2018-0002.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И., Максимов В.Н. Сравнительный анализ мутаций в гене TP53 у больных ДВККЛ г. Новосибирска с данными, представленными в IARC TP53 mutation database // Мед. генетика. 2016. 15. (4). 17–20.
2. Поддубная И.В. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. М.: Медиа Медика, 2013. 104 с.
3. Caminsky N., Mucaki E.J., Rogan P.K. Interpretation of mRNA splicing mutations in genetic disease: review of the literature and guidelines for information-theoretical analysis // F1000Res. 2014. 3. 282.

4. Cheung K.-J.J., Horsman D.E., Gascoyne R.D. The significance of TP53 in lymphoid malignancies: mutation prevalence, regulation, prognostic impact and potential as a therapeutic target // Br. J. Haematol. 2009. 146. 257–269.
5. Diederichs S., Bartsch L., Berkmann J.C., Fröse K., Heitmann J., Hoppe C. The dark matter of the cancer genome: aberrations in regulatory elements, untranslated regions, splice sites, non-coding RNA and synonymous mutations // EMBO Mol. Med. 2016. 8. (5). 442–457.
6. Enomoto Y., Kitaura J., Hatakeyama K., Watanuki J., Akasaka T., Kato N. Emu/miR-125b transgenic mice develop lethal B-cell malignancies // Leukemia. 2011. 25. (12). 1849–1856.
7. Flowers C.R., Sinha R., Vose J.M. Improving outcomes for patients with diffuse large B-cell lymphoma // Cancer J. Clin. 2010. 60. 393–408.
8. Krug U., Ganser A., Koeffler H.P. Tumour suppressor genes in normal and malignant hematopoiesis // Oncogene. 2002. 21. 3475–3495.
9. Leroy B., Fournier J.L., Ishioka C., Monti P., Inga A., Fronza G. The TP53 website: an integrative resource centre for the TP53 mutation database and TP53 mutant analysis // Nucl. Acids Res. 2013. 41. D962–D969.
10. Liu Y.Y. PTEN tumor suppressor plays less prognostic role than p53 tumor suppressor in diffuse large B-cell lymphoma // Leuk. Lymph. 2010. 51. (9). 1692–1698.
11. Miyazaki K. Diffuse large B-cell lymphoma: therapeutic development based on clinical and biological heterogeneity // Rinsho Ketsueki. 2015. 56. (10). 2047–2055.
12. Olivier M., Hollstein M., Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use // Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. 2. a001008.
13. Soussi T., Kato S., Levy P.P., Ishioka C. Reassessment of the TP53 mutation database in human disease by data mining with a library of TP53 missense mutation // Hum. Mutat. 2005. 25. 6–17.
14. Stefancikova L. Prognostic impact of p53 aberrations for R-CHOP-treated patients with diffuse large B-cell lymphoma // Int. J. Oncol. 2011. 39. 1413–1420.
15. Sturm I. Mutation of p53 and consecutive selective drug resistance in B-CLL occurs as a consequence of prior DNA-damaging chemotherapy // Cell Death Differ. 2003. 10. (4). 477–484.
16. Tamimi Y. The p53 mutation/deletion profile in a small cohort of the Omani population with diffuse large B-cell lymphoma // Sultan Qaboos Univ. Med. J. 2014. 14. (1). 50–58.
17. Van de Schans S.A. Improving relative survival, but large remaining differences in survival for non-Hodgkin's lymphoma across Europe and the United States from 1990 to 2004 // J. Clin. Oncol. 2011. 29. (2). 192–199.
18. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. Frequency, spectrum, and functional significance of TP53 mutations in patients with diffuse large B-cell lymphoma // Mol. Biol. (Mosc.). 2017. 51. (1). 53–60.
19. Xu-Monette Z.Y. Mutational profile and prognostic significance of TP53 in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP: report from an International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study // Blood. 2012. 120. 3986–3996.
20. Xu-Monette Z.Y., Medeiros L.J., Li Y., Orłowski R.Z., Andreeff M., Bueso-Ramos C.E. Dysfunction of the TP53 tumor suppressor gene in lymphoid malignancies // Blood. 2012. 119. (16). 3668–3683.
21. Young K.H., Leroy K., Møller M.B., Colleoni G.W., Sánchez-Beato M., Kerbauy F.R., Haioun C. Structural profiles of TP53 gene mutations predict clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma: an international collaborative study // Blood. 2008. 112. (8). 3088–98.
22. Zhang M., Heldin A., Palomar-Siles M., Öhlin S., Bykov V.J.N., Wiman K.G. Synergistic rescue of nonsense mutant tumor suppressor p53 by combination treatment with aminoglycosides and Mdm2 inhibitors // Front. Oncol. 2018. 7. 323.

## **CLINICAL SIGNIFICANCE OF THE *TP53* MUTATION STATUS IN DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA**

**Elena Nikolaevna VOROPAeva<sup>1</sup>, Tatyana Ivanovna POSPELOVA<sup>2</sup>,  
Mikhail Ivanovich VOEVODA<sup>1</sup>, Vladimir Nikolaevich MAKSIMOV<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Research Institute of Internal and Preventive Medicine –  
Branch of Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS  
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

<sup>2</sup> *State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

---

**Objective:** to reveal the clinical significance of the mutation status of the *TP53* gene in the group of receiving rituximab therapy patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) in Novosibirsk. **Material and methods.** A total of 74 patients with DLBCL, who have been hospitalized at the City Hematology Center in Novosibirsk for the period 2012–2015, were examined. All patients received therapy with rituximab. The nucleotide sequence of the coding region of the *TP53* gene (exons 5–10) and adjacent regions of introns was analyzed by the Sanger direct capillary sequencing. Functional analysis of the revealed mutations was carried out. The results of the patients' therapy were evaluated. **Results and discussion.** For the first time, it has been revealed in the course of the study of Russian patients with DLBCL setting that *TP53* mutation status is associated with the greater incidence of B-symptoms, splenomegaly, leukemia of the lymphoma, and poor prognostic groups according to the International Prognostic Index. A tendency toward a greater frequency of achieving complete clinical and hematologic remission during the therapy was revealed in the subgroup of patients with DLBCL having a canonical sequence of a gene or a mutation in *TP53* with an unproven oncogenic potential. Patients with functionally significant *TP53* mutations had a lower overall survival rates. **Conclusion.** For this reason, hopefully therapeutic approaches aimed at the inactivated pathway of *TP53* can further improve clinical outcomes in DLBCL.

---

**Key words:** gene *TP53*, mutations, diffuse large B-cell lymphoma, rituximab, prognosis, target therapy.

*Voropaeva E.N. – doctor of medical sciences, senior researcher of laboratory of molecular genetic studies of therapeutic diseases, e-mail: vena.81@mail.ru.*

*Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, vice rector on scientific work, head of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post\_gem@mail.ru*

*Voevoda M.I. – doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, director, e-mail: office@iimed.ru*

*Maksimov V.N. – doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of molecular genetic studies of therapeutic diseases, e-mail: medik11@mail.ru*



## КАЧЕСТВО ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ С МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

**Игорь Леонидович ДАВЫДКИН, Наталья Сергеевна ПОПЕЛЬНИЮК, Ксения Викторовна НАУМОВА, Елизавета Владимировна МОРДВИНОВА, Татьяна Юрьевна СТЕПАНОВА, Светлана Петровна КРИВОВА, Анастасия Александровна РОГОЗИНА, Татьяна Павловна КУЗЬМИНА**

*Самарский государственный медицинский университет Минздрава России  
443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89*

Новой эрой в онкогематологии стало использование таргетных препаратов, показывающих высокую эффективность и повышающих продолжительность жизни пациентов, приближая ее к средней по популяции. В связи с данной тенденцией актуальным становится изучение вопросов качества жизни пациентов и влияющих на него факторов. Нами выполнен анализ современных данных зарубежной и отечественной литературы по вопросам, касающимся качества жизни пациентов с миелопролиферативными заболеваниями, основных причин его изменения и показателей, отражающих данное явление. Изложена основная информация о заболеваниях, в основе которых лежит гиперплазия миелоидного ростка кроветворения. Указаны патофизиологические и клинические особенности данных патологий системы крови. Отражены первостепенные факторы, влияющие на качество жизни пациентов с миелопролиферативными заболеваниями. На примере некоторых из них, хронического миелолейкоза и истинной полицитемии, более подробно описаны основные механизмы, приводящие к развитию сердечно-сосудистых и тромботических событий, играющих ключевую роль в формировании качества жизни данной категории пациентов. Кроме того, показана целесообразность поиска новых диагностических подходов к оценке течения миелопролиферативных заболеваний и качества жизни пациентов на фоне современной терапии.

**Ключевые слова:** миелопролиферативное заболевание, хронический миелолейкоз, истинная полицитемия, качество жизни.

Онкогематология – это активно развивающаяся область медицины, в которой с каждым годом появляются новые высокотехнологичные и эффективные методы диагностики и лечения пациентов с патологией системы крови. Современные подходы к терапии онкогематологических заболеваний позволяют добиваться хороших результатов у большей части больных. Новой эрой в онкогематологии стало использование таргетных

препаратов, показывающих высокую эффективность и повышающих продолжительность жизни пациентов, приближая ее к средней по популяции. В связи с данной тенденцией актуальным становится изучение вопросов качества жизни (КЖ) пациентов и влияющих на него факторов. Само понятие КЖ в медицине представляется довольно широким и отражает степень приспособления человека к болезни, возможность выпол-

*Давыдкин И.Л. – д.м.н., проф., проректор по научной и инновационной работе, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: dagi2006@rambler.ru*

*Попельнюк Н.С. – к.м.н., ассистент кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: rambleruse@rambler.ru*

*Наумова К.В. – аспирант кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: senechka.naumova@rambler.ru*

*Мордвинава Е.В. – ординатор кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: liza.mordvinova.94@mail.ru*

*Степанова Т.Ю. – к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: tatiana.stepanova-med@mail.ru*

*Кривова С.П. – к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: spkrsamara@mail.ru*

*Рогозина А.А. – студентка лечебного факультета, e-mail: nastyarogozina2004@gmail.com*

*Кузьмина Т.П. – аспирант кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии, e-mail: tatyana\_kuzmina\_91@bk.ru*

нять привычные функции, соответствующие его социально-экономическому положению [8, 12].

Как отмечает ряд авторов, история изучения КЖ ведет свой отсчет с 1949 г., когда была опубликована статья профессора Колумбийского университета США D.A. Karnovsky на тему: «Клиническая оценка химиотерапии при раке». В ней была поднята проблема оценки психологических и социальных последствий болезни на примере онкологических пациентов. Термин КЖ впервые был использован в 1966 г. в статье J.R. Elkington, в которой было уделено особое внимание гармонии в системе «пациент – врач – общество». В 1977 г. термин «качество жизни» был внесен в «Cumulated Index Medicus» [8]. Рекомендации Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration), разработанные в США в 1985 г., предусматривают необходимость оценки КЖ у пациентов при применении нового препарата для лечения онкопатологии [10]. В 1980–1990-х гг. была отработана методология исследований КЖ при различных нозологиях.

Оценить КЖ представляется возможным с помощью заполнения пациентом специальных опросников, потому что только они позволяют получить полное представление об эмоциональном и психологическом статусе человека [30]. В настоящий момент применяется около 700 различных опросников, как общих, так и специальных, для изучения КЖ пациентов. У онкогематологических пациентов используют опросники, относящиеся к общим: SF-36 (Medical Outcomes Study Short Form-36, краткая форма оценки здоровья по 36 пунктам), PGWBI (Psychological General Well-Being Index, индекс психологического благополучия), SIP (Sickness Impact Profile, профиль влияния заболевания), EQ-5D (European Quality of Life Questionnaire on 5 dimensions, Европейский опросник качества жизни по пяти направлениям); к специальным: FACT-BRM (Functional Assessment of Cancer Therapy – Biologic Response Modifier, функциональная оценка терапии онкологического заболевания модификаторами биологического ответа) [34]. Использование комбинации общего и специального опросников дают более полное описание КЖ больного.

Впервые термин «хронические миелопролиферативные заболевания» описал В. Дамешек в 1951 г. Согласно классификации ВОЗ 2016 г., к миелопролиферативным заболеваниям (МПЗ) относятся хронический миелолейкоз (ХМЛ, BCR-ABL1), истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз и др. [18]. Данная группа заболеваний характеризуется трансформацией полипотентной стволо-

вой кроветворной клетки, пролиферацией одного или нескольких ростков миелопоэза, нарушением в кроветворном микроокружении. Отмечается не только повышенное образование клеток-предшественников, но и сохранение их способности к дифференцировке до зрелых форм. Исходом МПЗ может стать трансформация в острый лейкоз. Каждая нозологическая единица в структуре МПЗ имеет свои особенности, однако им присущи и общие черты, например схожесть клинических и морфологических изменений на разных стадиях (усталость, зуд, потеря аппетита, ночные поты, спленомегалия, боль в животе, боль в костях, потеря веса, микрососудистые осложнения, анемия, фибротические и склеротические изменения костного мозга на поздних стадиях) [41].

В обзоре [45] утомляемость отмечалась у 92,7 % больных МПЗ, бессонница – у 65,4 %, депрессия – у 62,7 %, раннее насыщение пищей – у 61,9 %, трудности с концентрацией внимания – у 61,7 %, онемение – у 61,3 %, апатия – у 60,5 %, половые проблемы – у 57,9 %, головокружение – у 55,2 % и зуд – у 52,6 % пациентов. Тяжесть симптомов у больных МПЗ часто приводит к снижению общего КЖ, в том числе способности участвовать в физических и социальных функциях, а также к ограничениям в повседневной жизни [41]. До 84 % пациентов с МПЗ сообщают о нарушении КЖ, которое определялось по форме оценки симптомов миелопролиферативного новообразования (MPN SAF) [40]. Лечение МПЗ главным образом фокусируется на управлении прогрессией заболевания, а также на поддержании или улучшении КЖ и снижении тяжести симптомов. На сегодняшний день фармакологические подходы являются основой вариантов лечения для пациентов с МПЗ, типичные варианты могут включать фармакотерапию (например, применение аспирина, гидроксимочевины, интерферона, циторедуктивной терапии, андрогенов, кортикостероидов, эритропоэз-стимулирующих агентов, радиоактивного фосфора P<sup>32</sup>, ингибиторов JAK и тирозинкиназы), облучение (например, селезенки) или хирургическое вмешательство (например, спленэктомия, трансплантация стволовых клеток) [21, 41].

Общим в стратегии лечения пациентов с МПЗ является профилактика развития сердечно-сосудистых осложнений, которые занимают одну из лидирующих позиций по причинам инвалидизации и преждевременной смерти и определяют течение и прогноз основного заболевания, а также КЖ больных данной категории.

**Хронический миелолейкоз.** ХМЛ составляет одну пятую часть всех лейкозов, заболеваемость ХМЛ составляет 1,0–1,5 на 100 000 на-

селения [39]. Несмотря на то что выживаемость пациентов с ХМЛ значительно улучшилась с использованием пероральных ингибиторов тирозинкиназы (ИТК), таких как иматиниб, дазатиниб, нилотиниб, терапия ИТК требует регулярного приема препаратов [44]. Современные рекомендации для пациентов с ХМЛ говорят о том, что необходимо продолжать лечение ИТК независимо от результатов глубокого молекулярного ответа [20]. Однако при долгосрочном применении ИТК могут возникать осложнения, что приведет к нерегулярному их применению, это связано с более низким КЖ [47, 49].

Все методы лечения, используемые для долгосрочного лечения пациентов с ХМЛ, связаны с побочными эффектами. Большое внимание уделяется эффектам 3-й (тяжелой) и 4-й (опасной для жизни) степени токсичности, о которых сообщается в клинических испытаниях (на основании общих критериев токсичности Национального института рака), поскольку они могут привести к прекращению приема лекарств, госпитализации или смерти. Тем не менее развитие нежелательных явлений даже 1-й (легкой) или 2-й (умеренной) степеней токсичности у пациентов с ХМЛ требует ежедневного применения ИТК, а также вероятно, что пациенты должны будут жить с этими эффектами в течение лечения. В целом токсичность 1-й степени может быть купирована в результате отдыха пациента, в то время как токсичность 2-й степени ограничивает повседневную деятельность, в частности, приготовление пищи, совершение покупок, использование телефона. Например, диарея 2-й степени проявляется развитием жидкого стула 4–6 раз в день; безусловно, это будет нарушать повседневную жизнь пациента. В исследовании Guerin et al. продемонстрирована корреляция неблагоприятных событий 1–2-й степени с уровнем КЖ, связанным со здоровьем включенных в исследование ENESTnd пациентов ( $n = 846$ ). Даже нежелательные явления 1–2-го класса со стороны желудочно-кишечного тракта, крови и лимфатической системы, опорно-двигательного аппарата, психические расстройства достоверно коррелировали с данными опросников (SF-36, FACT-Leu) пациентов, связанными с КЖ [29].

Особую важность для пациентов, принимающих препарат длительно, имеет соблюдение предписанного режима. Многочисленные исследования продемонстрировали четкую взаимосвязь между приверженностью к лечению и результатами. В тайском исследовании 4-летняя выживаемость у приверженных и не приверженных к терапии пациентов составила соответственно 91 и 72 % [25]. Приверженность в этом исследовании

определялась отношением наличия лекарственного средства к количеству дней, в которые пациент предоставлял рецепт. Neons et al. обнаружили, что только 14,2 % пациентов были полностью привержены к терапии, хотя препаратами ИТК были обеспечены 100 % пациентов [42]. Anderson et al. установили, что 31 % из 124 пациентов с ХМЛ, которым были назначены ИТК, не соблюдали режим приема [17]. В опросе 1133 пациентов из 28 итальянских центров только 4 % сообщили о том, что не принимают назначенную терапию более 4 дней в месяц; 8 % пациентов пропустили дозу из-за забывчивости или ощущения болезни, 4 % чувствовали себя хорошо, поэтому решили пренебречь приемом ИТК [24].

Другим фактором, связанным с приверженностью, является дозирование препарата и диетические требования, связанные с каждым лекарственным средством, что также негативно влияет на прием ИТК. Например, иматиниб следует принимать с большим количеством пищи, нилотиниб – два раза в день на пустой желудок, дазатиниб – запивая полным стаканом воды [32]. КЖ, которое включало умение работать, оценивалось в телефонном опросе 663 пациентов с ХМЛ из реестра Бразильской ассоциации лимфомы и лейкемии. Применение иматиниба ассоциировалось с лучшей работоспособностью по сравнению с химиотерапией ( $p = 0,017$ ) и назначением гидроксимочевины ( $p = 0,001$ ). Это важно, потому что способность работать также связана с более высокими оценками по шкалам FACT-G ( $p < 0,001$ ) и FACT-Leu ( $p < 0,001$ ) [31]. Приблизительно 27 % пациентов с диагнозом ХМЛ моложе 50 лет [33]. Сексуальная функция, фертильность и беременность являются важными компонентами КЖ, связанного со здоровьем, для многих пациентов и их партнеров. Исследования показали увеличение частоты спонтанных аборт и врожденных пороков развития у женщин, которые забеременели при приеме ИТК [19, 43].

При обследовании пациентов из 28 итальянских центров ( $n = 1133$ ) общие оценки КЖ пациентов составили: 21,5 % – «идеальные», 52 % – «хорошие» и 24 % – «справедливые» [24]. Примечательно, что пациенты выражали желание поговорить со своими врачами о тревоге, страхе перед будущим, о психологических проблемах, проблемах на работе, об отношениях и сексуальных проблемах. Однако данный психологический аспект у больных ХМЛ часто игнорируется их лечащими врачами, в результате меньше времени уделяется обсуждению управления побочными эффектами при длительном приеме ИТК, поэтому многие пациенты оказываются неудовлетворенными оказанием медицинской помощи.



В связи с этим имеют смысл более короткие промежутки между посещениями врача [28].

**Истинная полицитемия.** ИП (первичная полицитемия, эритремия, болезнь Вакеза) характеризуется гиперпролиферацией эритроидного, миелоидного и мегакариоцитарного ростков кроветворения, что приводит к гиперволемии, повышению вязкости крови, развитию нарушений процессов микроциркуляции и явлениям гиперметаболизма [11]. ИП относится к редким заболеваниям. Согласно данным Orphanet, ежегодная заболеваемость в мире составляет от 1 на 36000 до 1 на 100 000 населения, а распространенность – 1 на 3300. Показатель заболеваемости в Российской Федерации составляет 0,6–1,7 на 100 000 населения в год. Среди пациентов с ИП чаще встречаются мужчины, чем женщины (1,2 : 1 соответственно). Средний возраст больных составляет 60 лет, однако следует отметить, что у молодых пациентов заболевание протекает тяжелее [4].

В общем анализе крови при ИП отмечается увеличение количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, повышение уровня гемоглобина и гематокрита. Плеторический синдром, который развивается вследствие гиперпродукции эритроцитов, играет важную роль в формировании не только физического, но и эмоционального статуса пациента. Он включает в себя головную боль, головокружение, эритроцианотическую окраску кожи лица, видимых слизистых оболочек, верхней половины туловища, ладоней, ногтевых лож, кожный зуд, усиливающийся после водных процедур, ухудшение зрения [13]. Среди клинических проявлений также следует отметить вторичную артериальную гипертензию (АГ), встречающуюся у 60 % больных, спленомегалию и гепатомегалию (у 75 и 30 % больных соответственно) [1]. В ходе прогрессии заболевания помимо эритроцитоза появляются лейкоцитоз и тромбоцитоз, сопровождающийся при этом и качественными нарушениями тромбоцитов [23]. Данные патологические изменения также усугубляют нарушения процессов микроциркуляции, что в свою очередь приводит к развитию эритромелалгий (покраснений пальцев рук и ног, которые сопровождаются болью и жжением), артериальных и венозных тромбозов, являющихся частой причиной летальных исходов у больных.

ИП приводит к значительному снижению КЖ пациентов. Для ее оценки у больных МПЗ во всем мире используют опросники EORTC QLQ-C30 и MPN-SAF. Согласно результатам опроса, наиболее распространенным симптомом среди данных пациентов является повышенная утомляемость. У пациентов с ИП существенно чаще регистри-

руются слабость, головокружение, кашель, зуд, депрессия и низкое общее КЖ в сравнении с больными эссенциальной тромбоцитемией. Также больные ИП чаще страдают от головной боли и зуда в сравнении с пациентами с первичным миелофиброзом. Стоит отметить, что увеличение возраста существенно коррелирует с низким показателем физической и эмоциональной активности по результатам EORTC QLQ-C30 [16].

Несомненно, сильное влияние на КЖ оказывает такой симптом, как аквагенная чесотка – изнуряющее состояние, наблюдаемое главным образом у пациентов с ИП. Она характеризуется сильным кожным зудом, жжением, покалыванием, возникающими после контакта с водой без видимых изменений кожи. В связи с этим существенно снижается КЖ больных ИП. Хотя аквагенная чесотка описана более 40 лет назад, очень мало известно о патофизиологии и частоте проявления симптомов. Когда с пациентами обсуждается природа их болезни, они часто жалуются на недостаточную терапию именно этого симптома. У пациентов с аквагенной чесоткой значительно чаще, чем без нее, наблюдается бессонница, повышенная утомляемость, снижение аппетита и др. [46].

Прогноз течения ИП в большинстве случаев зависит от осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы, которые являются основной причиной инвалидизации и преждевременной смерти больных [14, 15]. По данным многоцентрового исследования ECLAP, от 30 до 50 % пациентов страдают от тромботических событий, при этом смертность от них составляет от 35 до 45 % [37].

Больные ИП могут сохранять клиническую компенсацию и трудоспособность в течение многих лет. Благодаря успехам современного лечения продолжительность жизни больных ИП приблизилась к популяционной, а кардиоваскулярные осложнения рассматриваются в качестве основных причин инвалидизации и преждевременной смерти, определяющих течение и прогноз основного заболевания. Как и при любом онкологическом заболевании, при ИП риск тромбозов существенно возрастает, согласно триаде Вирхова, одной из патогенетических причин этого являются изменения характеристик потока крови, которые могут послужить триггером для развития тромботических осложнений [6, 35].

Патогенетически в развитие тромбоза при ИП вовлечено несколько факторов: повышение гематокрита, тромбоцитоз, нарушение системы фибринолиза, активация тромбоцитов и лейкоцитов, эндотелиальная дисфункция, различные формы терапии и увеличение в целом вязкости крови



[36]. В проспективном рандомизированном клиническом исследовании СУТО-PV показано, что частота смерти от сердечно-сосудистых и тромботических осложнений у больных при достижении целевого уровня гематокрита менее 45 % в 4 раза ниже, чем у пациентов с гематокритом 45–50 % [38]. В настоящее время стратификация риска развития тромботических событий у пациентов с ИП предназначена для оценки вероятности развития тромбгеморрагических осложнений, а не для оценки выживаемости или риска трансформации заболевания в острый лейкоз или миелофиброз, также вносящих вклад в структуру смертности и инвалидизации [22, 27].

Наличие у больных ИП тромбозов в анамнезе, а также возраст старше 60 лет являются наиболее устойчивыми факторами риска развития тромботических осложнений [48]. В 2014 г. А.Л. Меликян с соавт. [11] предложена стратификация по группам риска тромботических событий при ИП, где не только возраст (старше 60 лет) и наличие тромбозов в анамнезе, но и сердечно-сосудистые факторы риска (АГ, сахарный диабет, избыточная масса тела, малоподвижный образ жизни, курение) являются критериями для отнесения пациентов к одной из следующих категорий: низкий риск (0 факторов риска), промежуточный (1 фактор риска – сердечно-сосудистые заболевания) или высокий (1–2 фактора риска – возраст старше 60 лет и/или тромбозы в анамнезе, независимо от наличия сердечно-сосудистых факторов риска).

Такое заболевание системы крови, как ИП, вполне может рассматриваться в контексте сердечно-сосудистой патологии ввиду частоты развития у данных пациентов различных тромботических осложнений [3]. У больных ИП самым частым проявлением патологии сердечно-сосудистой системы является АГ, встречающаяся в 60–80 % случаев и возникающая на любом этапе заболевания, включая период клинико-гематологической ремиссии [51]. ИП способствует формированию АГ и усугубляет ее течение вследствие развития гемореологических нарушений, увеличения объема циркулирующих эритроцитов, гематокрита, вязкости цельной крови, а также изменений тромбоцитарно-сосудистого звена гемостаза [9]. При этом АГ является независимым фактором риска возникновения тромботических и цереброваскулярных осложнений, что ухудшает прогноз и отягощает течение АГ при ИП, влияя на КЖ пациентов.

Согласно современной концепции медицины в области профилактики и лечения сердечно-сосудистой патологии, изучение факторов риска является наиболее перспективным. АГ остается одной из важнейших причин инсультов, по часто-

те которых Россия занимает одно из первых мест в мире [2]. При АГ в 85 % случаев развиваются сосудистые тромбозы, отмечается повышение общей смертности и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в 2–5 раз [26, 30]. АГ у пациентов с ИП служит отягощающим фактором по риску развития сердечно-сосудистых осложнений. Многие исследователи отмечают высокую распространенность тромбгеморрагических осложнений среди больных ИП, имеющих сопутствующую АГ [5, 7, 37]. Все чаще в работах исследователей [35, 50] делается акцент на поиск и обсуждение новых диагностических подходов при миелопролиферативных заболеваниях, в том числе связанных с риском развития сердечно-сосудистых событий, играющих ключевую роль в формировании КЖ данной категории пациентов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулкадыров К.М., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С. Что нам известно об истинной полицитемии (обзор литературы и собственные данные) // Онкогематология. 2015. 10. (3). 28–42.
2. Власова С.П., Ильченко М.Ю., Казакова Е.Б., Калакутский Л.И., Комарова М.В., Лебедев П.А., Лебедева Е.П., Максимова Л.Н., Соболева Е.В. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертензия / ред. П.А. Лебедев. Самара: Офорт, 2010. 192 с.
3. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. М.: Медицина, 2007. 1144 с.
4. Воробьев А.И., Аль-Ради Л.С., Андреева Н.Е. Рациональная фармакотерапия заболеваний системы крови. М.: Литтерра, 2009. 688 с.
5. Гороховская Г.Н., Хейло Т.С., Мартынов А.И. Микроциркуляция у больных артериальной гипертензией при истинной полицитемии // Междунар. журн. по иммунореабилитации. 2001. 3. (1). 48–49.
6. Давыдкин И.Л., Момот А.П., Зозуля Н.И., Ройтман Е.В. Основы клинической гемостазиологии и гемореологии. Самара: Офорт, 2017. 484 с.
7. Демидова А.В., Волкова М.А. Истинная полицитемия. Клиническая онкогематология. М.: Медицина, 2001. 576 с.
8. Евсина О.В. Качество жизни в медицине – важный показатель состояния здоровья пациента (обзор литературы) // Личность в меняющемся мире: здоровье, адаптация, развитие. 2013. 1. (1). 119–133.
9. Завьялова А.И. Артериальная гипертензия и безболевая ишемия миокарда при истинной полицитемии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2006.

10. Ионова Т.И., Никитина Т.П., Ломаиа Е.Г., Кучма Г.Б., Мачюлайтене Е.Р., Усачёва Е.И., Шнейдер Т.В., Родионова А.Ю., Курбатова К.А. Показатели качества жизни, профиль симптомов и клинический эффект терапии второй линии дазатинибом у больных хроническим миелолейкозом при резистентности или непереносимости предшествующей терапии иматинибом: результаты 2-летнего мониторинга // Онкогематология. 2015. 10. (3). 18–27.
11. Меликян А.Л., Туркина А.Г., Ковригина А.М., Суборцева И.Н., Сударикова А.Б., Соколова М.А., Зарицкий А.Ю., Ломаиа Е.Г., Шуваев В.А., Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Афанасьев Б.В., Морозова Е.В., Байков В.В., Голенков А.К., Иванова В.Л., Капланов К.Д., Поспелова Т.И., Агеева Т.А., Шатохин Ю.В., Савченко В.Г. Клинические рекомендации по диагностике и терапии рН-негативных миелопролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз) (редакция 2016) // Гематология и трансфузиология. 2017. 62. (S1). 25–60.
12. Мясоедова Н.А., Тхостова Э.Б., Белюсов Ю.Б. Оценка качества жизни при различных сердечно-сосудистых заболеваниях // Качеств. клин. практика. 2002. 4. (1). 53–57.
13. Рыбас А.В. Истинная полицитемия // Вестн. мол. ученых. 2016. (3). 19–25.
14. Тюкина Ю.В., Лодыгина Т.И. Частота сосудистых осложнений при истинной полицитемии // Бюл. СГМУ. 2011. (1). 141–142.
15. Шихбабаева Д.И., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С., Абдулкадыров К.М., Зотова И.И., Удальева В.Ю., Фоминых М.С., Замотина Т.Б., Полушкина Л.Б. Собственный опыт наблюдения и лечения больных истинной полицитемией // Вестн. гематологии. 2015. 11. (4). 13–20.
16. Abelson J., Andréasson B., Samuelsson J., Hultcrantz M., Ejerblad E., Johansson B., Emanuel R., Mesa R., Johansson P. Patients with polycythemia vera have worst impairment of quality of life among patients with newly diagnosed myeloproliferative neoplasms // *Leuk. Lymphoma*. 2013. 54. (10). 2226–2230.
17. Anderson K.R., Chambers C.R., Lam N., Yau P.S., Cusano F., Savoie M.L., Sheikh N. Medication adherence among adults prescribed imatinib, dasatinib, or nilotinib for the treatment of chronic myeloid leukemia // *J. Oncol. Pharm. Pract.* 2015. 21. (1). 19–25.
18. Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M.J., Le Beau M.M., Bloomfield C.D., Cazzola M., Vardiman J.W. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia // *Blood*. 2016. 127. (20). 2391–2405.
19. Ault P., Kantarjian H., O'Brien S., Faderl S., Beran M., Rios M.B., Koller C., Giles F., Keating M., Talpaz M., Cortes J. Pregnancy among patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib // *J. Clin. Oncol.* 2006. 24. (7). 1204–1208.
20. Vaccarani M., Deininger M.W., Rosti G., Hochhaus A., Soverini S., Apperley J.F., Cervantes F., Clark R.C., Cortes J.E., Guilhot F., Hjorth-Hansen H., Hughes T.P., Kantarjian H.P., Dong-Wook Kim, Larson R.A., Lipton J.H., François-Xavier Mahon, Martinelli G., Mayer J., Müller M.C., Niederwieser D., Pane F., Radich J.P., Rousselot P., Saglio G., Saufle S., Schiffer C., Silver R., Simonsson B., Steegmann J., Goldman J.M., Hehlmann R. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013 // *Blood*. 2013. 122. (6). 872–884.
21. Barbui T., Barosi G., Birgegard G., Cervantes F., Finazzi G., Griesshammer M., Harrison C., Hasselbalch H.C., Hehlmann R., Hoffman R., Kiladjan J., Kröger N., Mesa R., McMullin M.F., Pardani A., Passamonti F., Vannucchi A.M., Reiter A., Silver R.T., Verstovsek S., Tefferi A. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet // *J. Clin. Oncol.* 2011. 29. (6). 761–770.
22. Barbui T., Finazzi G., Carobbio A., Thiele J., Passamonti F., Rumi E., Ruggeri M., Rodeghiero F., Randi M.L., Bertozzi I., Gisslinger H., Buxhofer-Ausch V., Stefano V., Betti S., Rambaldi A., Vannucchi A.M., Tefferi A. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis) // *Blood*. 2012. 120. (26). 5128–5133.
23. Barosi G., Mesa R., Finazzi G., Harrison C., Kiladjan J.J., Lengfelder E., McMullin M.F., Passamonti F., Vannucchi A.M., Besses C., Gisslinger H., Samuelsson J., Verstovsek S., Hoffman R., Pardani A., Cervantes F., Tefferi A., Barbui T. Revised response criteria for polycythemia vera and essential thrombocythemia: an ELN and IWG-MRT consensus project // *Blood*. 2013. 121. (23). 4778–4781.
24. Breccia M., Efficace F., Sica S., Abruzzese E., Cedrone M., Turri D., Gobbi M., Carella A.M., Gozzini A., Usala E., Cavazzini F., Danise P., Tiribelli M., Binotto G., Pregno P., Bocchia M., Gaidano G., Crugnola M., Bonifacio M., Avanzini P., Celesti F., Guella A., Martino B., Annunziata M., Luciano L., Stagno F., Vallisa D., Pungolino E., Iurlo A., Rambaldi A., Nardiello I., Orlandi E., Gambacorti-Passerini C., Alimena G. Adherence and future discontinuation of tyrosine kinase inhibitors in chronic phase chronic myeloid leukemia. A patient-based survey on 1133 patients // *Leuk. Res.* 2015. 39. (10). 1055–1059.
25. Chen T.C., Chen L.C., Huang Y.B., Chang C.S. Imatinib adherence associated clinical outcomes of chronic myeloid leukaemia treatment in Taiwan // *Int. J. Clin. Pharm.* 2014. 36. (1). 172–181.
26. Clark C.E., Taylor R.S., Shore A.C., Ukoumunne O.C., Campbell J.L. Association of a difference in systolic blood pressure between arms with vascular

disease and mortality: a systematic review and meta-analysis // *Lancet*. 2012. 379. (9819). 905–916.

27. *Finazzi G., Barbui T.* Evidence and expertise in the management of polycythemia vera and essential thrombocythemia // *Leukemia*. 2008. 22. (8). 1494–1502.

28. *Flynn K.E., Atallah E.* Quality of life and long term therapy in patients with chronic myeloid leukemia // *Curr. Hematol. Malig. Rep.* 2016. 11. (2). 80–85.

29. *Guerin A., Chen L., Ionescu-Ittu R., Marynchenko M., Nitulescu R., Hiscock R., Keir C., Wu E.Q.* Impact of low-grade adverse events on health-related quality of life in adult patients receiving imatinib or nilotinib for newly diagnosed Philadelphia chromosome positive chronic myelogenous leukemia in chronic phase // *Curr. Med. Res. Opin.* 2014. 30. (11). 2317–2328.

30. Guidance for industry: patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims: draft guidance // *Health Qual. Life Outcomes*. 2006. 4. 79.

31. *Hamerschlak N., de Souza C., Cornacchioni A.L., Pasquini R., Tabak D., Spector N., Steagall M.* Quality of life of chronic myeloid leukemia patients in Brazil: ability to work as a key factor // *Support. Care Cancer*. 2014. 22. (8). 2113–2118.

32. *Hirji I., Gupta S., Goren A., Chirovsky D.R., Moadel A.B., Olavarria E., Victor T.W., Davis C.C.* Chronic myeloid leukemia (CML): association of treatment satisfaction, negative medication experience and treatment restrictions with health outcomes, from the patient's perspective // *Health Qual. Life Outcomes*. 2013. 11. (1). 167.

33. *Höglund M., Sandin F., Hellström K., Björman M., Björkholm M., Brune M., Dreimane A., Ekblom M., Lehmann S., Ljungman P., Malm C., Markevörn B., Myhr-Eriksson K., Ohm L., Olsson-Strömberg U., Sjölander A., Wadenvik H., Simonsson B., Stenke L., Richter J.* Tyrosine kinase inhibitor usage, treatment outcome, and prognostic scores in CML: report from the population-based Swedish CML registry // *Blood*. 2013. 122. (7). 1284–1292.

34. *Ionova T., Nikitina T., Lomaia E., Kuchma G., Machyulaytene E., Usacheva E., Shnaider T., Rodionova A., Kurbatova K.* Quality of life and symptom profile in patients with Imatinib-resistant or intolerant chronic myeloid leukemia // *Haematologica*. 2012. 97. (1). 249.

35. *Kolesnikova I., Roitman E., Roumyantsev S., Ershova L., Roumiantseva J.* Hemorheologic disturbances is venous thromboembolism risk factor in children with acute lymphoblastic leukemia (pilot study) // *Thromb. Res.* 2014. 133. (S3). 35–123.

36. *Kwaan H.C.* Hyperviscosity in polycythemia vera and other red cell abnormalities // *Semin. Thromb. Hemost.* 2003. 29. (5). 451–458.

37. *Landoli R., Gennaro L., Barbui T., Stefano V., Finazzi G., Marfisi R.M., Tognoni G., Marchioli R.*

Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera // *Blood*. 2007. 109. (6). 2446–2452.

38. *Marchioli R., Finazzi G., Specchia G., Arianna Masciulli A., Mennitto M.R., Barbui T.* The CYTO-PV: a large-scale trial testing the intensity of CYTOreductive therapy to prevent cardiovascular events in patients with polycythemia vera // *Thrombosis*. 2011. 2011. (1). 1–9.

39. *Mauro M.J., Davis C., Zyczynski T., Khoury H.J.* The role of observational studies in optimizing the clinical management of chronic myeloid leukemia // *Ther. Adv. Hematol.* 2015. 6. (1). 3–14.

40. *Mesa R.A., Niblack J., Wadleigh M., Verstovsek S., Camoriano J., Barnes S., Tan A.D., Atherton P.J., Sloan J.A., Tefferi A.* The burden of fatigue and quality of life in myeloproliferative disorders (MPDs) // *Cancer*. 2007. 109. (1). 68–76.

41. *Mesa R.A., Scherber R.M., Geyer H.L.* Reducing symptom burden in patients with myeloproliferative neoplasms in the era of Janus kinase inhibitors // *Leuk. Lymphoma*. 2015. 56. (7). 1989–1999.

42. *Noens L., van Lierde M.A., de Bock R., Verhoef G., Zachee P., Berneman Z., Martiat P., Mineur P., van Eygen K., MacDonald K., de Geest S., Albrecht T., Abraham I.* Prevalence, determinants, and outcomes of nonadherence to imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia: the ADAGIO study // *Blood*. 2009. 113. (22). 5401–5411.

43. *Pye S.M., Cortes J., Ault P., Hatfield A., Kantarjian H., Pilot R., Rosti G., Apperley J.F.* The effects of imatinib on pregnancy outcome // *Blood*. 2008. 111. (12). 5505–5508.

44. *Saussele S., Krauss M.P., Hehlmann R., Lauseker M., Proetel U., Kalmanti L., Hanfstein B., Fabarius A., Kraemer D., Berdel W.E., Bentz M., Staib P., de Wit M., Wernli M., Zettl F., Hebart H.F., Hahn M., Heymanns J., Schmidt-Wolf I., Schmitz N., Eckart M.J., Gassmann W., Bartholomäus A., Pezzutto A., Leibundgut E.O., Heim D., Krause S.W., Burchert A., Hofmann W.K., Hasford J., Hochhaus A., Pffirmann M., Müller M.C.* Impact of comorbidities on overall survival in patients with chronic myeloid leukemia: Results of the randomized CML study IV // *Blood*. 2015. 126. (1). 42–49.

45. *Scherber R., Dueck A.C., Johansson P., Barbui T., Barosi G., Vannucchi A.M., Passamonti F., Andreasson B., Ferarri M.L., Rambaldi A., Samuelsson J., Birgegard G., Tefferi A., Harrison C.N., Radia D., Mesa R.A.* The myeloproliferative neoplasm symptom assessment form (MPN-SAF): international prospective validation and reliability trial in 402 patients // *Blood*. 2011. 118. (2). 401–408.

46. *Siegel F.P., Tauscher J., Petrides P.E.* Aquagenic pruritus in polycythemia vera: Characteristics and influence on quality of life in 441 patients // *Am. J. Hematol.* 2013. 88. (8). 665–669.



47. Smith B.D. Imatinib for chronic myeloid leukemia: the impact of its effectiveness and long-term side effects // J. Natl. Cancer Inst. 2011. 103. (7). 527–529.
48. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management // Am. J. Hematol. 2012. 87. (3). 285–293.
49. Unnikrishnan R., Veeraiah S., Mani S., Rajendranath R., Rajaraman S., Vidhubala Elangovan G.S., Radhakrishnan V., Ganesan T.S., Sagar T.G., Ganesan P. Comprehensive evaluation of adherence to therapy, its associations, and its implications in patients with chronic myeloid leukemia receiving imatinib // Clin. Lymphoma Myeloma Leuk. 2016. 16. (6). 366–371.
50. Vayá A., Suescun M. Hemorheological parameters as independent predictors of venous thromboembolism // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013. 53. (1-2). 131–141.
51. Venegoni P., Cyprus G. Polycythemia and the heart. A review // Tex. Heart Inst. J. 1994. 21. (1). 198–201.

## QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS (REVIEW)

Igor Leonidovich DAVYDKIN, Natalya Sergeevna POPELNYUK,  
Kseniya Viktorovna NAUMOVA, Elizaveta Vladimirovna MORDVINOVA,  
Tatyana Yurevna STEPANOVA, Svetlana Petrovna KRIVOVA,  
Anastasiya Aleksandrovna ROGOZINA, Tatyana Pavlovna KUZMINA

Samara State Medical University of Minzdrav of Russia  
443099, Samara, Chapayevskaya str., 89

The target drugs use showed high efficiency and raised the patients' life expectancy approaching it to average on population and became the new era in hematooncology. Given the current tendency, the investigation of problems of patients' quality of life and the affecting factors is actual. We have analyzed the modern foreign and domestic literature data concerning the quality of life of patients with myeloproliferative diseases and their variation principal causes and parameters reflecting the phenomenon. Also, we state the basic information on diseases where the myeloid lineage hyperplasia is the root cause. The pathophysiological and clinical features of the blood system pathologies are specified. The high-priority factors influencing quality of life of patients with myeloproliferative diseases are highlighted. The basic mechanisms of cardiovascular and thrombotic events development, playing a key role in the patients quality of life forming are in more detail described on the example of chronic myeloid leukemia and polycythemia vera. Moreover, the expediency of search of new diagnostic approaches to the assessment of myeloproliferative diseases course and the patients' quality of life on a background of modern therapy have been shown.

**Key words:** myeloproliferative disease, chronic myeloid leukemia, polycythemia vera, quality of life.

**Davydkin I.L.** – doctor of medical sciences, professor, vice rector for research and innovation technology, head of the chair of hospital therapy with courses of outpatient therapy and transfusiology, e-mail: [dagi2006@rambler.ru](mailto:dagi2006@rambler.ru)

**Popelnyuk N.S.** – candidate of medical sciences, assistant of the chair of hospital therapy with courses of outpatient therapy and transfusiology, e-mail: [rambleruse@rambler.ru](mailto:rambleruse@rambler.ru)

**Naumova K.V.** – postgraduate student of the chair of hospital therapy with courses of outpatient therapy and transfusiology, e-mail: [senechka.naumova@rambler.ru](mailto:senechka.naumova@rambler.ru)

**Mordvinova E.V.** – medical resident of the chair of hospital therapy with courses of outpatient therapy and transfusiology, e-mail: [liza.mordvinova.94@mail.ru](mailto:liza.mordvinova.94@mail.ru)

**Stepanova T.Yu.** – candidate of medical sciences, associate professor of the chair of hospital therapy with courses of outpatient therapy and transfusiology, e-mail: [tatiana.stepanova-med@mail.ru](mailto:tatiana.stepanova-med@mail.ru)

**Krivova S.P.** – candidate of medical sciences, associate professor of the chair of hospital therapy with courses of outpatient therapy and transfusiology, e-mail: [spkrsamara@mail.ru](mailto:spkrsamara@mail.ru)

**Rogozina A.A.** – student of department of general medicine, e-mail: [nastyarogozina2004@gmail.com](mailto:nastyarogozina2004@gmail.com)

**Kuzmina T.P.** – medical resident, e-mail: [tatyana\\_kuzmina\\_91@bk.ru](mailto:tatyana_kuzmina_91@bk.ru)



## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Расиля Рахимьяновна БАШАРОВА<sup>1</sup>, Мехти Магомедович АГАКИШИЕВ<sup>2</sup>,  
Ольга Валерьевна БЕРЕЗИНА<sup>1</sup>, Игорь Борисович КОВЫНЕВ<sup>1</sup>,  
Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

<sup>2</sup> Городской гематологический центр  
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 2

Представлены данные собственных исследований экспрессии регуляторных молекул микроРНК miR-155 и miR-223 в клетках костного мозга и периферической крови больных хроническим лимфоидным лейкозом (ХЛЛ) на различных этапах опухолевой прогрессии. Методом высокочувствительной ПЦР микроРНК определялись в разных субстратах периферической крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костном мозге у больных ХЛЛ. Показатели экспрессии соотносились с клиническими данными и эффективностью стандартной терапии. Отмечено, что повышение экспрессии miR-155 и снижение экспрессии miR-223 ассоциированы с неблагоприятным прогнозом, резистентностью к терапии и высокими темпами опухолевой прогрессии ХЛЛ. Гиперэкспрессия miR-155 во всех исследуемых субстратах крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костном мозге и снижение экспрессии miR-223 в лимфоцитах, костном мозге и плазме были статистически значимо ассоциированы со стадиями ХЛЛ по J. Binet. Пациенты, имеющие низкий уровень miR-223 в костном мозге, внеклеточных везикулах и плазме и высокое содержание miR-155 до начала лечения, не достигали оптимального ответа на терапию.

**Ключевые слова:** miR-155, miR-223, хронический лимфоидный лейкоз, опухолевая прогрессия лимфом.

В последние годы большой интерес вызывает роль микроРНК в различных патологических процессах. К настоящему времени хорошо известно, что микроРНК участвуют во многих внутриклеточных процессах, включая дифференцировку, пролиферацию, регуляцию клеточного цикла и апоптоз, – механизмах, которые нарушаются при опухолевых заболеваниях человека. Их основная функция – регулирование экспрессии генов, продукты которых могут выступать в роли внеклеточных биологических сигнальных молекул, контролирующих взаимодействие между опухолью и окружающей ее средой. Учитывая это взаимодействие, микроРНК можно представить в качестве кандидатов для диагностики хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) [13]; так, микроРНК

принимают участие в регуляции гомеостаза, определяя способность клеток к пролиферации либо апоптозу, дифференцировке либо сохранению плюрипотентности. Особое внимание уделяется изучению роли микроРНК в стимуляции неоангиогенеза и иммуносупрессии – процессах, которые могут привести к прогрессии опухоли. В ряде случаев микроРНК можно выделить из биологических жидкостей, что позволяет проводить малоинвазивный мониторинг.

ХЛЛ является первым описанным примером участия микроРНК в развитии злокачественной опухоли [19]. Изучение роли микроРНК в патогенезе ХЛЛ началось с открытия кластера *miR-15a/16-1* на хромосоме 13q14, которая часто подвергается делеции при ХЛЛ. Это показало, что

**Башарова Р.Р.** – клинический ординатор кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
e-mail: post\_gem@mail.ru

**Агакишиев М.М.** – врач-гематолог отделения гематологии, e-mail: m\_agakishiev@mail.ru

**Березина О.В.** – м.н.с., ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
e-mail: post\_gem@mail.ru

**Ковынев И.Б.** – д.м.н., доцент, проф. кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
e-mail: kovin\_gem@mail.ru

**Поспелова Т.И.** – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
e-mail: post\_gem@mail.ru

микроРНК могут выступать в качестве опухолевого супрессора, и впервые продемонстрировало их непосредственную роль в патогенезе неоплазий. Дeregулирование экспрессии микроРНК отмечено при гематологических злокачественных новообразованиях и многих других типах опухолей [9].

Настоящее исследование посвящено анализу экспрессии miR-155 и miR-223 у больных ХЛЛ. По данным литературы, исследование уровня микроРНК в плазме до начала лечения может помочь в прогнозировании ответа на терапию. Так, K. Vargova показала, что уровень miR-155 значительно выше у пациентов с ХЛЛ, которые не достигают полной ремиссии по сравнению с теми, кто достиг полного ответа на лечение [17]. Содержание циркулирующих микроРНК, обнаруженных в плазме крови больных ХЛЛ, почти на треть выше, чем у здоровых доноров [19].

MiR-155 является многофункциональной микроРНК, которая участвует в физиологических и патологических клеточных процессах. В норме miR-155 влияет на гемопоэтические стволовые клетки, регулируя их дальнейшее созревание на ранних стадиях миелоидной и лимфоидной дифференцировки. Гиперэкспрессия miR-155 ассоциируется с плохим прогнозом при многих типах неоплазий. Кроме того, miR-155 участвует в формировании химиорезистентности опухоли [4, 14]. При прогрессировании заболевания ее содержание увеличивается по мере трансформации нормальных В-клеток в направлении к моноклональному В-клеточному лимфоцитозу и к ХЛЛ [10]. В опытах на трансгенных мышах гиперэкспрессия miR-155 в В-клетках ассоциировалась с прелейкемической фазой пролиферации В-лимфом, что может указывать на ее способность индуцировать поликлональную активацию и пролиферацию. Предположительно miR-155 непосредственно участвует в инициации и прогрессировании В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний [11]. Кроме того, miR-155 снижает экспрессию гена инозитол-5-фосфатазы-1, содержащей домен SH2 (SHIP1), повышая тем самым чувствительность В-клеток к стимуляции через сигнальные пути, зависящие от рецептора к антигену В-клеток (BCR). Т-клетки или вспомогательные клетки лимфоидной ткани могут увеличивать экспрессию miR-155, стимулируя BCR через взаимодействие CD154/CD40 или BAFF/APRI. Передача сигналов с помощью BCR-пути играет важную роль в патогенезе ХЛЛ и выживании опухолевых клеток [18].

MiR-223 – это распространенная опухоль-ассоциированная микроРНК, нарушение экспрессии которой наблюдается при различных опу-

холях человека, таких как гепатоцеллюлярная карцинома, колоректальная карцинома, остеосаркома, рак желудка, хронический лимфолейкоз [6]. Факты повышения экспрессии miR-223 опухолевой тканью подтвердили ее важное место в развитии неоплазий. Показано, что циркулирующая miR-223 связана с процессом метастазирования, в связи с чем возможно ее использование в качестве прогностического фактора [20].

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

При выполнении работы использовали образцы периферической крови и костного мозга 35 пациентов с ХЛЛ (19 мужчин и 16 женщин, средний возраст  $63,37 \pm 8,67$  года (46–79 лет)), которые наблюдались в Городском гематологическом центре и проходили лечение в отделении Городской клинической больницы № 2 с 2016 по 2018 г. Больные были обследованы до начала курсов полихимиотерапии. Диагностика ХЛЛ и показания к началу терапии определялись в соответствии с международными критериями IWCLL 2008 г. и Российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний [2, 8]. Стадия заболевания определялась согласно классификации J.L. Binet et al. [3], 19 (54 %) человек имели стадию В, 10 (29 %) – стадию А, 6 (17 %) – стадию С.

Все пациенты были разделены на две группы: в группу с показаниями к терапии вошел 21 человек, в группу без показаний к терапии – 14. В первой группе шесть пациентов достигли полного ответа, у восьми человек наблюдался частичный ответ на терапию, четверо достигли стабилизации состояния после проведенной терапии, у троих не достигнуто ответа на терапию и было зафиксировано прогрессирование заболевания. У больных с показаниями к терапии была произведена оценка прогноза на основании выявленных генетических аномалий при стандартном цитогенетическом и молекулярно-генетическом (FISH) исследованиях. К подгруппе нейтрального прогноза отнесены пациенты с трисомией 12-й хромосомы, нормальным кариотипом или генетическими аномалиями неопределенного значения – 11 человек (52,4 %), в подгруппу неблагоприятного прогноза вошли 10 больных (47,6 %) с делецией 11q и делецией 17p. Пациентов с благоприятным прогнозом (делецией 13q) выявлено не было.

Суммарную РНК выделяли из венозной крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костного мозга пациентов с помощью TRIzol Reagent («Thermo Fisher Scientific», США). Экспрессию микроРНК оценивали с помощью ПЦР в реальном времени по принципу TaqMan на обо-

рудовании iCycler CFX96 real-time PCR detection system («Bio-Rad Laboratories», США). Для оценки экспрессии применялся показатель  $\Delta\text{CT}$ . В качестве гена-нормализатора была выбрана малая ядерная РНК U6 [15].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение ( $M$ ), среднеквадратическое отклонение ( $SD$ ) и представляли в виде  $M \pm SD$ . Различия между группами оценивали с помощью критериев Стьюдента и Манна – Уитни, достоверными считались результаты при  $p < 0,05$ . Связь между содержанием микроРНК в разных группах определяли с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена ( $r$ ).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наибольшая экспрессия miR-155 отмечена в костном мозге, в то время как miR-223 – во внеклеточных везикулах, однако различия между субстратами не достигли уровня статистической значимости. Наиболее стабильное выделение и детекция РНК достигнуты из плазмы, лимфоцитов и костного мозга, что обусловлено большим объемом материала, в то время как во внеклеточных везикулах реакция прошла лишь у половины

больных в связи с маленьким объемом субстрата и невозможностью проведения повторного выделения.

Различия между содержанием miR-223 и miR-155 в разных субстратах не достигли уровня статистической значимости (таблица). В общей группе пациентов наблюдается прямая корреляционная связь средней силы между экспрессией miR-155 ( $r = 0,43$ ;  $p < 0,04$ ) и miR-223 ( $r = 0,63$ ;  $p < 0,02$ ) в плазме и лимфоцитах крови, а также экспрессией miR-155 ( $r = 0,51$ ;  $p < 0,01$ ) в костном мозге и внеклеточных везикулах. При ХЛЛ в периферической крови значительно возрастает содержание лимфоцитов, соответственно увеличивается и уровень микроРНК в плазме крови [7].

В группе неблагоприятного прогноза уровень miR-155 во всех исследуемых субстратах был значительно выше, чем в группе нейтрального прогноза (см. таблицу). И наибольшего значения экспрессия достигает в костном мозге и лимфоцитах, что связано с большим объемом опухолевой массы у таких пациентов. Полученные данные согласуются с результатами зарубежных исследований, в которых показана взаимосвязь между высоким уровнем miR-155 и прогрессированием ХЛЛ [5]. Содержание miR-223 не достигает таких высоких значений, различия в зависимости от субстрата статистически не значимы

Таблица

Экспрессия miR-223 и miR-155 в образцах периферической крови и костного мозга пациентов с ХЛЛ

Группа пациентов	Плазма	Лимфоциты	Внеклеточные везикулы	Костный мозг
Экспрессия miR-223				
Все пациенты	83,70 ± 29,1	5,10 ± 2,52	125,14 ± 77,19	18,01 ± 4,17
Нейтральный прогноз	0,47 ± 0,31	3,51 ± 1,69	2,31 ± 1,47	4,11 ± 2,83
Неблагоприятный прогноз	1,40 ± 0,62	1,50 ± 0,57	9,65 ± 8,67	4,89 ± 3,15
Стадия А	302,2 ± 172,8	10,21 ± 3,35		4,17 ± 1,77
Стадии В и С	0,40 ± 0,29**	1,13 ± 0,68*		2,95 ± 0,94**
Частичная или полная ремиссия	0,94 ± 0,89		12,11 ± 3,46	65,16 ± 17,36
Отсутствие оптимального ответа на терапию	0,67 ± 0,15 <sup>#</sup>		2,30 ± 1,03 <sup>##</sup>	15,06 ± 4,21 <sup>##</sup>
Экспрессия miR-155				
Все пациенты	2246,6 ± 11823,2	3872,1 ± 9384,2	3940,5 ± 13376,6	5117,6 ± 15665,1
Нейтральный прогноз	802,5 ± 1189,3	1182,7 ± 806,5	387,8 ± 152,5	391,1 ± 318,3
Неблагоприятный прогноз	7677,8 ± 21096,2	5819,4 ± 1724,5	1776,3 ± 625,6	11924,01 ± 26352,5
Стадия А	114,5 ± 236,6	3846,3 ± 4959,01		125,7 ± 174,5
Стадии В и С	521,1 ± 1429,2**	8508,4 ± 2530,8*		21846,0 ± 15171,2**
Частичная или полная ремиссия	7872,9 ± 23834,8		369,9 ± 225,5	1033,4 ± 1897,3
Отсутствие оптимального ответа на терапию	920,6 ± 1929,1 <sup>#</sup>		2239,3 ± 413,3 <sup>##</sup>	11736,6 ± 220622,3 <sup>##</sup>

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей пациентов со стадией А (\* – при  $p < 0,05$ , \*\* – при  $p < 0,01$ ) и достигших частичной или полной ремиссии (<sup>#</sup> – при  $p < 0,05$ , <sup>##</sup> – при  $p < 0,01$ ).

(см. таблицу). Данных о роли miR-223 при ХЛЛ не так много. Известно, что при прогрессировании ХЛЛ ее экспрессия не изменяется, а в некоторых случаях – снижается.

Вышесказанное подтверждает проведенный анализ уровней экспрессии микроРНК в группах пациентов в зависимости от стадии заболевания. Стадия заболевания отражает объем опухолевой массы, распространенная стадия (в данном случае В и С) свидетельствует о прогрессии заболевания. Уровень микроРНК-155 в группе больных со стадиями В и С статистически значимо выше, чем у пациентов с начальной стадией А, в то время как miR-223 – напротив, ниже (см. таблицу). Разными авторами показано, что при прогрессировании ХЛЛ экспрессия miR-223 не изменяется или уменьшается, так же как и при таких В-клеточных неоплазиях, как лимфома зоны мантии и лимфома маргинальной зоны, что связывают с эпигенетическим «молчанием» генов [16, 21].

Одним из показателей долгосрочного прогноза заболевания является ответ на лечение. Экспрессия miR-223 в биологических субстратах пациентов, не достигавших оптимального ответа на терапию, была меньше, чем у достигших частичной или полной ремиссии (см. таблицу). Полученные данные согласуются с результатами исследований [1,12], в которых показано, что снижение уровня miR-223 является маркером неблагоприятного прогноза и резистентности к терапии. В отношении miR-155 картина не была столь единообразной: пациенты, имевшие высокий уровень экспрессии miR-155 в костном мозге до начала терапии, не достигали оптимального ответа, что согласуется с данными литературы, в то же время в их плазме и внеклеточных везикулах содержание miR-155 было меньше, чем в соответствующих субстратах больных, достигших частичной или полной ремиссии (см. таблицу).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

MiR-155 и miR-223 выделены из всех исследуемых субстратов крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костного мозга больных ХЛЛ. Повышение экспрессии miR-155 и снижение экспрессии miR-223 ассоциированы с неблагоприятным прогнозом и прогрессией ХЛЛ. Гиперэкспрессия miR-155 во всех исследуемых субстратах крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костном мозге и снижение экспрессии miR-223 в лимфоцитах, костном мозге и плазме статистически значимо ассоциированы со стадиями ХЛЛ по J. Binet. Пациенты с ХЛЛ, имеющие до начала терапии низкий уро-

вень miR-223 в костном мозге, внеклеточных везикулах и плазме и высокий уровень miR-155, не достигали оптимального ответа на терапию.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при проведении исследования и написании статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кислицина Д.Г., Луговская С.А., Почтарь М.Е., Наумова Е.В., Бидерман Б.Б., Сударинов А.Б., Никитин Е.А., Долгов В.В. Особенности оценки экспрессии Zap-70 в опухолевых клетках при В-клеточном хроническом лимфолейкозе методом проточной иммуноцитофлуориметрии // Клини. лаб. диагностики. 2012. (6). 47–52.
2. Поддубная И.В., Савченко В.Г. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. М.: Буки-Веди, 2016. 324 с.
3. Binet J.L., Leparrier M., Dighiero G., Charron D., D'Athis P., Vauquier G., Beral H.M., Natali J.C., Raphael M., Nizet B., Follezo J.Y. A clinical staging system for chronic lymphocytic leukemia: prognostic significance // Cancer. 1977. 40. (2). 855–864.
4. Calin G.A., Dumitru C.D., Shimizu M., Bichi R., Zupo S., Noch E., Aldler H., Rattan S., Keating M., Rai K., Rassenti L., Kipps T., Negrini M., Bullrich F., Croce C.M. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. 99. (24). 15524–15529.
5. Ferrajoli A., Shanafelt T.D., Ivan C., Shimizu M., Rabe K.G., Nourae N., Ikuo M., Ghosh A.K., Lerner S., Rassenti L.Z., Xiao L., Hu J., Reuben J.M., Calin S., You M.J., Manning J.T., Wierda W.G., Estrov Z., O'Brien S., Kipps T.J., Keating M.J., Kay N.E., Calin G.A. Prognostic value of miR-155 in individuals with monoclonal B-cell lymphocytosis and patients with B chronic lymphocytic leukemia // Blood. 2013. 122. (11). 1891–1899.
6. Gentner B., Pochert N., Rouhi A., Boccalatte F., Plati T., Berq T., Sun S.M., Mah S.M., Mirkovic-Hösle M., Ruschmann J., Muranyi A., Leierseder S., Arqiroopoulos B., Starczynowski D.T., Karsan A., Heuser M., Hogge D., Camargo F.D., Enkelhardt S., Döhner H., Buske C., Jongen-Lavrencic M., Naldini L., Humphries R.K., Kuchenbauer F. MicroRNA-223 dose-levels fine-tune proliferation and differentiation in human cord blood progenitors and acute myeloid leukemia // Exp. Hematol. 2015. 43. (10).
7. Glinge C., Clauss S., Boddum K., Jabbari R., Jabbari J., Risgaard B., Tomsits Ph., Hildebrand B., Käb S., Wakili R., Jespersen Th., Tfelt-Hansen J. Stability of circulating blood-based microRNAs – pre-



analytic methodological considerations // PLoS One. 2017. 1223. 446–452.

8. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D., Caligiaris-Cappio F., Dighiero G., Döhner H., Hillmen P., Keating M.J., Montserrat E., Rai K.R., Kipps T.J. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines // Blood. 2008. 111. (12). 5446–5456.

9. Horschler B.A., Ding X.C., Großhans H. MiRNA Regulation of the Translational Machinery // Progress in Molecular and Subcellular Biology. 2010. 50. 21–4.

10. Jing, Y., Juanmin Z. Correlation of Obesity and Osteoporosis: Effect of Free Fatty Acids on Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell Differentiation // Experimental and Therapeutic Medicine. 2010. 1 (4). 603–610.

11. Li J., Wan Y., Ji Q., Fang Y., Wu Y. The role of microRNAs in B-cell development and function // Cell. Mol. Immunol. 2013. 10. (2). 107–112.

12. Li S., Moffett H.F., Lu J., Werner L., Zhang H., Ritz J., Neuberg D., Wucherpfennig K.W., Brown J.R., Novina C.D. MicroRNA expression profiling identifies activated B cell status in chronic lymphocytic leukemia cells // PLoS One. 2011. 6.

13. O'Connell R.M., Zhao J.L., Rao D.S. MicroRNA function in myeloid biology // Blood. 2011. 118. (11). 2960–2969.

14. Roosbroeck K.V., Calin G.A. MicroRNAs in chronic lymphocytic leukemia: miRacle or miRage for prognosis and targeted therapies? // Semin. Oncol. 2016. 43. (2). 209–214.

15. Schwarzenbach H., da Silva A.M., Calin G., Pantel K. Data normalization strategies for microRNA quantification // Clin. Chem. 2015. 61. (11). 1333–1342.

16. Stamatopoulos B., Meuleman N., Haibe-Kains B., Saussoy P., Neste E.V.D., Michaux L., Heimann P., Martiat Ph., Bron D., Lagneaux L. MicroRNA-29c and MicroRNA-223 down-regulation has *in vivo* significance in chronic lymphocytic leukemia and improves disease risk stratification // Blood. 2016. 113. (21). 5237–5246.

17. Vargova K. The role of oncogenic microRNA-155 and proto-oncogen MYB in chronic lymphocytic leukemia. Prague, 2013. 170 p.

18. Yeh Y.-Y., Ozer H.G., Lehman A.M., Maddocks K., Yu L., Johnson A.J., Byrd J.C. Characterization of CLL Exosomes Reveals a Distinct MicroRNA Signature and Enhanced Secretion by Activation of BCR Signaling // Blood. 2016. 125. (21). 3297–3306.

19. Zhang Y., Lin J., Huang W., Cao Y., Liu Y., Wang T., Zhong W., Wang D., Mao R., Chen X. The effect of circulating miR-223 on surveillance of different cancers: a meta-analysis // Onco Targets Ther. 2017. 10. 3193–3201.

20. Zhou H., Xiao J., Wu N., Liu C., Xu J., Liu F., Wu L. MicroRNA-223 regulates the differentiation and function of intestinal dendritic cells and macrophages by targeting C/EBP $\beta$  // Cell Rep. 2015. 13. (6). 1149–1160.

21. Zhou K., Yi S., Yu Z., Li Z., Wang Y., Zou D., Qi J., Zhao Y., Qiu L. MicroRNA-223 expression is uniformly down-regulated in B cell lymphoproliferative disorders and is associated with poor survival in patients with chronic lymphocytic leukemia // Leuk. Lymphoma. 2012. 53. (6). 1155–1161.

## **EPIGENETIC MECHANISMS OF TUMOR PROGRESSION IN CHRONIC LYMPHOID LEUKEMIA**

**Rasilya Rakhim'yanovna BASHAROVA<sup>1</sup>, Mekhti Magomedovich AGAKISHIEV<sup>2</sup>,  
Ol'ga Valer'yevna BEREZINA<sup>1</sup>, Igor' Borisovich KOVYNEV<sup>1</sup>, Tat'yana Ivanovna POSPELOVA<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

<sup>2</sup> *City Hematological Center  
630051, Novosibirsk, Polzunov str., 21*

---

The data on studies of the expression of microRNA regulatory molecules miR-155 and miR-223 in bone marrow and peripheral blood cells in patients with chronic lymphoid leukemia (CLL) at various stages of the disease progression are presented. The microRNAs were determined by the method of highly sensitive PCR in various peripheral blood substrates (plasma, lymphocytes, extracellular vesicles) and bone marrow in patients with CLL. The expression rates correlated with clinical data and the effectiveness of standard therapy. It is noted that an increase in the miR-155 expression and decrease in the miR-223 expression are associated with poor prognosis, resistance to therapy and high rate of the tumors progression of chronic lymphocytic leukemia. MiR-155 overexpression in all studied blood substrates (plasma, lymphocytes, extracellular vesicles) and bone marrow and decrease in miR-223 expression in lymphocytes, bone marrow and plasma were significantly associated with the stages of chronic lymphocytic leukemia according to J. Binet. The patients with CLL with the miR-223 low level in the bone marrow, extracellular vesicles and plasma and the miR-155 high level before treatment initiation did not achieve an optimal response to the therapy.

---

**Key words:** miR-155, miR-223, chronic lymphoid leukemia, tumor progression of lymphomas.

**Basharova R.R.** – resident of department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post\_gem@mail.ru

**Agakishiev M.M.** – hematologist, e-mail: m\_agakishiev@mail.ru

**Berezina O.V.** – assistant professor of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post\_gem@mail.ru

**Kovynev I.B.** – doctor of medical sciences, associate professor of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: kovin\_gem@mail.ru

**Pospelova T.I.** – doctor of medical sciences, professor, vice rector on scientific work, head of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post\_gem@mail.ru

## ИНФЕКЦИОННАЯ ПАТОЛОГИЯ В ПРАКТИКЕ ВРАЧА-ГЕМАТОЛОГА: ВИСЦЕРАЛЬНЫЙ ЛЕЙШМАНИОЗ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННОГО ПАЦИЕНТА

Юлия Николаевна ОБГОЛЫЦ<sup>1</sup>, Наталья Григорьевна САМОЙЛОВА<sup>2</sup>,  
Светлана Семеновна ФЕДЬ<sup>2</sup>, Светлана Александровна КАРМАНОВСКАЯ<sup>2</sup>,  
Игорь Борисович КОВЫНЕВ<sup>3</sup>, Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Городской гематологический центр  
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 21

<sup>2</sup>Городская клиническая больница № 2  
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 21

<sup>3</sup>Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

Продemonстрирован редкий для Сибири клинический случай висцерального лейшманиоза, ассоциированного с гематологическим и костно-мозговым синдромами, у ВИЧ-инфицированного пациента. Приведена подробная литературная справка по проблеме. Выполнен анализ данных по динамике распространенности лейшманиоза в северных широтах. Освещены особенности эпидемиологии заболевания. Показано повышение частоты встречаемости висцеральных форм зооноза в странах Северного полушария. По данным литературных источников дано описание клинических форм паразитарной инвазии. Изложены современные представления о патогенезе ускользания лейшманий от фагоцитоза. Обозначен алгоритм дифференциального диагноза, приведены критерии диагноза и подходы к терапии. Описаны современные подходы к диагностике и лечению зооноза на фоне ВИЧ-инфекции. Показаны особенности гематологического синдрома в виде трехростковой цитопении в сочетании с генерализованной лимфаденопатией, гепатоспленомегалией и лихорадкой. Уточнено значение исследования костно-мозгового кроветворения при лейшманиозе. Выполнен анализ данных литературы о трансформации современного висцерального лейшманиоза: увеличение числа стертых форм клинического дебюта, повышение длительности латентного периода заболевания до 130–160 дней после трансфекции, возрастание роли факторов иммунодепрессии в клинической манифестации заболевания. Приведены данные об эпидемиологических источниках зооноза – насекомых-переносчиках, условиях заражения, методах профилактики.

**Ключевые слова:** висцеральный лейшманиоз, ВИЧ-инфекция, гематологический синдром, патология костного мозга при паразитарной инфекции.

Главная особенность клинической деятельности врача-гематолога – работа в условиях мультидисциплинарности диагностических задач. Не является исключением и клиника инфекционных болезней. К одному из наиболее опасных заболеваний этой группы, привлекающему к себе в последние годы все более пристальное внимание медицинской науки, относится висцеральный лейшманиоз. В период глобального изменения

климата и развития туристической отрасли, дающей возможность жителям стран умеренного климата позволить себе массовый отдых в тропических уголках планеты, эта коварная паразитарная инфекция стала проникать на территории умеренных и северных широт. Со случаями висцерального лейшманиоза, ранее считавшимися крайней редкостью для Западной Сибири, сегодня сталкиваются не только врачи-инфекцион-

*Обголец Ю.Н.* – врач-гематолог городского гематологического кабинета, e-mail: post\_gem@mail.ru

*Самойлова Н.Г.* – врач-лаборант клиничко-диагностической лаборатории, e-mail: post\_gem@mail.ru

*Федь С.С.* – зав. клиничко-диагностической лабораторией, e-mail: post\_gem@mail.ru

*Кармановская С.А.* – д.м.н., зав. поликлиническим отделением, e-mail: post\_gem@mail.ru

*Ковынев И.Б.* – д.м.н., доцент, проф. кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, e-mail: kovin\_gem@mail.ru

*Поспелова Т.И.* – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, e-mail: post\_gem@mail.ru

сты, но и ревматологи, онкологи и гематологи [4]. Свообразным триггером этого процесса явилось распространение ВИЧ-инфекции, в условиях которой паразитарная инвазия нередко развивается латентно и дает неожиданные рецидивы после длительного периода персистенции в организме ранее инфицированного пациента.

Цель, которую преследовали авторы данной публикации, – напомнить врачам-гематологам о возможных клинических масках висцерального лейшманиоза (кала-азар), особенностях гематологического синдрома при этой паразитарной инвазии и поделиться собственным опытом диагностики на примере клинического случая из практики амбулаторной службы Городского гематологического центра г. Новосибирска.

**Литературная справка по проблеме.** Лейшманиоз представляет собой хроническое инфекционное заболевание, вызванное простейшими паразитами рода *Leishmania* (подроды *Leishmania* и *Viannia*) [11]. Распространяются паразиты обычно через укусы ночных насекомых из рода *Phlebotomus* spp. или *Lutzomyia* spp. Как показано экспериментально, одномоментно трансфицируется от 10 до 100 000 паразитарных форм [10]. В литературе описаны редкие случаи заражения лейшманиозом посредством переливания компонентов крови от инфицированных доноров [6] и трансплацентарные переносы паразитарной инвазии [8]. В зависимости от вида и вирулентности паразита, генетического фона, возраста, соматического и иммунного статуса хозяина инфекция может протекать бессимптомно и с яркими клиническими проявлениями, иногда сопровождающимися спонтанными ремиссиями. Клинически выделяют кожные и висцеральные формы: локализованный кожный лейшманиоз (LCL), пограничный диссеминированный кожный лейшманиоз (BDCL), аллергический диффузный кожный лейшманиоз (ADCL), слизистый лейшманиоз (MCL) и висцеральный лейшманиоз (VL) [4].

В эпидемиологическом плане лейшманиоз встречается на всех континентах. Он эндемичен для стран с влажным тропическим климатом. 90 % случаев висцерального лейшманиоза в мире приходится на Бангладеш, Бразилию, Эфиопию, Индию, Непал и Судан, регионы Центральной и Южной Америки [14]. Для Европы всегда были характерны спорадические случаи в прибрежных государствах и островах Средиземноморья. Однако в последние десятилетия ситуация изменилась: лейшманиоз проник в ранее неэндемичные регионы Северной Европы, такие как Швейцария, Германия, Австрия и Нидерланды. На Украине за период с 2008 по 2014 г. описаны более 50 случаев лейшманиоза [4]. Патогенез заболе-

вания многогранен и во многом зависит от типа инфекционного агента. Выделяют дермотропные виды лейшманий (*L. infantum*, *L. major*, *L. tropica*, *L. aethiops*, *L. Viannia guyanensis*, *L. Viannia braziliensis*, *L. mexicana*, *L. amazonensis*), которые вызывают местные кожные поражения. Системные случаи лейшманиоза вызываются висцеротропными штаммами паразитов (таких как *L. donovani*, *L. infantum*).

Укус песчаной мухи – переносчика лейшманий – способствует внедрению в кожу организма хозяина лейшманий, находящейся на особой внеклеточной мерцательной стадии развития (так называемой промастиготы). Паразиты, попадая в сосудистую систему кожных покровов, вначале быстро фагоцитируются нейтрофилами. Однако компоненты слюны насекомого-переносчика стимулируют быстрый апоптоз этих клеток [13]. Многие нейтрофилы погибают, сохраняя в цитоплазме живые внутриклеточные формы лейшманий. Они в свою очередь фагоцитируются макрофагами, которые получают особые внутриклеточные ингибирующие сигнальные молекулы, блокирующие слияние фагосом с лизосомами и, тем самым, антипаразитарную активность фагоцитов. Это способствует неэффективности фагоцитарного ответа и стимулирует беспрепятственное превращение промастиготы в репликативные внутриклеточные амастиготы [1]. Таким образом, часть паразитарных форм избегает уничтожения и сохраняется на всю жизнь в организме хозяина. При этом молодые генерации макрофагов, дендритных клеток и фибробластов вновь и вновь инфицируются паразитарными элементами и фактически являются для лейшманий безопасными нишами внутри организма хозяина. Устойчивый антипаразитарный иммунитет к лейшманиозу отсутствует [4]. Мишенями для висцеральной формы лейшманиоза служат органы, богатые гистиоцитарно-макрофагальными клеточными элементами: селезенка, печень, лимфатические узлы и, в особенности, костный мозг.

Клинические признаки висцерального лейшманиоза – стойкая лихорадка (устойчивая к антибиотикам и лишь частично чувствительная к стероидам), недомогание, бледность, увеличение печени и/или селезенки и потеря веса во время прогрессирования заболевания. Патологические сдвиги в гемограмме связаны с выраженной панцитопенией (особенно анемией и тромбоцитопенией) [12]. Отмечаются и другие изменения в составе крови: гипергаммаглобулинемия из-за поликлональной активации В-клеток, гипертриглицеридемия, снижение уровня фибриногена, повышение содержания белков активной фазы, растворимого рецептора к IL-2 и ферритина [11].



Висцеральный лейшманиоз может имитировать многие болезни, среди них: аутоиммунные заболевания, злокачественные новообразования (в том числе гемобласты), синдромы наследственных иммунодефицитных состояний, хронические кожные или системные инфекции и др.

Ведущим фактором риска рецидивирования паразитоза или клинической манифестации латентных случаев является иммуносупрессия. К группе риска относятся больные, находящиеся на терапии глюкокортикоидами, противоопухолевыми цитостатическими препаратами, иммунодепрессантами, и, особенно, ВИЧ-инфицированные пациенты. В этих случаях висцеральный лейшманиоз развивается как системная оппортунистическая инфекция [2]. Среди основных методов диагностики висцеральных форм лейшманиоза – цитоморфологическое исследование пунктата костного мозга с обнаружением паразитарных форм и ПЦР, нацеленная на ДНК кинетопластов или рибосомальную РНК лейшманий. Серологические методы, в том числе ELISA, мало надежны [3]. Прогноз лейшманиоза осложняется тем, что паразиты могут сохраняться на протяжении всей жизни пациента в рубцах бывших кожных повреждений, в лимфатических узлах, костном мозге, висцеральных органах даже после окончания терапии и клинического излечения болезни, а также в случае ее первично-бессимптомного течения. Следует отметить, что от момента заражения человека во время путешествия в эндемичные страны до первых клинических признаков лейшманиоза может пройти значительное время (до 160 дней) [7].

Лучшие результаты лечения висцерального лейшманиоза дает использование липосомально-го амфотерицина В (L-AmB), но в 32 % случаев сочетания висцерального лейшманиоза с ВИЧ это лечение не дает элиминации паразитарной инвазии, что в 7–12 % определяет летальный исход случая. Данных клинических исследований по оптимальной тактике лечения этих больных, режимах сочетания антипаразитарных средств и антиретровирусной терапии (АРВТ), а также профилактики рецидива паразитарной инфекции в настоящее время нет [9].

**Клинический случай.** Пациент С. 1970 г. рождения, житель г. Новосибирска. Считает себя больным около года, когда стал отмечать постепенное похудание, суммарно на 20 кг, немотивированную лихорадку с подъемами температуры тела до 38 °С в течение дня. Амбулаторно проводилось обследование, онкопатологии не найдено, но выявлена ВИЧ-инфекция. Пациент был взят на программу антиретровирусной терапии I линии,

результат которой расценен как иммунологическая неудача. Около полугода сохранялась лихорадка. В июле 2018 г. больной был госпитализирован в инфекционную больницу с диагнозом ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний, подстадия 4В, фаза прогрессирования на фоне антиретровирусной терапии. Бактериальная инфекция. Кандидоз пищевода. ВИЧ-энцефалопатия. Иммунологическая неудача. Вирусологическая неудача. Эпиданамнез: год назад посещал страны Юго-Восточной Азии в качестве туриста. При осмотре: состояние средней степени тяжести, питание снижено, пальпируются подчелюстные, шейные периферические лимфоузлы с двух сторон, безболезненные, подвижные, размером до 0,5 см. При УЗИ органов брюшной полости – гепатомегалия, спленомегалия (площадь селезенки более 100 см<sup>2</sup>), абдоминальная лимфаденопатия: множественные лимфоузлы размером до 1 см, признаки портальной гипертензии. В общем анализе крови: содержание гемоглобина 90 г/л, эритроцитов  $3,78 \times 10^{12}/л$ , средний объем эритроцита 65,3 фл, среднее содержание гемоглобина в эритроците 23,8 пг, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитарной массе 364 г/л; содержание тромбоцитов (анализатором и в мазках)  $33 \times 10^9/л$ , лейкоцитов  $1,8 \times 10^9/л$ ; лейкоцитарная формула: нейтрофилы 58,2 % ( $1,08 \times 10^9/л$ ), лимфоциты 29,0 % ( $0,54 \times 10^9/л$ ), моноциты 11,6 % ( $0,21 \times 10^9/л$ ), эозинофилы 0,2 %, базофилы 1,0 %. В биохимическом анализе крови: гиперпротеинемия – содержание общего белка 96,7 г/л, гипергаммаглобулинемия – 43,0 г/л; обнаружен М-градиент – 15 г/л.

Учитывая трехростковый характер нарушений в гемограмме, для исключения заболевания крови на консультацию вызван гематолог. Проведена стерильная пункция. Миелограмма: пунктат клеточный, эритроидный росток раздражен, отмечены черты мегалобластности нормоцитов, нейтрофильный росток сужен, отсутствие функционально-деятельных мегакариоцитов; на этом фоне встречены гистиоциты и макрофаги, цитоплазма которых в изобилии содержит паразитарные формы. На фоне мазка одиночно и скоплениями найдены множественные формы паразитарных телец лейшманий в стадии амастиготы. Диагноз: висцеральный лейшманиоз на фоне иммунодефицитного состояния, обусловленного ВИЧ-инфекцией. При проведении внешней экспертизы в лаборатории Росздравнадзора диагноз был подтвержден. Больному начата комбинированная противовирусная и антипаразитарная (амфотерицин В 3 мг/кг в сутки по схеме 1–5 и 10 день) терапия.

## ВЫВОДЫ

1. Гематологический синдром в виде трехростковой цитопении в сочетании с генерализованной лимфаденопатией, гепатоспленомегалией и лихорадкой, устойчивой к антибиотикам, на фоне резистентной к антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции требует исключения висцеральной формы лейшманиоза, особенно при сомнительном эпидемиологическом анамнезе.

2. Стерильная пункция с исследованием картины костно-мозгового кроветворения является одним из наиболее надежных методов обнаружения паразитарной инвазии – лейшманий в виде скоплений внутриклеточных телец паразитов (кинетопластов) и внеклеточных форм (амастигот).

3. Круг дифференциального диагноза лихорадки, резистентной к антибактериальной терапии, на фоне гематологического синдрома и поражения костного мозга должен включать висцеральный лейшманиоз, особенно у иммунокомпromетированных пациентов.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Afonso L., Borges V.M., Cruz H., Ribeiro-Gomes F.L., DosReis G.A., Dutra A.N., Clarêncio J., de Oliveira Cl., Barral A., Barral-Netto M., Brodskyn Cl. Interactions with apoptotic but not with necrotic neutrophils increase parasite burden in human macrophages infected with *Leishmania amazonensis* // *J. Leukoc. Biol.* 2008. 84. 389–396.
2. Alvar J., Aparicio P., Aseffa A., DenBoer M., Cañavate C., Dedet J.P., Gradoni L., Ter Horst R., López-Vélez R., Moreno J. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years // *Clin. Microbiol. Rev.* 2008. 21. 334–359.
3. Antinori S., Calattini S., Longhi E., Bestetti G., Piolini R., Magni C., Orlando G., Gramiccia M., Acquaviva V., Foschi A., Corvasce S., Colomba C., Titone L., Parravicini C., Cascio A., Corbellino M. Clinical use of polymerase chain reaction performed on peripheral blood and bone marrow samples for the diagnosis and monitoring of visceral leishmaniasis in HIV-infected and HIV-uninfected patients: a single-center, 8-year experience in Italy and review of the literature // *Clin. Infect. Dis.* 2007. 44. 1602–1160.
4. Bogdan C. Leishmaniasis in rheumatology, haematology and oncology: epidemiological, immunological and clinical aspects and caveats // *Ann. Rheum. Dis.* 2012. 71. (Suppl. II). i60–i66.
5. Bogdan C., Schönian G., Bañuls A.L., Hide M., Pratlong F., Lorenz E., Rölinghoff M., Mertens R. Visceral leishmaniasis in a German child who had never entered a known endemic area: case report and review of the literature // *Clin. Infect. Dis.* 2001. 32. 302–307.
6. Cardo L.J. Leishmania: risk to the blood supply // *Transfusion.* 2006. 46. 16–41.
7. Chapman L.A., Dyson L., Courtenay O., Chowdhury R., Bern C., Medley G.F., Hollingsworth T.D. Quantification of the natural history of visceral leishmaniasis and consequences for control // *Parasit. Vectors.* 2015. 22. 8. 521.
8. Figueiró-Filho E.A., Duarte G., El-Beitune P., Quintana S.M., Maia T.L. Visceral leishmaniasis (kala-azar) and pregnancy // *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 2004. 12. 31–40.
9. Jarvis J.N., Lockwood D.N. Clinical aspects of visceral leishmaniasis in HIV infection // *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2013. 26. (1). 1–9.
10. Kimblin N., Peters N., Debrabant A., Secundino N., Egen J., Lawyer P., Fay M.P., Kamhawi S., Sacks D. Quantification of the infectious dose of *Leishmania* major transmitted to the skin by single sand flies // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. 105. (29). 10125–10130.
11. Murray H.W., Berman J.D., Davies C.R., Saravia N.G. Advances in leishmaniasis // *Lancet.* 2005. 366. 1561–1577.
12. Nada P.A., Chakhachiro Z.I. Visceral leishmaniasis presenting with pancytopenia and circulating blastlike lymphocytes // *Blood.* 2018. 131. 2867.
13. Prates D.B., Araújo-Santos T., Luz N.F., Andrade B.B., França-Costa J., Afonso L., Clarêncio J., Miranda J.C., Bozza P.T., Dosreis G.A., Brodskyn C., Barral-Netto M., Borges V.M., Barral A. *Lutzomyia longipalpis* saliva drives apoptosis and enhances parasite burden in neutrophils // *J. Leukoc. Biol.* 2011. 90. 575–582.
14. Anon. Leishmaniasis // Working to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases. First WHO Report on Neglected Tropical Diseases / Eds. L. Savioli, D. Daumerie, D.W.T. Crompton. Geneva: World Health Organization, 2010. 91–96.

## INFECTIOUS DISEASES IN HEMATOLOGIST'S PRACTICE: VISCERAL LEISHMANIASIS IN HIV-INFECTED PATIENT

Yuliya Nikolaevna OBGOLTS<sup>1</sup>, Natalya Grigorievna SAMOYLOVA<sup>2</sup>,  
Svetlana Semenovna FED'<sup>2</sup>, Svetlana Aleksandrovna KARMANOVSKAYA<sup>2</sup>,  
Igor Borisovich KOVYNEV<sup>3</sup>, Tatyana Ivanovna POSPELOVA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *City Hematological Center*  
630051, Novosibirsk, Polzunov str., 21

<sup>2</sup> *City Clinical Hospital No. 2*  
630051, Novosibirsk, Polzunov str., 21

<sup>3</sup> *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia*  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

---

The clinical case of visceral leishmaniasis and HIV coinfection, associated with bone marrow involvement, which is uncommon in Siberia, was demonstrated. The detailed literature review on the issue was given. The data analysis of leishmaniasis prevalence dynamics in northern latitudes was conducted and the features of disease epidemiology were highlighted. The clinical forms of this parasite invasion and the contemporary ideas about mechanism of leishmania escape from phagocytosis were described on the basis of recent data. The algorithm of differential diagnosis, diagnosis criteria and treatment standards were developed. The comprehensive approach to diagnosis and management of the zoonosis and HIV coinfection were described. The disease hematological features such as pancytopenia, lymphadenopathy, hepatosplenomegaly and fever were revealed. The significance of bone marrow hematopoiesis examination in leishmaniasis was specified. The analysis of the literature on the transformation of modern visceral leishmaniasis was carried out: an increase in the number of erased clinical debut forms, an increase in the duration of the latent period of the disease up to 130–160 days after transfection, an increase in the role of immunodepression factors in the clinical manifestation of the disease. The data on the epidemiological sources of zoonosis - insect vectors, conditions of infection, methods of prevention have been performed.

---

**Key words:** visceral leishmaniasis, HIV infection, hematological syndrome, bone marrow involvement in parasitic infection.

*Obgolts Yu.N. – hematologist, e-mail: post\_gem@mail.ru*

*Samoylova N.G. – laboratory doctor, e-mail: post\_gem@mail.ru*

*Fed' S.S. – head of laboratory, e-mail: post\_gem@mail.ru*

*Karmanovskaya S.A. – doctor of medical sciences, head of polyclinic department, e-mail: post\_gem@mail.ru*

*Kovynev I.B. – doctor of medical sciences, associate professor of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: kovin\_gem@mail.ru*

*Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, vice rector on scientific work, head of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post\_gem@mail.ru*

## ФОРМИРОВАНИЕ ИЗБЫТКА ЖЕЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ В ГРУППАХ ПРОМЕЖУТОЧНОГО И НИЗКОГО РИСКА

Татьяна Николаевна БАБАЕВА<sup>1</sup>, Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА<sup>1</sup>,  
Ирина Николаевна НЕЧУНАЕВА<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

<sup>2</sup>Городская клиническая больница № 2  
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 21

**Цель исследования** – на основе изучения клинико-биохимических особенностей феррокинетики у пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС) промежуточного и низкого риска выделить основные варианты формирования перегрузки железом. **Материал и методы.** Обследовано 22 пациента с МДС, получающих терапию в Городском гематологическом центре г. Новосибирска, их средний возраст составил  $62,6 \pm 12,2$  года. Критериям трансфузионной зависимости соответствовало 14 (63,6 %) человек, 8 (36,4 %) пациентов не вошли в группу трансфузионно зависимых. Для исследования обмена железа использовались стандартные показатели феррокинетики (содержание железа и ферритина в сыворотке крови, общая и латентная железосвязывающая способность сыворотки, коэффициент насыщения трансферрина) и дополнительные маркеры, определяемые методом ИФА (содержание сывороточного гепсидина). **Результаты и их обсуждение.** Продемонстрирован вклад множественных трансфузий в формирование избытка железа у больных МДС: в группе пациентов, зависимых от трансфузий, концентрация железа сыворотки составила  $31,56 \pm 15,59$  мкмоль/л, коэффициент насыщения трансферрина –  $64,1 \pm 32,92$  %, общая и латентная железосвязывающая способность сыворотки – соответственно  $48,87 \pm 11,7$  и  $17,32 \pm 12,66$  мкмоль/л, содержание ферритина –  $689,08 \pm 104,98$  нг/мл (у больных без трансфузионной зависимости –  $24,6 \pm 7,58$  мкмоль/л,  $31,28 \pm 19,48$  %,  $51,6 \pm 17,41$  и  $35,86 \pm 16,98$  мкмоль/л,  $544,56 \pm 263,8$  нг/мл соответственно). Показано, что в зависимости от количества гемотрансфузий изменяется характер взаимосвязи между концентрацией ферритина и гепсидина: у пациентов, которым выполнено менее девяти гемотрансфузий, наблюдается тесная положительная корреляция ( $n = 6$ ;  $r = 0,96$ ;  $p < 0,001$ ), при увеличении до 9–24 единиц эритроцитов корреляция отсутствует ( $n = 9$ ;  $r = 0,009$ ;  $p > 0,05$ ), более 24 гемотрансфузий в год сопровождаются появлением обратной зависимости ( $n = 7$ ;  $r = -0,55$ ;  $p < 0,05$ ). **Заключение.** Проведенное исследование позволило продемонстрировать роль неэффективного эритропоэза в нарушении регуляции концентрации гепсидина у больных МДС и формировании перегрузки железом вне связи с гемотрансфузиями.

**Ключевые слова:** миелодиспластический синдром (МДС), неэффективный гемопоэз, гепсидин, ферритин, трансфузионная зависимость, феррокинетика, обмен железа, избыток железа.

Синдромы недостаточности костного мозга представляют собой группу патологий стволовых кроветворных клеток, характеризующихся неэффективным гемопоэзом и варибельной степенью цитопений [13]. Миелодиспластический синдром (МДС) является частным случаем приобретенной недостаточности костного мозга. Заболевания с неэффективным гемопоэзом характеризуются глубокой панцитопенией, развивающейся

в результате угнетения костно-мозгового кроветворения [3], либо процесс характеризуется неэффективностью гемопоэза, нормальной или повышенной клеточностью костного мозга и одно-, двух- или трехростковой цитопенией при нарушении созревания гемопоэтических клеток с изменением их морфологических особенностей (дисплазия) и функциональных свойств [2]. Анемия, основное проявление заболеваний с не-

**Бабеева Т.Н.** – к.м.н., ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
e-mail: babaeva\_tatyana@inbox.ru.

**Поспелова Т.И.** – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
e-mail: post\_gem@mail.ru.

**Нечунаева И.Н.** – к.м.н., зав. гематологическим отделением, e-mail: post\_gem@mail.ru



эффективным эритропозом, выявляется у большинства пациентов (85–90 %), за исключением случаев рефрактерной цитопении с унилинейной или билинейной дисплазией, для которых характерно изолированное поражение нейтрофильного и/или тромбоцитарного ростков [4]. Анемия приводит к ухудшению качества жизни, вызывая многообразную симптоматику, включающую депрессию (угнетенность, нервозность, раздражительность, адинамию), быструю утомляемость, слабость, тошноту, головокружение, одышку, сердцебиение, потерю трудоспособности [5]. Кроме того, уровень гемоглобина является и важным фактором прогноза, что связывают прежде всего с прогрессирующей гипоксией и влиянием ее на генетическую нестабильность клонов опухолевых клеток [1].

В развитии анемии при синдромах недостаточности костно-мозгового кроветворения участвует множество механизмов, среди которых не последнее место занимают нарушения обмена железа, имеющие сложный характер и сочетающие признаки повышенного содержания железа с нарушением его распределения, что требует использования широкого спектра показателей феррокинетики. Трансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови являются одним из основных методов коррекции проявлений анемического синдрома в группе пациентов с дефектным эритропозом. У 75–90 % больных в последующем развивается зависимость от трансфузий донорских эритроцитов. Тактика использования компонентов крови у пациентов с МДС вырабатывается индивидуально и определяется критическим для каждого больного уровнем гемоглобина, а также степенью трансфузионной зависимости больного. Пациенты с МДС, имеющие высокую частоту гемотрансфузий, подвержены высокому риску накопления избытка железа, которое, тем не менее, наблюдается еще до начала активной трансфузионной терапии и является результатом компенсаторного повышения продукции дифференцировочного фактора роста с подавлением выработки гепсидина, что приводит к хронической абсорбции железа. Увеличение концентрации железа подавляет синтез гепсидина, что приводит к возрастанию доступности железа для эритропоза в результате повышения объема всасывания и реализации его из макрофагов. Такой эффект становится особенно значимым при заболеваниях с неэффективным эритропозом, когда значительная масса эритроцитарных предшественников подвергается апоптозу, а не созреванию [12]. В результате недостаток гепсидина приводит к системной перегрузке железом при отсутствии трансфузионной зависимости [10].

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 22 пациента с МДС, получающих терапию в Городском гематологическом центре г. Новосибирска. Средний возраст больных составил  $62,6 \pm 12,2$  года, по полу распределение было следующим: 15 (68,2 %) мужчин, 7 (31,8 %) женщин. Согласно классификации ВОЗ (2008 г.) были выделены следующие варианты заболевания: у 6 (27,3 %) пациентов диагностирована рефрактерная цитопения с унилинейной дисплазией, у 3 (13,6 %) – рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами, у 7 (31,8 %) – рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией, у 4 (18,2 %) – рефрактерная анемия с избытком бластов-1 и у 2 (9,1 %) – рефрактерная анемия с избытком бластов-2. Прочие варианты МДС, согласно классификации ВОЗ (МДС неклассифицируемый, МДС, ассоциированный с изолированной делецией (5q-)), не выявлялись в группе обследованных больных.

У всех пациентов, включенных в исследование, была проведена оценка группы риска. В международной прогностической балльной системе (International Prognostic Scoring System, IPSS) [7] для определения групп риска во внимание принимался процент бластных клеток в костном мозге, наличие отдельных цитогенетических аномалий и количество ростков кроветворения с цитопенией в периферической крови. Согласно IPSS при сумме баллов 0 определялась группа низкого риска, 0,5–1 балл – группа промежуточного-1 риска, 1,5–2 балла – группа промежуточного-2 риска и при сумме баллов  $\geq 2,5$  – группа высокого риска. В соответствии с критериями IPSS у 4 (18,2 %) пациентов был определен низкий риск, у 2 (9,1 %) – промежуточный-2 риск и большая часть больных составила группу промежуточного-1 риска – 16 (72,7 %) пациентов. Среди обследованных не было лиц, относящихся к высокой группе риска.

Из общего количества больных также была выделена группа трансфузионно зависимых. Согласно прогностической системе оценки на основе классификации ВОЗ (WHO classification-based Prognostic Scoring System, WPSS) для МДС определены критерии трансфузионной зависимости – 1 и более трансфузия эритроцитсодержащих компонентов крови каждые 8 недель в период более четырех месяцев. В группе больных МДС критериям трансфузионной зависимости соответствовали 14 (63,6 %) человек, абсолютное количество гемотрансфузий в год для данной категории пациентов составило 414 доз, среднее количество гемотрансфузий в год на одного пациента –  $29,6 \pm 11,3$  дозы. В группу трансфузионно



Таблица

Сравнительная характеристика показателей обмена железа в группах больных МДС с наличием и отсутствием трансфузионной зависимости

Параметр	Трансфузионно зависимые больные	Больные без трансфузионной зависимости
Содержание железа в сыворотке крови, мкмоль/л	31,56 ± 15,59	24,6 ± 7,58
Общая железосвязывающая способность сыворотки, мкмоль/л	48,87 ± 11,7	51,6 ± 17,41
Латентная железосвязывающая способность сыворотки, мкмоль/л	17,32 ± 12,66	35,86 ± 16,98*
Коэффициент насыщения трансферрина, %	64,1 ± 32,92	31,28 ± 19,48*
Содержание ферритина, нг/мл	689,08 ± 104,9	544,5 ± 263,8*

Примечание. \* – отличие от величины соответствующего показателя трансфузионно зависимых больных статистически значимо при  $p < 0,05$ .

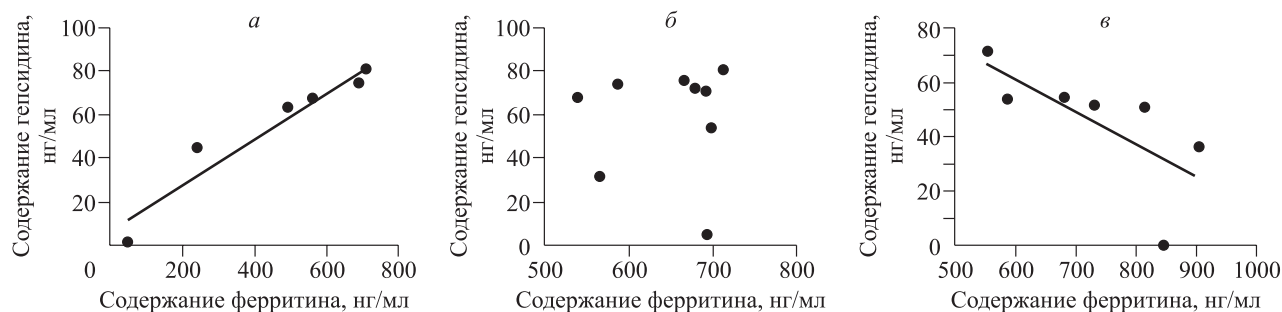
леза увеличивается, обеспечивая адекватный пул хранения (макрофаги ретикулоэндотелиальной системы и железо гепатоцитов), однонаправленно растет и концентрация гепсидина в попытке организма подавить клеточный экспорт железа в условиях его избытка. Наличие в анамнезе многочисленных гемотрансфузий является указанием на один из наиболее значимых факторов, способных модифицировать обмен железа. Для оценки роли данного фактора в патологии феррокинетики была выполнена оценка выраженности изменений показателей обмена железа в зависимости от активности заместительной терапии.

При анализе показателей феррокинетики в зависимости от объема трансфузионной нагрузки обнаружено, что концентрация железа в сыворотке крови трансфузионно зависимых больных МДС в 1,3 раза выше, чем больных без трансфузионной зависимости, содержание ферритина – на 20 %, а коэффициент насыщения трансферрина – в 2 раза (таблица). Общая и латентная железосвязывающая способность в группе трансфузионно зависимых больных были несколько ниже по сравнению с показателями пациентов без трансфузионной зависимости. Полученные результаты ожидаемо свидетельствуют о значимом вкладе множественных трансфузий эритроцитсодержащих компонентов крови в формирование избытка железа.

Существует мнение, что в выборке больных МДС промежуточного и низкого риска гемотрансфузии хоть и вносят существенный вклад в формирование избытка железа, но все же не выступают в качестве основной причины патологии феррокинетики, а в основном видоизменяют уже существующий фон избытка железа. Наибольшее значение в патогенезе перегрузки железом у больных с МДС играет нарушение регуляции гепсидина, ключевого гормона метаболизма железа, и избыток железа может формироваться

у пациентов с МДС уже на ранних стадиях заболевания, до начала активной трансфузионной терапии. В условиях неэффективного эритропоэза ранние эритроидные предшественники секретируют дифференцировочный фактор роста (GDF15), эритроферрон, подавляющие выработку гепсидина, что приводит к хронической абсорбции железа в кишечнике. Эритроферрон высокоэкспрессирован в костном мозге и значительно индуцируется именно эритропоэтической стимуляцией, но не подвержен непосредственному воздействию связанных с гипоксией или воспалительных стимулов [9]. Накопление железа в печени и сыворотке крови, в свою очередь, усиливает подавление синтеза гепсидина и приводит к повышению доступности железа для эритропоэза путем расширения объема всасывания железа и реализации его из макрофагов.

Однако содержание гепсидина в группе обследованных больных МДС не превысило значимо показатели контрольной группы (соответственно  $51,12 \pm 26,46$  и  $22,8 \pm 20,97$  нг/мл). С целью определения степени зависимости концентрации гепсидина от прироста уровня ферритина мы провели анализ, аналогичный выполненному N. Shenoy et al. [11], которые определяли корреляционную связь между содержанием ферритина и гепсидина в подгруппах больных МДС низкого риска по критериям IPSS, получающих менее 9, от 9 до 24 и более 24 единиц эритроцитсодержащих компонентов в год. Обнаружено, что в подгруппе пациентов, получивших менее 9 гемотрансфузий, наблюдалась сильная положительная зависимость между концентрацией гепсидина и ферритина в сыворотке крови ( $n = 6$ ;  $r = 0,96$ ;  $p < 0,001$ ), у получивших 9–24 единицы она отсутствовала ( $n = 9$ ;  $r = 0,009$ ;  $p > 0,05$ ), а для больных с высокой трансфузионной нагрузкой – более 24 гемотрансфузий в год – была отрицательной ( $n = 7$ ;  $r = -0,55$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 2).



**Рис. 2.** Взаимосвязь между содержанием сывороточного гепсидина и ферритина у больных МДС в зависимости от трансфузионной нагрузки: а – менее 9 гемотрансфузий, б – от 9 до 24 гемотрансфузий, в – более 24 гемотрансфузий

Таким образом, концентрация гепсидина остается чувствительной к уровню ферритина только у пациентов с относительно невысокими потребностями в переливаниях эритроцитсодержащих компонентов. Многочисленные трансфузии приводят к активации циркулирующего гепсидина, который, однако, не достигает уровней, адекватных формирующемуся избытку железа. Синтез ферритина в условиях избыточного железа увеличивается, обеспечивая адекватный пул хранения, однонаправленно растет и концентрация гепсидина с целью подавить клеточный экспорт железа в условиях его избытка. Повышенная продукция гепсидина характерна для пациентов с подтипами МДС высокого уровня риска (рефрактерная анемия с избытком бластов, рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией), где она может выполнять защитную функцию вследствие клеточного поглощения железа. Больные МДС с подтипами низкого уровня риска (рефрактерная анемия с наличием или отсутствием кольцевых сидеробластов и делецией 5q), напротив, более подвержены риску перегрузки железом, поскольку при более длительной ожидаемой выживаемости увеличивается суммарное количество перелитых доз эритроцитов и компенсаторный эндогенный прирост гепсидина не обеспечивает адекватный ответ на быстро повышающуюся концентрацию сывороточного и клеточного ферритина [14].

Накопление железа у пациентов с МДС является самоподдерживающимся процессом вследствие неэффективного эритропоэза и стимуляции всасывания железа в кишечнике. Приведенные выше данные указывают на то, что уровни сывороточного ферритина были увеличены у пациентов с МДС без трансфузионной зависимости, что позволяет предполагать механизм перегрузки железом, не связанный непосредственно с трансфузиями. Кроме того, больные МДС без трансфузионной зависимости имели более низкий уровень

гепсидина сыворотки по отношению к контролю и значимое обратное соотношение между концентрацией гепсидина и ферритина по сравнению с подгруппой трансфузионно зависимых лиц. Данные результаты свидетельствуют о том, что вследствие низких концентраций гепсидина сыворотки ответ на перегрузку железом снижается у больных МДС еще до начала трансфузий донорских эритроцитов.

Отсутствие корреляционной связи концентрации гепсидина и снижения содержания гемоглобина, нарастания степени тяжести анемии ( $r = 0,1$ ;  $p > 0,05$ ), а также обратная связь с процентным содержанием эритроидных предшественников в стерильном пунктате ( $r = -0,5$ ;  $p < 0,05$ ) могут свидетельствовать о том, что супрессия гепсидина у больных МДС является прямым следствием повышенной эритропоэтической деятельности костного мозга, которая остается лидирующим фактором в регуляции синтеза гепсидина [8]. Недостаточный уровень гепсидина (по отношению к степени перегрузки железом) при заболеваниях с расширенным и/или неэффективным эритропоэзом поддерживает существующий «эритроидный фактор» в регуляции метаболизма железа [11].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у пациентов с неэффективным эритропоэзом трансфузии компонентов донорской крови, часто являясь незаменимым методом коррекции анемии, обеспечивающим стабильное состояние больных и адекватное качество жизни, также оказывают значительное влияние на состояние обмена железа. При этом у пациентов с МДС экзогенный фактор формирования перегрузки железом в виде повторных переливаний эритроцитсодержащих компонентов крови часто воздействует на уже существующий эндогенный фон избытка железа. Проведенное исследование позволило продемонстрировать роль неэффек-



тивного эритропоэза в нарушении регуляции концентрации гепсидина у больных МДС и формировании перегрузки железом вне связи с гемотрансфузиями.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бессмельцев С.С., Романенко Н.А., Абдулкадыров К.М. Современные подходы к лечению анемии у больных с онкогематологическими заболеваниями // *Соврем. онкология*. 2010. 12. (1). 70–75.
2. Грицаев С.В. Миелодиспластические синдромы // *Гематология: национальное руководство* / ред. О.А. Рукавицин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 300–334.
3. Клинические рекомендации по лечению апластической анемии / ред. В.Г. Савченко. М., 2014. 24 с.
4. Романенко Н.А. Терапия и профилактика анемии и перегрузки железом у больных миелодиспластическим синдромом // *Medline.ru. Рос. биомед. журн.* 2012. (13). 967–986.
5. Романенко Н.А., Абдулкадыров К.М. Патогенетическая коррекция анемии эритропоэзстимулирующими препаратами у больных лимфопролиферативными заболеваниями // *Онкогематология*. 2011. (3). 39–49.
6. Galesloot T.E., Vermeulen S.H., Geurts-Moespot A.J., Klaver S.M., Kroot J.J., van Tienoven D.,

Wetzels J.F.M., Kiemeny L.A.L.M., Sweep F.C., Heijerand M., Swinkels D.W. Serum hepcidin: reference ranges and biochemical correlates in the general population // *Blood*. 2011. 117. (25). 218–225.

7. Greenberg P., Cox C., LeBeau M.M., Fenaux P., Morel P., Sanz G., Sanz M., Vallesp T., Hamblin T., Oscier D., Ohyashiki K., Toyama K., Aul C., Mufti G., Bennett J. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes // *Blood*. 1997. 89. (6). 2079–2088.

8. Liu Q., Davidoff O., Niss K., Haase V.H. Hypoxia-inducible factor regulates hepcidin via erythropoietin-induced erythropoiesis // *J. Clin. Invest.* 2012. 122. (12). 4635–4644.

9. Kautz L. Erythroferrone, an erythroid regulator of iron metabolism // *Blood*. 2014. 30. (10). 834–836.

10. Nemeth E., Ganz T. Regulation of iron metabolism by hepcidin // *Ann. Rev. Nutr.* 2006. 26. 323–342.

11. Shenoy N., Vallumsetla N., Rachmilewitz E., Verma A., Ginzburg Y. Impact of iron overload and potential benefit from iron chelation in low-risk myelodysplastic syndrome // *Blood*. 2014. 124. (6). 873–881.

12. Temraz S., Santini V., Musallam K., Taher A. Iron overload and chelation therapy in myelodysplastic syndromes // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2014. 91. (1). 64–73.

13. Visconte V., Tiu R.V., Rogers H.J. Pathogenesis of myelodysplastic syndromes: an overview of molecular and non-molecular aspects of the disease // *Blood Res.* 2014. 49. (4). 216–227.

14. Zipperer E., Post J.G., Herkert M., Kündgen A., Fox F., Haas R., Gattermann N., Germing U. Serum hepcidin measured with an improved ELISA correlates with parameters of iron metabolism in patients with myelodysplastic syndrome // *Ann. Hematol.* 2013. 92. (12). 1617–1623.

## **FORMATION OF IRON EXCESS IN PATIENTS WITH INTERMEDIATE- AND LOWER-RISK MYELOYDYSPLASTIC SYNDROME**

**Tatyana Nikolaevna BABAEVA<sup>1</sup>, Tatyana Ivanovna POSPELOVA<sup>1</sup>,  
Irina Nikolaevna NECHUNAEVA<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

<sup>2</sup>Novosibirsk Clinical Hospital No. 2  
630051, Novosibirsk, Polzunov str., 21

---

The aim of study was to determine main types of iron overload in the intermediate- and lower-risk patients with myelodysplastic syndrome by using the research data of clinical and biochemical features of iron metabolism. **Material and methods.** A total of 22 patients with myelodysplastic syndrome, treated in Novosibirsk Hematological Centre, were examined. The average age was  $62.6 \pm 12.2$  years. Among them, 14 (63.6 %) patients were transfusion-dependent and 8 (36.4 %) patients without transfusion dependence. To analyze the iron metabolism, the standard measures of iron status (serum iron and ferritin content, total and latent iron binding capacity, transferrin saturation) as well as additional markers, measured by ELISA (serum hepcidin content) were used. **Results and discussion.** The role of multiple transfusions in formation of iron excess in patients with myelodysplastic syndrome was demonstrated. In the transfusion-dependent group of patients the serum iron was  $31.56 \pm 15.59$   $\mu\text{mol/l}$ , transferrin saturation level –  $64.1 \pm 32.92$  %, total and latent iron binding capacity –  $48.87 \pm 11.7$  and  $17.32 \pm 12.66$   $\mu\text{mol/l}$ , serum ferritin level –  $689.08 \pm 104.98$  ng/ml (in non-transfusion dependent group –  $24.6 \pm 7.58$   $\mu\text{mol/l}$ ,  $31.28 \pm 19.48$  %,  $51.6 \pm 17.41$  and  $35.86 \pm 16.98$   $\mu\text{mol/l}$ , respectively). The trends in associated changes of ferritin and hepcidin level depending on the number of obtained transfusions showed the following results: less than 9 transfusions –  $r = 0.96$  ( $n = 6$ ;  $p < 0.001$ ), from 9 to 24 erythrocyte units –  $r = 0.009$  ( $n = 9$ ;  $p > 0.06$ ), more than 24 transfusions per year –  $r = -0.55$  ( $n = 7$ ;  $p < 0.05$ ). It proved the loss of sensitivity of hepcidin level to ferritin level in patients with high transfusion burden. **Conclusion.** The study demonstrated the role of ineffective hematopoiesis in the regulation disorders of hepcidin level in patients with myelodysplastic syndrome and iron overload formation without connection with transfusions.

---

**Key words:** myelodysplastic syndrome, ineffective hematopoiesis, hepcidin, ferritin, transfusion dependence, ferrokinetics, iron metabolism, iron excess.

*Babaeva T.N. – candidate of medical sciences, assistant professor of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: babaeva\_tatyana@inbox.ru*

*Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, vice rector on scientific work, head of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post\_gem@mail.ru*

*Nechunaeva I.N. – candidate of medical sciences, head of the department of hematology, e-mail: post\_gem@mail.ru*

## РЕДКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ВИРУСАССОЦИИРОВАННОЙ АПЛАЗИИ КОСТНОГО МОЗГА У ПАЦИЕНТКИ С НАСЛЕДСТВЕННОЙ МЕМБРАНОПАТИЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Андрей Владимирович ЗАБЕЛА, Виталий Сергеевич СЕЛИВАНОВ,  
Татьяна Николаевна БАБАЕВА, Игорь Борисович КОВЫНЕВ

Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

Цель работы – изучить и представить литературные данные об исследованиях некоторых комбинированных форм анемических состояний при беременности, описать клинический случай беременной пациентки с первичным инфицированием парвовирусом В19 на фоне впервые выявленной наследственной мембранопатии. Опираясь на данные литературных источников, представлены современные сведения об этиологии, распространенности, строении и некоторых особенностях патогенеза парвовирусной инфекции. Крайне высокая частота ее встречаемости (распространенность антител к парвовирусу В19 может превышать 90 % популяции), опасность для плода и возможность чрезвычайно тяжелых осложнений у лиц с иммунодефицитами, вероятность развития тотального угнетения кроветворения у людей с наследственной патологией эритроцитов (наследственной гемолитической анемией Минковского – Шоффара) обуславливают актуальность и значимость рассматриваемой темы. Кроме того, представлен клинический случай из опыта гематологического центра Новосибирска, призванный проиллюстрировать особенности течения первичного инфицирования парвовирусом В19 у пациентки с наследственной гемолитической анемией, тяжесть дифференциально-диагностического пути к постановке диагноза, а также свидетельствующий о необходимости исследования маркеров парвовирусной инфекции, которые отсутствуют в составе TORCH-панелей большинства лабораторий.

**Ключевые слова:** парвовирус В19, HPV-B19, анемия беременных, наследственная гемолитическая анемия, апластический криз.

Парвовирус В19 (HPV-B19) был открыт в 1974 г. и стал единственным вирусом из семейства Parvoviridae, патогенным для человека. Известно, что размеры вируса составляют всего 22–24 нм, вирион имеет икосаэдрическую форму и состоит из четырех типов белковых единиц VP1-4, дополнительные внешние оболочки отсутствуют [24]. Внутри белкового капсида заключен геном вируса, представляющий собой линейную молекулу ДНК, состоящую из 5596 нуклеотидов [15]. Парвовирус В19 широко распространен на земном шаре: по данным разных источников, к нему серопозитивны более 80 % населения Земли. Частота встречаемости варьирует в зависимости от региона; на сегодняшний день исследования генотипов, циркулирующих на их территории, провели 11 государств [12]. Кроме того, частота встречаемости IgG к парво-

вирусу В19 увеличивается с возрастом, составляя у детей первых 6 лет жизни от 2 до 21 %, у подростков – 30–50 %, у взрослых – более 60 %, у пожилых – более 85 % [8].

Вирус может размножаться в нескольких специализированных клеточных линиях: двух линиях мегакариобластных клеток человека МВ-02 и UT-7/Еро-S1, двух линиях клеток эритроидной лейкемии человека JK-1 [23] и KU812Ер6 [16], а также в клетках пуповинной крови [22], печени плода [6], культуры костного мозга [19]. Клеточный рецептор для вируса – так называемый антиген Р, относящийся к гликофинголипидам, представляет собой многокомпонентную антигенную систему, обладает сродством к активно делящимся клеткам в S-фазе и реплицируется не только в предшественниках эритроидного ряда (эритробластах), но и в зрелых эритроцитах, ме-

*Забела А.В.* – студент 5-го курса педиатрического факультета, e-mail: Zabela2018@inbox.ru

*Селиванов В.С.* – студент 5-го курса педиатрического факультета, e-mail: Gorovoy090@yandex.ru

*Бабаева Т.Н.* – к.м.н., ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, e-mail: babaeva\_tatyana@inbox.ru

*Ковынев И.Б.* – д.м.н., доцент, проф. кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, e-mail: kovin\_gem@mail.ru

гакариоцитах и макрофагах костного мозга, гранулоцитах, эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов, в плаценте, эмбриональных печени и сердце, в синовиальных оболочках плода, что объясняет его отмечаемый клинически тканевой тропизм [2, 25].

Патогенез заболевания изучен не до конца. Вероятно, вирус проникает в организм человека через слизистые оболочки [26]. Виремия развивается в среднем через 6 суток после попадания вируса на слизистые оболочки, достоверно обнаруживается серологическими методами в течение 1–1,5 недель. Затем вирус достигает органов, в том числе и костного мозга, где поражает клетки-предшественники эритропоэза за счет наличия на этих клетках специфического рецептора к вирусу (Р-антигена) [7, 25].

Клинические проявления инфекции во многом зависят от иммунологического и гематологического статуса зараженного. У здоровых иммунокомпетентных лиц инфекция может быть полностью бессимптомной или же приводить к умеренным и спонтанно затухающим клиническим проявлениям [27], таким как инфекционная эритема и, в основном у взрослых лиц, острая симметричная полиартропатия [11]. Иммунокомпетентные дети переносят спровоцированную парвовирусом В19 инфекцию легче, чем взрослые. У них она проявляется незначительной лихорадкой и пятнисто-папулезной сыпью на щеках (симптом «нашлепанных» щек).

Наибольший интерес парвовирус представляет как один из представителей группы TORCH-инфекций. Его тератогенное действие объясняется наличием Р-антигена на поверхности трофобласта и клеток ворсин хориона. Во время беременности НРV-В19 может передаваться воздушно-капельным путем, с препаратами крови, вводимыми парентерально и вертикально от матери к плоду [18]. Вероятность вертикальной передачи вируса от матери к плоду составляет в среднем 17–33 % [9]. При заражении беременной в I или II триместре риск того, что вирус преодолет плацентарный барьер, существенно выше, чем в III триместре (по данным экспертов ВОЗ риск гибели плода у женщин, инфицированных парвовирусом в первые 12 недель беременности, составляет 19 %, с 13 по 20 неделю – 15 %, после 21 недели – 6 %) [20]. Это объясняется значительно более высокой концентрацией Р-антигена на поверхности клеток трофобласта, чем в III триместре, что определяет трансплацентарную передачу вируса плоду с развитием ряда патологических состояний, ведущим из которых является неиммунная водянка плода [4]. Вертикальная передача объясняет бессимптомные врожден-

ные инфекции (33–51 % случаев) [13] или неблагоприятные последствия для плода (3–12 %), такие как анемия плода, кардиомегалия и перикардальный выпот, неиммунная водянка плода, внутриутробная гибель плода и мертворождение [10], замедление внутриутробного развития, тромбоцитопения [21], мекониевый перитонит [28], кальцификация печени и долгосрочная нейродегенерация [17]. Развивающиеся в результате воздействия вируса в III триместре плацентиты могут приводить к дисфункции плаценты и неблагоприятному исходу беременности. В данном случае отсутствует прямое повреждающее действие на плод, причиной его гибели является плацентарная недостаточность с развитием глубокой анемии [3].

Гематологические проявления парвовирусной инфекции обусловлены специфическим тропизмом вируса к клеткам-предшественникам эритропоэза. Попадая в костный мозг, вирус прикрепляется к рецепторам Gb4 эритробластов. В результате локальной репликации происходит временное выключение продукции ретикулоцитов, поэтому на пике виремии наблюдается аретикулоцитоз. Могут возникать нейтропения, лимфопения и тромбоцитопения. У здоровых людей с нормальным эритроидным кроветворением ретикулоцитопения и анемия длятся около 4 недель и полностью купируются за счет нового пула эритроцитов. У лиц, страдающих хроническими гемолитическими анемиями с укорочением продолжительности жизни эритроцитов (аутоиммунная гемолитическая анемия, наследственный микросфероцитоз, гемоглобинопатия, серповидно-клеточная анемия, апластическая анемия), парвовирус В19 является причиной большинства внезапных апластических кризов [1, 14]. Кроме того, пациенты с наследственными гемолитическими анемиями часто зависимы от гемотрансфузий и, следовательно, подвергаются высокому риску заражения вирусом В19 посредством компонентов донорской крови [5]. У лиц с иммунодефицитом персистирующая виремия парвовируса В19 вызывает хроническую изолированную аплазию клеток эритроидного ряда [6].

**Клинический случай.** Из анамнеза известно, что пациентка К. 28 лет отметила ухудшение самочувствия в марте 2014 г. Первыми симптомами были фебрильная лихорадка и потемнение мочи. Спустя 7 дней от начала первых клинических проявлений пациентка была доставлена бригадой скорой медицинской помощи в один из стационаров Новосибирска с уже развернутой клинической симптоматикой в виде резкой слабости, артралгий в крупных суставах, сохраняющейся фебрильной лихорадки.



При обследовании на момент госпитализации у пациентки выявлена выраженная спленомегалия  $82 \text{ см}^2$  (норма по УЗИ –  $40\text{--}45 \text{ см}^2$ ), анемия тяжелой степени (содержание эритроцитов  $1,7 \times 10^{12}/\text{л}$ , гемоглобина  $52 \text{ г/л}$ ). Степень регенераторной активности костного мозга на момент первичного обследования не известна ввиду того, что уровень ретикулоцитов не был проанализирован. Обнаружена гипербилирубинемия ( $38 \text{ ммоль/л}$ ) преимущественно за счет не прямой фракции ( $29 \text{ ммоль/л}$ ), патологии обмена железа не выявлено. Проба Кумбса (прямая и непрямая) отрицательна. Зарегистрировано снижение осмотической резистентности эритроцитов, однако результат не интерпретирован. В связи с тяжестью клинического состояния, обусловленного анемией тяжелой степени, а также в связи с беременностью пациентки (на момент госпитализации беременность III, срок 8–10 недель) после проведенной заместительной терапии (отмытые эритроциты) и купирования проявлений гемической гипоксии женщина была переведена в Городской гематологический центр (г. Новосибирск) для уточнения генеза анемии.

При первичном осмотре в Городском гематологическом центре состояние больной средней степени тяжести, кожа и видимые слизистые оболочки бледные, склеры субиктеричны. При пальпации периферические лимфатические узлы ни одной из групп не увеличены. На коже обнаружена сыпь розово-красного цвета, имеющая «кружевной» характер, напоминающая по рисунку мраморную кожу. Часть элементов сыпи имели чуть приподнятые над уровнем здоровой кожи края. Геморрагических элементов на коже не отмечено. Также обращали на себя внимание тахикардия, мягкий систолический шум во всех точках аускультации без эпицентра локализации. Пальпаторно выявлена гепатомегалия – правый край печени на  $2 \text{ см}$  выступал из-под края реберной дуги, и спленомегалия – край селезенки на  $3 \text{ см}$  ниже края реберной дуги.

В гемограмме отмечена анемия средней степени тяжести (содержание гемоглобина  $52 \text{ г/л}$  после выполнения гемотрансфузии), гиперхромная, макроцитарная (среднее содержание гемоглобина в эритроците  $30,6 \text{ пг}$ , средний объем эритроцита  $93 \text{ фл}$ ), арегенераторная (содержание ретикулоцитов  $0,1 \%$ ). В периферической крови наблюдались абсолютная и относительная нейтропения, относительный лимфоцитоз (содержание лейкоцитов  $6,0 \times 10^9/\text{л}$ , гранулоцитов  $39,5 \%$ ,  $1,9 \times 10^9/\text{л}$ ) и тромбоцитопения (содержание тромбоцитов  $68 \times 10^9/\text{л}$ ). Таким образом, изменения в гемограмме свидетельствовали о вовлечении в пато-

логический процесс всех ростков кроветворения. Сохранялась гипербилирубинемия ( $49 \text{ ммоль/л}$ ) за счет не прямой фракции ( $40 \text{ ммоль/л}$ ), патологии феррокинетики при повторном исследовании не выявлено.

При микроскопии мазка периферической крови пациентки обращала на себя внимание нетипичная морфология эритроцита – отсутствие просветления в центре клетки, соответствующего ее двояковогнутой форме. Такая морфологическая картина свойственна наследственной гемолитической анемии вследствие дефекта мембраны эритроцитов, приводящего к характерному изменению их формы (сфероциты), что укладывается в диагноз наследственного микросфероцитоза, или анемии Минковского – Шоффара. Для наследственного микросфероцитоза характерен генетически детерминированный дефект цитоскелета эритроцита, связанный с дефицитом или дисфункцией мембранных компонентов (в частности, белка спектрина), что в рамках вертикального соединения может ослабить или дестабилизировать цитоскелет и привести к нарушению морфологии эритроцита и более короткой продолжительности его жизни.

Наличие микросфероцитарной анемии у пациентки подтверждали не только особенности морфологии эритроцитов, снижение их осмотической резистентности, проявления хронического внутриклеточного гемолиза в виде спленомегалии, гипербилирубинемии за счет не прямой фракции, но и анамнез предыдущей беременности. В результате беременности II, родов I пациентка родила девочку, у которой на третьем году жизни развилась клиническая картина гемолитической анемии: анемия тяжелой степени (содержание гемоглобина  $52 \text{ г/л}$ ), желтуха. У ребенка верифицирована наследственная гемолитическая анемия Минковского – Шоффара, сама же пациентка К. отказалась от обследования на предмет наследственного заболевания крови.

Диагностированная наследственная мембранопатия у пациентки позволила объяснить ряд имеющихся клинических симптомов (фебрильная лихорадка, потемнение мочи, иктеричность склер, анемия, гепатоспленомегалия) и лабораторных отклонений (непрямая гипербилирубинемия, микросфероцитоз эритроцитов, снижение осмотической резистентности эритроцитов), что, по-видимому, было связано с хроническим внутриклеточным гемолизом. Однако только диагноз наследственного микросфероцитоза не мог объяснить трехростковые изменения в гемограмме (анемия, тромбоцитопения, нейтропения) и арегенераторный характер анемии. Кроме того, не-

понятным оставался триггер, способный спровоцировать гемолитический криз и развитие анемии тяжелой степени у молодой женщины в первом триместре беременности.

Для исключения патологии костно-мозгового кроветворения пациентке выполнена стерильная пункция. В пунктате костного мозга не выявлено признаков бластоза и атипии, но на фоне восстанавливающихся ростков кроветворения обнаружены одиночные крупные клетки (1,5 %), напоминающие вирусиндуцированные вторичные бласты, цитоморфологически идентифицированные в качестве проявления парвовирусной инфекции и имеющие типичную морфологию: крупное базофильное ядро, занимающее большую часть клетки, свободно распределенный хроматин и ядрышко.

Поскольку наличие иммунобластов в пунктате костного мозга является признаком, характерным для течения вирусной инфекции, была проведена ПЦР-детекция генетического материала возбудителей в крови пациентки. Обнаружение вирусной ДНК методом ПЦР позволило подтвердить первичное инфицирование парвовирусом В19 и тем самым объединить разрозненные клинические проявления наследственного микросфероцитоза и картины преходящего тяжелого апластического криза в единый патогенетический процесс.

Таким образом, данный клинический случай наглядно иллюстрирует особенности первичного инфицирования парвовирусом В19 у пациентки с наследственной гемолитической анемией. У больной наблюдалось длительное и малосимптомное течение хронического внутриклеточного гемолиза с минимальными клиническими проявлениями, что не позволило диагностировать анемию Минковского – Шоффара в течение первых 28 лет жизни, однако инфицирование парвовирусом В19 на фоне гемолитической анемии с укорочением продолжительности жизни эритроцитов привело к развитию внезапного апластического криза.

Обнаружение ДНК парвовируса В19 в крови женщины в первом триместре беременности является показанием к прерыванию беременности в связи с высоким риском мертворождения и внутриутробной гибели плода. Пациентка была осмотрена инфекционистом, в соответствии с полученными рекомендациями проведен курс противовирусной терапии. После улучшения самочувствия больная была переведена в отделение патологии беременности для решения вопроса о прерывании беременности по медицинским показаниям.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный клинический случай иллюстрирует особенности течения первичного инфицирования парвовирусом В19 у пациентки с наследственной гемолитической анемией, а также свидетельствует о необходимости исследования маркеров парвовирусной инфекции, которые отсутствуют в составе TORCH-панелей большинства лабораторий.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при проведении исследования и написании данной статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ананьева Л.П.* Инфекция, вызванная парвовирусом В19 // Науч.-практ. ревматология. 2002. (4). 32–35.
2. *Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю.* Парвовирус В19 человека: характеристика возбудителя, распространение и диагностика обусловленной им инфекции // Инфекции и иммунитет. 2013. 3. (4). 311–322.
3. *Никушов О.Н., Кузин А.А., Антипова А.Ю.* Парвовирусная инфекция – современная проблема в эпидемиологии и клинической медицине // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2015. 83. (4). 31–32.
4. *Пашина А.Г., Рунихина Н.К., Мокеева Е.Ю.* Инфекционная эритема: клинический случай // Рос. журн. кож. и венер. болезней. 2016. 19. (4). 206–209.
5. *Blümel J., Schmidt I., Effenberger W., Seitz H., Willkommen H., Brackmann H.H., Löwer J., Eis-Hübinger A.M.* Parvovirus B19 transmission by heat-treated clotting factor concentrates // Transfusion. 2002. 42. 1473–1481.
6. *Brown K.E., Mori J., Cohen B.J., Field A.M.* In vitro propagation of parvovirus B19 in primary fetal liver culture // J. Gen. Virol. 1991. 72. 741–745.
7. *Brown T., Anand A., Ritchie L.D., Clewley J.P., Reid T.M.S.* Intrauterine parvovirus infection associated with hydrops fetalis // Lancet. 1984. 2. 1033–1034.
8. *Corcoran A., Doyle S.* Advances in the biology, diagnosis and host-pathogen interactions of parvovirus B19 // J. Med. Microbiol. 2004. 53. 459–475.
9. *Gratacós E., Torres P.J., Vidal J., Antolin E., Costa J., Jiménez de Anta M.T., Cararach V., Alonso P.L., Fortuny A.* The incidence of human parvovirus B19 infection during pregnancy and its impact on perinatal outcome // J. Infect. Dis. 1995. 171. 1360–1363.
10. *Enders M., Weidner A., Zoellner I., Searle K., Enders G.* Fetal morbidity and mortality after acute human parvovirus B19 infection in pregnancy:

prospective evaluation of 1018 cases // *Prenat. Diagn.* 2004. 24. 513–518.

11. Heegaard E.D., Brown K.E. Human parvovirus B19 // *Clin. Microbiol. Rev.* 2002. 15. (3). 485–505.

12. Hübschen M., Mihneva Z., Mentis A.F., Schneider F., Aboudy Y., Grossman Z., Rudich H., Kasymbekova K., Sarv I., Nedeljkovic J., Tahita M.C., Tarnagda Z., Ouedraogo J.B., Gerasimova A.G., Moskaleva T.N., Tikhonova N.T., Chitadze N., Forbi J.C., Faneye A.O., Otegbayo J.A., Charpentier E., Muller C.P. Phylogenetic analysis of human parvovirus B19 sequences from eleven different countries confirms the predominance of genotype 1 and suggests the spread of genotype and suggests the spread of genotype 3b // *J. Clin. Microbiol.* 2009. 47. (11). 3735–3738.

13. Koch W.C., Harger J.H., Barnstein B., Adler S.P. Serologic and virologic evidence for frequent intrauterine transmission of human parvovirus B19 with a primary maternal infection during pregnancy // *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1998. 17. 489–494.

14. Lefrère J.J., Couroucé A.M., Bertrand Y., Girot R., Soulier J.P. Human parvovirus and aplastic crisis in chronic hemolytic anemias: a study of 24 observations // *Am. J. Hematol.* 1986. 23. (3). 271–275.

15. Luo Y., Qiu J. Human parvovirus B19: a mechanistic overview of infection and DNA replication // *Future Virol.* 2015. 10. (2). 155–167.

16. Miyagawa E., Yoshida T., Takahashi H., Yamaguchi K., Nagano T., Kiriyama Y., Okochi K., Sato H. Infection of the erythroid cell line, KU812Ep6 with human parvovirus B19 and its application to titration of B19 infectivity // *J. Virol. Methods.* 1999. 83. 45–54.

17. Nagel H.T., de Haan T.R., Vandenbussche F.P., Oepkes D., Walther F.J. Long-term outcome after fetal transfusion for hydrops associated with parvovirus B19 infection // *Obstet. Gynecol.* 2007. 109. 42–47.

18. Norbeck O., Papadogiannakis N., Petersson K., Hirbod T., Broliden K., Tolfvenstam T. Revised clinical presentation of parvovirus B19-associated intrauterine fetal death // *Clin. Infect. Dis.* 2002. 35. 1032–1038.

19. Ozawa K., Kurtzman G., Young N. Replication of the B19 parvovirus in human bone marrow cell cultures // *Science.* 1986. 233. 883–886.

20. Public Health Laboratory Service Working Party on Fifth Disease Prospective study of human parvovirus infection in pregnancy // *BMJ.* 1990. 300. 1166–1170.

21. Segata M., Chaoui R., Khalek N., Bahado-Singh R., Paidas M.J., Mari G. Fetal thrombocytopenia secondary to parvovirus infection // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2007. 196. 61–64.

22. Sosa C.E., Mahony J.B., Luinstra K.E., Sternbach M., Chernesky M.A. Replication and cytopathology of human parvovirus B19 in human umbilical cord blood erythroid progenitor cells // *J. Med. Virol.* 1992. 36. 125–130.

23. Takahashi T., Ozawa K., Takahashi K., Okuno Y., Muto Y., Takaku F., Asano S. DNA replication of parvovirus B 19 in a human erythroid leukemia cell line (JK-1) *in vitro* // *Arch. Virol.* 1993. 131. 201–208.

24. *Virology: principles and applications* / Eds. J. Carter, V. Saunders. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 2007. 137–146.

25. Weigel-Kelley K.A., Yoder M.C., Srivastava A. Recombinant human parvovirus B19 vectors: erythrocyte P antigen is necessary but not sufficient for successful transduction of human hematopoietic // *J. Virol.* 2001. 75. (9). 4110–4116.

26. Wong A., Tan K.H., Tee C.S., Yeo G.S.H. Seroprevalence of cytomegalovirus, toxoplasma and parvovirus in pregnancy // *Singapore Med. J.* 2000. 1. (4). 151–155.

27. Zavattoni M., Paolucci S., Sarasini A., Tassis B., Rustico M., Quarenghi A., Piralla A., Baldanti F. Diagnostic and prognostic value of molecular and serological investigation of human parvovirus B19 infection during pregnancy // *New Microbiol.* 2016. 39. (3). 181–185.

28. Zerbini M., Gentilomi G.A., Gallinella G., Morandi R., Calvi S., Guerra B., Musiani M. Intrauterine parvovirus B19 infection and meconium peritonitis // *Prenat. Diagn.* 1998. 18. 599–606.

## **RARE DISEASES OF THE BLOOD SYSTEM: A CLINICAL CASE OF VIRUS-ASSOCIATED BONE MARROW APLASIA IN A PATIENT WITH A HEREDITARY MEMBRANOPATHY (REVIEW)**

**Andrey Vladimirovich ZABELA, Vitaliy Sergeevich SELIVANOV,  
Tatyana Nikolaevna BABAeva, Igor Borisovich KOVYNEV**

*Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

---

The aim of study was to research and present literature data regarding the investigations of some combined types of anemia in pregnancy and to describe the clinical case of pregnancy associated with primary parvovirus B19 infection and newly diagnosed hereditary erythrocyte membrane disorder. The contemporary information about the etiology, the prevalence, structure and some features of pathogenesis of parvovirus infection based on literature data was given. The huge prevalence of this infection (according to data of different sources the serum level of parvovirus B19 specific antibodies may be detect in 90 % of population), its threat for fetus and risk of severe complications in patients with immunodeficiency, as well as possibility of development of total depression of hematopoiesis in patients with hereditary erythrocyte membrane disorders, such as Minkowsky-Chauffard disease, determine the relevance and significance of the discussed topic. Furthermore, this clinical case, which illustrates the features of primary parvovirus B19 infection in patient with hereditary hemolytic anemia and the difficulties of differential diagnosis, demonstrates the importance of parvovirus infection markers detection, which is not available in the most TORCH-panel.

---

**Key words:** parvovirus B19, HPV-B19, anemia among pregnant women, hereditary hemolytic anemia, aplastic crisis.

*Zabela A.V. – student of the 5th course of the pediatric faculty, e-mail: Zabela2018@inbox.ru*

*Selivanov V.S. – student of the 5th course of the pediatric faculty, e-mail: Gorovoy090@yandex.ru*

*Babaeva T.N. – candidate of medical sciences, assistant professor of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: babaeva\_tatyana@inbox.ru*

*Kovynov I.B. – doctor of medical sciences, associate professor, professor of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: kovin\_gem@mail.ru*



## БОЛЕЗНЬ СТИЛЛА ВЗРОСЛЫХ: АСПЕКТЫ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЙ КЛИНИКИ

Мехти Магомедович АГАКИШИЕВ<sup>1</sup>, Инна Ивановна МУЛИНА<sup>2</sup>,  
Анна Михайловна ПОПОВА<sup>3</sup>, Ирина Николаевна НЕЧУНАЕВА<sup>1</sup>,  
Людмила Михайловна МАСЛОВА<sup>1</sup>, Игорь Борисович КОВЫНЕВ<sup>3</sup>,  
Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Городской гематологический центр  
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 2

<sup>2</sup>Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины  
677013, г. Якутск, Сергеляхское шоссе, 4

<sup>3</sup>Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

В статье дан анализ литературных данных о современных подходах в диагностике и лечении болезни Стилла взрослых. Продемонстрирован клинический случай болезни Стилла, ассоциированный с синдромом лимфаденопатии. Отмечено, что диагностика болезни Стилла взрослых требует от врача исключения комплекса опухолевой, ревматологической и инфекционной патологии. Для гематолога важно не пропустить опухоль крови и не допустить диагностической ошибки. Авторами показаны критерии исключения миелобластной гематосаркомы и злокачественной лимфомы у пациента с болезнью Стилла. Отмечена важность учета клинических данных: отсутствие прогрессирующего саркомного роста лимфоузлов, отсутствие генерализации и диссеминации миелобластного субстрата по организму, купирование лихорадки стероидами и нестероидными противовоспалительными препаратами. Доказана роль мониторинга клинико-биохимических показателей крови: уровня ферритина крови, С-реактивного белка, показателей гемограммы. Показана относительная ценность данных позитронно-эмиссионной компьютерной томографии, которые могут быть ложно интерпретированы. Правильная диагностика, отказ от неверного диагноза гематологической опухоли позволит не допустить назначения миелоаблативной полихимиотерапии, которая опасна для пациента с болезнью Стилла взрослых. В статье обозначен алгоритм дифференциального диагноза, приведены критерии диагноза и подходы к терапии. Особенностью клинического случая стало выявление антител против иерсиний, встреча с инфекционным агентом могла стать пусковым механизмом развития мультисистемной формы болезни Стилла у пациентки.

**Ключевые слова:** болезнь Стилла взрослых, миелоидная саркома, дифференциальный диагноз лимфаденопатии.

В практике врача-гематолога нередки случаи, требующие проведения дифференциального диагноза опухолевого поражения лимфатических узлов алейкемической формой гемобластоза и лимфаденопатии на фоне системных заболеваний аутоиммунной природы. Эта сложная клиническая проблема имеет междисциплинарный характер и требует от специалиста широкого кру-

гозора в смежных с гематологией областях медицины. Особую актуальность тематике придают случаи, когда заболевание дебютирует многогранной неспецифической симптоматикой, например, лихорадкой неясного генеза, устойчивой к антибиотикам, поражениями кожи, генерализованной лимфаденопатией и гепатоспленомегалией. Именно такими характеристиками отличается

*Агакишиев М.М.* – врач-гематолог отделения гематологии, e-mail: [m\\_agakishiev@mail.ru](mailto:m_agakishiev@mail.ru)

*Мулина И.И.* – зав. отделением гематологии

*Попова А.М.* – врач-гематолог отделения гематологии

*Нечунаева И.Н.* – к.м.н., зав. отделением гематологии, e-mail: [nechir@mail.ru](mailto:nechir@mail.ru)

*Маслова Л.М.* – зав. городским гематологическим кабинетом, e-mail: [post\\_gem@mail.ru](mailto:post_gem@mail.ru)

*Ковынев И.Б.* – д.м.н., доцент, проф. кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, e-mail: [kovin\\_gem@mail.ru](mailto:kovin_gem@mail.ru)

*Поспелова Т.И.* – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, e-mail: [post\\_gem@mail.ru](mailto:post_gem@mail.ru)

мультисистемная форма болезни Стилла взрослых (БСВ), протекающая с яркой иммунопатологической макрофагальной и Т-клеточной реакцией с гиперплазией за счет клеточной реактивной пролиферации лимфатических узлов, селезенки и выраженной интоксикацией [6]. При этом нейтрофильно-моноцитарная лейкомоидная реакция крови, «пограничные» гистологические и иммуногистохимические характеристики биоптата лимфоузла требуют исключения как системного инфекционного процесса, так и злокачественного миелоидного гемобластоза, в частности – миелобластной гематосаркомы. В дополнение к этому, если иммунопатологический процесс отличается быстрой динамикой с формированием состояний, угрожающих жизни пациента, лечащий врач попадает в крайне сложную ситуацию.

Принятие решения о гематологическом диагнозе в этом случае диктует необходимость назначения миелоаблативных программ полихимиотерапии, которые сами по себе, в случае ошибки, угрожают иммунокомпрометированному пациенту летальным исходом [5]. С другой стороны, отказ от диагноза гемобластоза при сомнительных данных морфологического и иммуноморфологического исследований требует особых клинических обоснований и ставит врача в уязвимую позицию не оказания медицинской помощи гематологическому больному. В случае гибели пациента ситуация для врача становится и вовсе драматической, особенно перед лицом внешней экспертизы.

Сложная, многоэтапная дифференциальная диагностика требует значительного времени для постановки правильного диагноза, что является проблемой для большинства клиник во всем мире. Это подтверждается данными международных регистров. В соответствии с ними диагноз БСВ в лечебно-профилактических учреждениях развитых стран в среднем устанавливается в сроки от 4 месяцев до года, иногда затягиваясь до 3–4 лет [13]. Изложенной проблеме в медицинской литературе посвящены довольно редкие публикации, описывающие отдельные случаи БСВ и дифференциально-диагностические алгоритмы, использованные врачом в конкретной ситуации. В силу этого тема статьи актуальна для практической онкогематологии.

**Литературная справка по проблеме.** БСВ (M06.1 по МКБ10) – тяжелое мультисистемное иммуновоспалительное заболевание. Ранее она рассматривалась как своеобразная форма ревматоидного артрита, характеризующаяся тяжелым, быстро прогрессирующим суставным синдромом в сочетании с генерализованной лимфаденопатией, макулопапулезной сыпью, высокой лабора-

торной активностью, значительным похуданием, длительной лихорадкой ремиттирующего, интермиттирующего или септического характера, серонегативностью по ревматоидному и антинуклеарному фактору. Однако учитывая, что заболевание часто проявляется как системная полиорганная патология при минимальных явлениях артрита либо вовсе без него, современными авторами оно признано самостоятельной нозологией [6, 14].

Этиология БСВ неизвестна. Как для многих аутоиммунных заболеваний, признается значение генетического фактора (полиморфизмы HLA-B27), определяющего саму вероятность развития болезни и его иммунопатологический фон. Значительное внимание уделяется инфекционным агентам, выступающим своеобразными триггерами запуска иммуновоспалительного процесса, как вирусным (вирус Эпштейна – Барр, цитомегаловирус, вирус краснухи и др.), так и бактериальным (иерсениоз (*Yersinia enterocolitica*), микроплазменная инфекция и др.) [11]. Современные представления о патогенезе БСВ таковы: инфекционный фактор, активировав патоиммунный процесс, быстро утрачивает доминирующее значение в клинике, оставляя следы лишь в анамнезе и обнаруживая себя по результатам ИФА. После инфекционного старта, приведшего к гиперактивации Т-клеток и макрофагов, дальнейшая динамика определяется выбросами провоспалительных цитокинов, среди которых доминируют фактор некроза опухоли альфа и интерлейкины (IL-1, IL-18, IL-6). Именно их влияние формирует яркую клиническую картину, которая в дальнейшем развивается уже вне зависимости от инфекционного агента – как самостоятельная нозологическая форма [10].

БСВ – крайне редкая патология, она регистрируется значительно реже многих орфанных заболеваний и составляет, по данным литературы, от 1 до 1,6 случаев на 100 тыс. населения в год. Поражаются преимущественно молодые люди, причем имеет место двухфазная динамика подъема частоты – между 15–25 и 36–46 годами [8]. Клиническое коварство БСВ заключается в нескольких особенностях, прежде всего – в отсутствии специфических клинических и лабораторных признаков. Заболевание проявляется симптомами, характерными для множества других болезней и групп нозологий: аутоиммунных, опухолевых (в том числе – опухолей крови) и инфекционных. Диагноз БСВ устанавливается исключением всех этих групп заболеваний.

Таким образом, БСВ с точки зрения клиники относится к самой сложной для современной медицины группе нозологий – к так называемым

«болезням исключения» [17]. Будучи аутоиммунным системным заболеванием, БСВ, тем не менее, нередко протекает при негативных лабораторных маркерах аутоиммунного процесса, включая признаки системной красной волчанки и других системных коллагенозов. БСВ не улавливается чувствительными тестами иммуноблоттинга с НЕР-2 клетками, не имеет молекулярно-биологических либо биохимических стратификаций. С другой стороны, она проявляется симптоматикой, больше характерной для инфекционного заболевания, в виде неправильного типа лихорадки, в части случаев ненадолго купируемой нестероидными противовоспалительными препаратами (НСПВП) и даже некоторыми антибиотиками, в частности фторхинолонами.

Клиническая картина развивается стремительно с дебютом в виде немотивированной лихорадки, сыпи, болей в голе, артралгии. На основании особенностей клинического дебюта современные исследователи выделяют две формы (фенотипа) болезни Стилла взрослых:

1) острая форма с выраженной иммуновоспалительной лихорадочной реакцией и быстрой клинической эволюцией в мультисистемную (моно- или полициклическую) патологию;

2) индолентная, артритическая форма с незначительной системной симптоматикой, которая трансформируется в хроническую суставную картину и не представляет значительных проблем в диагностике.

Мультисистемная острая форма БСВ чаще всего начинается с симптомов, характерных для многих инфекционных, аутоиммунных и опухолевых заболеваний. В терапевтический стационар эти пациенты чаще всего поступают с синдромом лихорадки неясного генеза. Кроме лихорадки, устойчивой к антибиотикам широкого спектра действия, в части случаев заболевание проявляется красно-оранжевой макуло-папулезной сыпью, спонтанно регрессирующей и затем рецидивирующей. Высыпания имеют вид возвышающихся оранжево-красных папул, появляющихся на коже подмышечной, шейной области, иногда – на лице. В динамике своего развития острая мультисистемная форма БСВ часто сопровождается появлением лимфопролиферативного синдрома в виде генерализованного увеличения лимфатических узлов (лимфаденопатии) и селезенки (спленомегалии). При этом лимфоузлы редко превышают в размерах 0,8–1 см, не отличаются плотностью, подвижны, неспаяны с кожей, не образуют свищей и конгломератов, что не специфично для БСВ и характерно для реактивной лимфаденопатии при многих иммунных и инфекционных заболеваниях [3, 7].

Диагностические критерии, разработанные различными авторами, были протестированы на чувствительность и специфичность. Критерии J.J. Cush et al. [8] и M. Yamaguchi et al. [15] имеют специфичность более 92 %; чувствительность критериев M. Yamaguchi et al. выше, чем критериев J.J. Cush et al. (96 и 80 % соответственно), поэтому в настоящее время первые считаются наиболее достоверными для диагностики БСВ. К ним относятся большие критерии: 1) лихорадка  $\geq 39$  °C длительностью более одной недели, 2) артралгии продолжительностью более двух недель, 3) папулезная незудящая сыпь цвета лосося (salmon-coloured rash), 4) лейкоцитоз (более  $10 \times 10^9/\text{л}$ ) с абсолютным нейтрофилезом (более 80 %); малые критерии: 1) фарингит или боль в горле, 2) лимфаденопатия и/или спленомегалия, 3) увеличение концентрации аминотрансфераз в сыворотке крови (за счет АлАТ), 4) отрицательные ревматоидный и антинуклеарный факторы; критерии исключения: 1) инфекционный процесс, 2) злокачественные новообразования, паранеопластический синдром, 3) аутоиммунные заболевания. Диагноз устанавливается при наличии не менее пяти критериев, из которых не менее двух «большие» [14].

Иммунореактивный процесс при острой форме болезни БСВ охватывает многие органы и системы, в том числе костный мозг, селезенку и лимфатические узлы. При биопсии этих органов обнаруживается поликлональная реактивная пролиферация нейтрофильных, лимфоидных клеток (прежде всего Т-лимфоцитов), макрофагов и элементов стромы. Поэтому при позитронно-эмиссионной компьютерной томографии (ПЭТ-КТ) отмечается высокая метаболическая активность в костях, в селезенке и лимфоузлах [16]. Все это требует исключения агрессивных солидных опухолей и системных опухолевых заболеваний, таких как злокачественные лимфомы, гематосаркомы и злокачественные гистиоцитозы, что приводит пациента в гематологическую клинику. К этому стоит прибавить высокую частоту спонтанной регрессии всех проявлений патологии и таких же беспричинных рецидивов, что значительно затрудняет работу врача-клинициста по дифференциальной диагностике заболевания.

Такая многолика, яркая, динамичная, но абсолютно неспецифическая клиника сопровождается и аналогичной лабораторной параклинической картиной. Заболевание, как многие терапевтические и гематологические болезни, характеризуется неспецифическими изменениями в общем анализе крови в виде лейкомоидной реакции нейтрофильного (или нейтрофильно-моноцитарного) типа (лейкоцитоз с нейтрофилезом

со сдвигом лейкоцитарной формулы до миелоцитов), значительно ускоренной СОЭ. В биохимическом анализе крови выявляется увеличение уровня трансаминаз (в частности – АлАТ), из белков активной фазы – С-реактивного белка (СРБ) и ферритина. Гистологическая картина биоптатов внутренних органов также лишена специфичности [3, 16].

Миелобластная гематосаркома (С.92.3 по МКБ10) – редкая злокачественная опухоль системы кроветворения, состоящая из миелоидных бластных клеток, с созреванием или без созревания, пролиферирующих в очагах вне костного мозга [2]. Заболевание встречается в основном у пожилых людей, чаще – у мужчин (соотношение мужчин и женщин – 1,2 : 1), средний возраст пациентов – 56 лет (диапазон от 1 месяца до 89 лет). Этиология миелоидной саркомы такая же, как у острого миелобластного лейкоза и других миелоидных новообразований. В 20 % случаев миелобластная гематосаркома возникает у лиц, перенесших трансплантацию костного мозга [4, 14]. В клинической картине заболевания могут поражаться любые органы и ткани, наиболее часто – кожа, лимфатические узлы, желудочно-кишечный тракт, кости, мягкие ткани и яички. Менее чем в 10 % случаев миелоидная саркома представлена множественными мультиорганными поражениями [1, 4].

Опухоль отличается высокой степенью злокачественности. В клинике она представлена быстрорастущими массами опухолевой ткани. При поражении лимфатических узлов быстро (в течение нескольких недель) образуются крупные конгломераты до 10–16 см с прорастанием опухоли в окружающие органы и ткани. Ярко представлены признаки опухолевой интоксикации: немотивированная лихорадка неправильного типа, устойчивая к антибиотикам и антипиретикам, ночной профузный пот, похудание за месяц на 10–15 % от исходного веса. При диссеминации опухоли в области массивной иннервации возникает выраженный болевой синдром [12]. При вторичном поражении костного мозга опухолевыми саркоматозными миелобластами – клиническая картина недостаточности костно-мозгового кроветворения, характерная для острого миелобластного лейкоза (в общем анализе крови – анемия, нейтропения, тромбоцитопения, бластемия): геморрагический, анемический, инфекционный синдромы, которые доминируют в клинической картине [1].

При гистологическом исследовании биопсированных пораженных миелобластной гематосаркомой лимфатических узлов обнаруживается проникновение опухолевых миелобластов в паракортикальные зоны, окружающие реактивные

фолликулы, либо перинодальные пролифераты. Дифференциальный диагноз проводится в первую очередь со злокачественной лимфомой. При иммуногистохимии в парафиновых срезах опухоли опухолевые миелобласты экспрессируют маркеры CD33, CD34, CD68 (KP1, но не PGM1) и KIT (CD117). При FISH- и/или цитогенетическом исследовании примерно в 55 % случаев обнаруживаются хромосомные aberrации: моносомия 7; трисомия 8; трисомия 4; моносомия 16; потеря 16q, 5q или 20q. Полихимиотерапевтические протоколы лечения миелобластной гематосаркомы соответствуют протоколам лечения острого миелобластного лейкоза [14].

**Клинический случай.** На экспертизу качества оказания медицинской помощи поступила история болезни пациентки 26 лет, жительницы Якутии. Из анамнеза известно, что женщина заболела остро после купания в открытом водоеме. Отмечала резкий подъем температуры тела до 40 °С с ознобом, першение в горле. Несколько дней лечилась самостоятельно: принимала парацетамол с незначительным эффектом на 30–40 минут, затем лихорадка возобновлялась. Участковым терапевтом выставлен диагноз: ангина, назначен антибиотик (амоксиклав). На 5–6-й день болезни появилась папулезная сыпь на руках, бедрах, животе с кожным зудом, присоединились артралгии крупных суставов. Больная была госпитализирована в терапевтическое отделение стационара по месту жительства с диагнозом «геморрагический васкулит».

В общем анализе крови отмечен нейтрофильный лейкоцитоз  $12,6 \times 10^9/\text{л}$ , ускоренная СОЭ до 53 мм/ч, в общем анализе мочи – лейкоцитурия, протеинурия, в биохимическом анализе крови – повышение содержания СРБ и АлАТ. Больная получала антигистаминные препараты, фторхинолоны. В целях купирования высыпаний, расцененных как аллергические, в течение трех дней парентерально вводились глюкокортикостероиды. На фоне лечения состояние пациентки улучшилось: снизилась температура тела до 37 °С, уменьшилась сыпь. С диагнозом «хронический тубулоинтерстициальный нефрит», обострение; аллергическая крапивница на амоксиклав больная выписывается из стационара.

Однако через сутки лихорадка 39–40 °С рецидивирует, появляются новые высыпания, возобновляются летучие миалгии и артралгии. При осмотре терапевтом отмечалась умеренная гепатоспленомегалия и периферическая лимфаденопатия. Лимфатические узлы – мелкие до 0,8 см, одиночные всех групп. Больная госпитализируется повторно, обследуется по алгоритму лихорадки неясного генеза. В анализах: нарастает ней-



трофильный лейкоцитоз до  $19 \times 10^9/\text{л}$  со сдвигом лейкоцитарной формулы влево (23 % палочкоядерных нейтрофилов), СОЭ 63 мм/ч. Из белков активной фазы наиболее высокий уровень отмечался у СРБ и ферритина (больше референтного в 20 раз), регистрировалось увеличение содержания ЛДГ, АлАТ, АсАТ и щелочной фосфатазы при нормальном уровне билирубина и отсутствии желтухи. Обнаруживалась гипоальбуминемия при неизменной концентрации общего белка. ИФА и ПЦР-исследование на вирусные гепатиты дали отрицательный результат. В иммунограмме уровень Ig всех классов в норме, при этом в крови регистрировалось резко повышенное число Т-клеток CD3+, в основном за счет популяции CD8+, увеличение числа элементов CD25+. Ревматоидный фактор, LE-клетки, антинуклеарные антитела не обнаружены. Многочисленные посевы крови на стерильность дали отрицательные результаты, однако высокое содержание пресепсина (430 пг/мл при норме менее 200 пг/мл) позволило остановиться на диагнозе «сепсис». При этом лихорадка антибиотиками и антимикотиками не купировалась.

Пациентка настаивала на выписке и через родственников обратилась на консультацию в клинику Республики Корея, где из обследований было проведено только тотальное ПЭТ-КТ исследование. Результаты показали высокую полиорганную метаболическую активность: отмечалось поражение всех групп лимфатических узлов, костной ткани (таз, грудина, ребра, позвонки, ключицы, проксимальные метадиафизы плечевых и бедренных костей). Высказано предположение о наличии у пациентки системного лимфопролиферативного заболевания. Дальнейшее обследование в клинике Республики Корея пациенткой было прервано по экономическим мотивам.

Онкологической службой территории по диагностической квоте больную направили в федеральное онкологическое учреждение г. Москвы, в котором провели биопсию подмышечного лимфоузла. По результатам гистологического и иммуногистохимического исследования биоптата была заподозрена миелобластная гематосаркома с aberrантным иммунофенотипом. Даны рекомендации по проведению курса индукционной полихимиотерапии по схеме «7 + 3» в гематологическом отделении по месту жительства. Однако оценка клинической картины в динамике (отсутствие прогрессии лимфопролиферативного синдрома, реактивные изменения в костном мозге по результатам исследования стернального пунктата и трепанобиопсии) не позволили гематологам утвердиться в диагнозе миелобластного гемобластоза и выйти на программную полихимиотера-

пию. Дифференциальный диагноз проводился между системной ревматологической и инфекционной патологией.

Поскольку ревматологические маркеры были отрицательными, диагноз системного коллагеноза консилиумом врачей-ревматологов подтвержден не был. При повторном обследовании на инфекционную патологию были выявлены антитела против иерсиний (*Yersinia enterocolitica*, титр антител 1 : 50), что при поддержке консилиума врачей-инфекционистов позволило гематологам полностью отказаться от гемобластоза и остановиться на диагнозе «лейкемоидная реакция по смешанному типу на фоне экстраинтестинального иерсениоза», с рекомендацией продолжения обследования и лечения в клинике инфекционных болезней. Однако на комплексное противoinфекционное лечение пациентка не ответила, ее состояние ухудшилось: лихорадка и высыпания на коже прогрессировали, появились явления полисерозита. Все это потребовало вернуться к предположению об опухолевом генезе патологии.

Больная была госпитализирована в отделение химиотерапии онкогематологических заболеваний Национального медицинского исследовательского центра имени В.А. Алмазова, где на основании цитогенетического, молекулярно-генетического обследования, повторной ПЭТ-КТ и комиссионного пересмотра гистологических препаратов биоптатов диагноз гемобластоза был полностью снят. Консилиум выявил наиболее полное соответствие клинической и параклинической картины заболевания критериям М. Yamaguchi et al. БСВ с поражением мышц, суставов, кожи, ретикуло-эндотелиальной системы высокой степени активности. Однако быстро прогрессирующее ухудшение состояния пациентки в виде появления и прогрессии неврологической симптоматики и явлений синдрома активации макрофагов (гемофагоцитарного синдрома с нарастанием анемии, тромбоцитопении и нарушений гемостаза) не позволили продолжить дообследование и потребовали неотложного начала лечения. По жизненным показаниям была начата пульс-терапия глюкокортикостероидами с включением в протокол таргетных препаратов против провоспалительных цитокинов (анакинра и актемра), тофацитиниба (ингибитор молекул семейства JAK-1, 2, 3) в комбинации с массивной симптоматической терапией. К сожалению, несмотря на все усилия, полученная стабилизация состояния пациентки носила временный характер: нарастала полиорганная недостаточность, признаки синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) на этом фоне, прогрессировала неврологическая симпто-

матика (симптомы отека и вклинения головного мозга) и при явлениях рефрактерной гипотензии произошла остановка сердечной деятельности. Все мероприятия кардиореанимации оказались безуспешны.

Посмертный диагноз был следующим. Основное заболевание: лейкемоидная реакция на фоне БСВ с поражением ретикуло-эндотелиальной системы, кожи, мышц, ЦНС, суставов, высокая степень активности. Осложнения: синдром активации макрофагов. Анемия 3 ст., тромбоцитопения 4 ст., нейтропения 4 ст. Вторичный иммунодефицит. Сепсис, септический шок. Двусторонняя пневмония смешанного генеза (бактериально-грибково-вирусная). Сиалоаденит. Полисинусит. Синдром полиорганной недостаточности, ДВС-синдром. Геморрагический синдром с кровоизлиянием в кожу, подкожную клетчатку, слизистые оболочки, внутренние органы. Судорожный синдром. Реактивный менингит. Отек головного мозга с мозжечково-тенториальным вклинением. Кома III. Посерозит. Результаты патолого-анатомического вскрытия были следующими. Основное заболевание: БСВ с поражением ЦНС. Лимфоцитарный диффузный энцефалит. Осложнение основного заболевания: отек головного мозга, вклинение мозжечка и продолговатого мозга в большое затылочное отверстие. Острая сердечная недостаточность: острое венозное полнокровие печени, почек, селезенки, легких, двусторонний гидроторакс. Панцитопения (по результатам клинического анализа крови: содержание лейкоцитов  $1,6 \times 10^9/\text{л}$ , эритроцитов  $3,39 \times 10^{12}/\text{л}$ , тромбоцитов  $41 \times 10^9/\text{л}$ ). Вторичный иммунодефицит (атрофия белой пульпы селезенки, гипоклеточность костного мозга). Геморрагический синдром: множественные кровоизлияния во внутренние органы, слизистые оболочки, кожу. Паренхиматозная дистрофия почек, печени, миокарда. Почечная недостаточность (по результатам клинических анализов: содержание креатинина 128 ммоль/л, мочевины 24,1 ммоль/л).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диагностика БСВ – трудная задача, она требует от клинициста исключения целого комплекса опухолевой, ревматологической и инфекционной патологии. Для гематолога важно не пропустить диагноз гемобластоза, но столь же важно не допустить диагностирование миелоидной опухоли при ее отсутствии. У данной пациентки не было заболевания крови – ни миелобластной гематосаркомы, ни злокачественной лимфомы, ни какого-то иного. Госпитализация в гематологическое отделение позволила на основании дан-

ных динамики клинической картины заболевания (отсутствие прогрессирующего саркомного роста лимфоузлов, генерализации и диссеминации миелобластного субстрата по организму, купирование лихорадки стероидами и НСПВП) и мониторинга клинико-биохимических показателей крови (крайне высокий уровень ферритина крови и СРБ, отсутствие признаков костно-мозговой недостаточности) отвергнуть диагноз опухолевого заболевания крови, заподозренного на основании данных ПЭТ-КТ, проведенной в клинике Республики Корея, и обследования в онкологической клинике г. Москвы.

Отказ от неверного диагноза гематологической опухоли позволил якутским гематологам не допустить назначения абсолютно противопоказанного в данном случае полихимиотерапевтического протокола лечения «7 + 3», неадекватного для купирования вторичной реакции крови и смертельно опасного для пациентки в силу ее иммунокомпрометированности и неспособности перенести высокие режимы химиотерапевтических средств без прямой угрозы жизни. Таким образом, врачи-гематологи выполнили свою диагностическую задачу, установили наличие вторичной лейкемоидной реакции крови и передали пациентку на другой этап обследования. Поскольку в задачи гематологического отделения не входит постановка инфекционного или ревматологического диагноза, оказание специализированной медицинской лечебно-диагностической помощи (в соответствии с маршрутизацией и порядками оказания медицинской помощи) по этим направлениям осуществляется в профильных отделениях и центрах.

Рабочий диагноз при выписке «лейкемоидная реакция на иерсениоз» не являлся ошибкой и имел основания (титр антител 50 : 1), что было подтверждено врачом-инфекционистом. Причиной такого уровня антител против *Y. enterocolitica* в данном случае, вероятно, мог быть тот факт, что именно этот инфекционный агент послужил триггером запуска иммуновоспалительного процесса у молодой пациентки, оформившегося в последующем в категорию мультисистемной формы БСВ [11]. Лечебно-диагностическая помощь в гематологическом отделении оказана пациентке в полном объеме, необходимом для успешной дифференциальной диагностики: исключение опухоли системы крови в пользу непрофильного заболевания негематологической природы, в связи с чем экспертиза не выявила нарушений качества оказания экстренной медицинской помощи по специальности «гематология». Экспертом особо отмечен высокий профессионализм врачей гематологического отделения, вызвавшийся в

правильной клинической оценке заболевания, несмотря на авторитетное давление вводящих в заблуждение заключений предыдущих этапов обследования, проведенных в столичной и зарубежной клиниках.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при проведении исследования и написании данной статьи.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гематология: национальное руководство / ред. О.А. Рукавицын. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 13–15.
2. Клиническая онкогематология: Руководство для врачей / ред. М.А. Волкова. М.: Медицина, 2007. 309–311.
3. Мячикова В.Ю., Маслянский А.Л., Гайдукова И.З., Новикова А.Н., Карпова Д.В., Шляхто Е.В. Трудности диагностики и лечения болезни Стилла взрослых, протекавшей с экссудативным перикардитом в качестве ведущего клинического проявления // *Соврем. ревматология*. 2016. (1). 31–35.
4. Национальное руководство: алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови / ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2018. 1. 499–526.
5. Ревматология: Национальное руководство / ред. Е.Л. Насонов, В.А. Насонова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 300–350.
6. Федеральные клинические рекомендации по ревматологии, утвержденные Ассоциацией ревматологов России в 2013 г. с дополнениями от 2016 года.
7. Чичкова Н.В., Сулимов В.А., Щедрина И.С., Арутюнян Г.К. Болезнь Стилла взрослых: особенности клинического течения и трудности диагностики // *Рос. мед. журн.* 2015. (17). 1057.
8. *Cush J.J., Medsger T.A., Jr., Christy W.C., Herbert D.C., Cooperstein L.A.* Adult-onset Still's disease. Clinical course and outcome // *Arthritis Rheum.* 1987. 30. (2). 186–194.
9. *Gerfaud-Valentin M., Jamilloux Y., Iwaz J., Se've P.* Adult-onset Still's disease // *Autoimmun. Rev.* 2014. 13. (7). 708–722.
10. *Gulzar M., Sabir A., Hamdani M.A., Saadia A.* Macrophage activation syndrome associated with adult onset Still's disease // *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad.* 2018. 30. (2). 289–292.
11. *Mavragani C.P., Spyridakis E.G., Koutsilieris M.* Adult-onset Still's disease: from pathophysiology to targeted therapies // *Int. J. Inflam.* 2012. 2012. 879020.
12. *Muss H.B., Moloney W.C.* Chloroma and other myeloblastic tumors // *Blood.* 1973. 42. (5). 721–800.
13. *Pak S., Pham C.* Delay in the diagnosis of adult-onset Still's disease // *Cureus.* 2017. 7. 9. (6). e1321.
14. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues / Eds. S.H. Swerdlow, E. Campo, N.L. Harris, E.S. Jaffe, S.A. Pileri, H. Stein, J. Thiele. Lyon: IARS, 2008. 140–142.
15. *Yamaguchi M., Ohta A., Tsunematsu T., Kasukawa R., Mizushima Y., Kashiwaqi H., Kashiwazaki S., Tanimoto K., Matsumoto Y., Ota T.* Preliminary criteria for classification of adult Still's disease // *J. Rheumatol.* 1992. 19. 424–430.
16. *Yamashita H., Kubota K., Takahashi Y., Minamimoto R., Morooka M., Kaneko H., Kano T., Mimori A.* Clinical value of <sup>18</sup>F-fluoro-dexoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in patients with adult-onset Still's disease: a seven-case series and review of the literature // *Mod. Rheumatol.* 2014. 24. (4). 645–650.
17. *Yerra S., Tlhabano L., Vasamsetty T.* Case report of atypical Still's disease: a diagnosis of exclusion // *Int. Med. Case Rep. J.* 2016. 9. 321–324.

## **ADULT-ONSET STILL'S DISEASE: ASPECTS OF THE HEMATOLOGY CLINIC**

**Mekhti Magomedovich AGAKISHIEV<sup>1</sup>, Inna Ivanovna MULINA<sup>2</sup>,  
Anna Mikhaylovna POPOVA<sup>2</sup>, Irina Nikolaevna NECHUNAEVA<sup>1</sup>,  
Lyudmila Mikhaylovna MASLOVA<sup>1</sup>, Igor' Borisovich KOVYNEV<sup>3</sup>,  
Tat'yana Ivanovna POSPELOVA<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *City Hematological Center  
630051, Novosibirsk, Polzunov str., 21*

<sup>2</sup> *Republican Hospital No. 1 – National Center of Medicine  
677013, Yakutsk, Sergelyakhskoye hwy., 4*

<sup>3</sup> *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

---

The analysis of literature data on modern approaches in the diagnosis and treatment of adult-onset Still's disease has been performed. A clinical case of Still's disease associated with lymphadenopathy syndrome was demonstrated. It is noted that the diagnosis of adult Still's disease requires a doctor to exclude a complex of a tumor, rheumatological and infectious pathology. It is important for a hematologist not to miss a blood tumor and to prevent a diagnostic error. The authors showed the criteria for exclusion of myeloblastic hematosarcoma and malignant lymphoma in a patient with Still's disease. The importance of taking into account the clinical data is noted: the absence of progressive sarcomal growth of lymph nodes, the lack of generalization and dissemination of myeloblastic substrate in the body, the reduction of fever with steroids and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. The role of monitoring clinical and biochemical blood parameters has been proved such as: blood ferritin level, C-reactive protein, hemogram parameters. The relative value of positron emission computed tomography data, which can be falsely interpreted, is shown. Correct diagnosis, rejection of an incorrect diagnosis of hematological tumor will prevent the administration of myeloablative polychemotherapy, which is dangerous for an adult patient with Still's disease. The article outlines the differential diagnosis algorithm, presents the criteria for diagnosis and approaches to therapy. A feature of the clinical case was the detection of antibodies against yersenia. A meeting with an infectious agent could be a trigger for the development of a multisystem form of Still's disease in a patient.

---

**Key words:** adult-onset Still's disease, myeloid sarcoma, differential diagnosis of lymphadenopathy.

*Agakishiev M.M. – hematologist, e-mail: m\_agakishiev@mail.ru*

*Mulina I.I. – head of the department of hematology*

*Popova A.M. – hematologist of the department of hematology*

*Nechunaeva I.N. – candidate of medical sciences, head of the department of hematology, e-mail: nechir@mail.ru*

*Maslova L.M. – head of Novosibirsk municipal hematological office, e-mail: post\_gem@mail.ru*

*Kovynev I.B. – doctor of medical sciences, associate professor of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: kovin\_gem@mail.ru*

*Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, vice rector on scientific work, the head of department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post\_gem@mail.ru*



## ТЕЛОМЕРЫ И АКТИВНОСТЬ ТЕЛОМЕРАЗЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОЛЕЙКОЗЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Анна Сергеевна ЛЯМКИНА, Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА

Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

В данной статье проведен обзор данных литературы по изменению длины теломер и активности теломеразы в различные стадии хронического миелолейкоза (ХМЛ). В исследованиях показано, что из-за ускоренного оборота миелоидных клеток BCR-ABL-положительного гемопоэтического клона у пациентов с ХМЛ выявляется ускоренное укорочение длины теломер. Получены данные, что длина теломер коррелирует с оставшимся временем до прогрессирования заболевания. Таким образом, ускоренное сокращение теломер может быть расценено как признак плохого прогноза заболевания. Выявлено, что скорость уменьшения длины теломер во время прогрессирования заболевания была в 10–20 раз выше скорости, наблюдаемой в нормальных гранулоцитах и бластных клетках, то есть опухолевые образцы подверглись по меньшей мере 30–60 дополнительным делениям от базовой длины Ph-теломер. Более чем у 50 % больных бластным кризом ХМЛ наблюдалось 50-кратное увеличение активности теломеразы. В процессе терапии ХМЛ иматинибом или интерфероном-альфа обнаружено постепенное удлинение теломер при достижении цитогенетической ремиссии заболевания. Ингибирование теломеразы представляет собой новый возможный терапевтический подход к лечению миелопролиферативных и солидных опухолей. Разработаны различные терапевтические подходы к ингибированию фермента.

**Ключевые слова:** теломеры, теломераза, хронический миелолейкоз.

Создание методов культивирования клеток животных и растений *in vitro* стало важным достижением современной экспериментальной медицины. Большое количество различных культур получено из клеток злокачественных опухолей, которые могут делиться в среде бесконечное количество раз. Биологи долгое время считали, что в оптимальных условиях и нормальные клетки смогут так же бесконечно делиться. Но в начале 1960-х годов Л. Хейфлик установил, что в клеточных культурах нормальные диплоидные соматические клетки, в зависимости от возраста индивидуума, могут делиться только ограниченное количество раз (от 20–30 раз у 70-летнего человека до 80–90 раз у новорожденного). Далее клетки переходят в состояние одряхления (*senescence*), которое характеризуется изменением метаболизма и нарушением репликации ДНК, затем следует их апоптоз. Причиной гибели клеток является укорочение ДНК-белковых структур на концах хромосом – теломер (рисунок) [1].

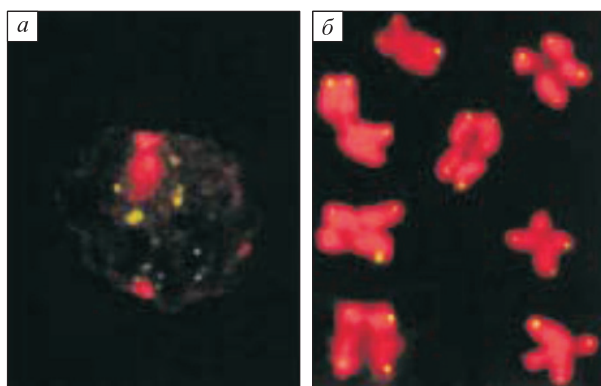
Термин «теломера» предложил Г. Мёллер еще в 1932 г. [36]. В его представлении теломера озна-

чала не только физический конец хромосомы, но и присутствие «терминального гена со специальной функцией запечатывания (пломбирования) хромосомы», которое делало ее недоступной для вредных воздействий (хромосомных перестроек, делеций, действия нуклеаз и т.д.). Наличие терминального гена не подтвердилось в последующих исследованиях, однако функция теломеры была определена точно. Теломеры во всех организмах выполняют две важные задачи: защищают концы хромосом и поддерживают их длину и целостность.

Первые работы по определению природы ДНК теломер выявили тандемную организацию коротких мономеров у широкого спектра организмов (простейших, грибов, насекомых, растений и млекопитающих) [33], что вполне соответствовало универсальному характеру их функций. Еще одна консервативная особенность теломерной ДНК – наличие относительно короткого одноцепочечного «хвоста», состоящего из G-остатков с ориентацией 5'-3' G-богатой цепи вперед к концу хромосомы. Считают, что такой выступ обеспечи-

Лямкина А.С. – к.м.н., доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии,  
e-mail: anna\_lyam@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2516-0778>

Поспелова Т.И. – д.м.н., проф., проректор по научной работе, зав. кафедрой терапии,  
гематологии и трансфузиологии, e-mail: post\_gem@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6791-0314>



**Рис.** Локализация теломер в клеточном ядре и на митотических хромосомах человека. Изображения получены с помощью флуоресцентной микроскопии. Флуоресцентную метку желто-зеленого цвета несут специфические белки теломер; ДНК в хромосомах окрашена в красный цвет: а – интерфазное ядро, из которого обработкой нуклеазами удалена основная часть ДНК, светящиеся точки теломерных белков находятся в месте расположения ядерного матрикса; б – митотические хромосомы, хорошо видно расположение теломер на их концах [1]

вает связывание теломер-специфических белков, образующих «колпак» (сар) для защиты конца хромосомы. У человека теломеры представлены одноцепочечной ДНК и состоят из несколько тысяч повторяющихся единиц последовательности GGGTTA. Длина ДНК в теломерах хромосом человека варьирует и в клетках зародышевой линии составляет 10–15, а в лейкоцитах периферической крови – 5–12 тыс. пар оснований (т. п. о.). Эти последовательности с высоким содержанием гуанина стабилизируют концы хромосом, формируя очень необычные структуры, называемые G-квадруплексами и состоящие из четырех, а не двух взаимодействующих оснований. Четыре гуаниновых основания, все атомы которых находятся в одной плоскости, образуют пластинку, стабилизированную водородными связями между основаниями и хелатированием в центре нее иона металла (чаще всего калия); пластинки располагаются стопкой друг над другом.

Основная функция теломерных участков – поддержание целостности концов хромосом. Теломеры содержат специальные последовательности ДНК, обеспечивающие точную репликацию хромосом, кроме того, они участвуют в мейотическом спаривании хромосом, их мейотической и митотической сегрегации и в организации ядра. Также теломерные концы ответственны за прикрепление хромосом к ядерным матриксам и защищают концы ДНК от деградации экзонуклеазами, предотвращают активацию системы

репарации, защищают линейные концы хромосом эукариот от деградации и слияния, тем самым поддерживая стабильность генома клетки. Аппарат репликации клетки не в состоянии обеспечить полную репликацию концов хромосом, кроме того, теломеры подвергаются воздействию нуклеаз и других деструктивных факторов. В результате при каждом делении клетки теломеры укорачиваются [2].

Первым на проблему «концевой недорепликации ДНК» обратил внимание А.М. Оловников в 1971 г. Он высказал гипотезу о том, что потеря концевых последовательностей ДНК вследствие их недорепликации ведет к старению клетки. А.М. Оловников предположил также, что в нестаряющихся клетках (а к ним кроме злокачественных относятся зародышевые, стволовые и другие генеративные клетки) должна существовать специализированная ферментативная система, которая контролирует и поддерживает длину теломерной ДНК.

У большинства организмов основным механизмом поддержания длины теломер служит достраивание теломерных повторов теломеразой [21]. Этот фермент удлиняет 3'-конец хромосомы, тогда как комплементарная цепь достраивается ДНК-полимеразами. Теломераза представляет собой рибонуклеопротеидный комплекс [3]. Коровый фермент включает в себя теломеразную обратную транскриптазу (TERT) и теломеразную РНК (TER), содержащую матричный участок для удлинения ДНК. Кроме того, в теломеразный комплекс входит ряд вспомогательных компонентов, которые обеспечивают функционирование теломеразы *in vivo*. Часть из них необходима для посадки теломеразы на теломеру в определенный момент клеточного цикла [40], другая – для регуляции ее активности [25]. Некоторые белки необходимы для созревания теломеразного комплекса и для деградации его компонентов [13]. Субстратами теломеразы в реакции являются дезоксинуклеотид-5'-трифосфаты и 3'-конец теломеры (в тестах *in vitro* это ДНК-олигонуклеотид с последовательностью, соответствующей теломерным повторам хромосом). Особое свойство, отличающее теломеразу от других РНК-зависимых ДНК-полимераз, состоит в использовании фиксированного участка специальной РНК (называемой теломеразной) в качестве матрицы для удлинения теломеры. Теломеразная РНК взаимодействует с теломерой не только на этом матричном участке, но и дополнительно в так называемом «якорном сайте». Фермент может добавлять несколько теломерных повторов за один акт присоединения к олигонуклеотидному субстрату [29].

В результате взаимодействия теломеразы с концевым участком хромосомы происходит повторное копирование матрицы, включающее этап элонгации, когда дезоксирибонуклеотиды последовательно добавляются к 3'-концу G-богатой цепи теломеры, и этап транслокации фермента на конец новообразованной цепи. В результате действия теломеразы образуется достаточно длинный 3'-конец, по которому затем достраивается комплементарная цепь. В итоге теломера становится длиннее.

РНК-компонент TER экспрессируется на постоянном уровне практически во всех клетках, и для индуцирования теломеразной активности необходима экспрессия белкового компонента фермента (TERT). Искусственно индуцированная экспрессия гена *TERT* делает клеточную культуру иммортальной (бессмертной), т.е. способной делиться неограниченно долго, отменяя тем самым для культуры предел Хейфлика. Имеются данные, что активация теломеразы связана с развитием опухолевых заболеваний [27] и что она активна в клетках, обладающих потенциалом к неограниченному делению. Известно, что теломераза активна в 85 % типов злокачественных опухолей, а в остальных 15 % случаев действуют другие механизмы поддержания длины теломер, основанные на рекомбинации [6].

Клетки большинства злокачественных опухолей характеризуются достаточно высокой активностью теломеразы, которая поддерживает длину теломер на постоянном уровне. Этот уровень заметно ниже, чем, например, у эмбриональных клеток, но он достаточен, чтобы обеспечить безграничное деление опухолевых клеток в культуре. Сравнительно небольшая длина теломер у большинства опухолевых клеток наводит на мысль о том, что они происходят из нормальных клеток, достигших предкризисного состояния. Это состояние характеризуется нарушением регуляции многих биохимических реакций. В таких клетках происходят многочисленные хромосомные перестройки, которые в том числе ведут и к злокачественной трансформации. Большинство этих клеток погибает, но в части из них в результате случайных мутаций может активироваться постоянная экспрессия генов теломеразы, которая будет поддерживать длину теломер на уровне, необходимом и достаточном для их функционирования.

С первых лет исследования теломеразы фермент стали считать универсальной мишенью, которую можно использовать при разработке противоопухолевой терапии. Решение проблемы лечения злокачественных опухолей свелось к поиску соответствующего эффективного ингибитора теломеразной активности.

**Хронический миелолейкоз (ХМЛ)** – клональное миелопролиферативное заболевание, развивающееся в результате злокачественной трансформации в ранних гемопоэтических предшественниках [19, 20]. Цитогенетическим маркером ХМЛ является приобретенная хромосомная реципрокная транслокация  $t(9;22)(q34;q11)$  между 9-й и 22-й хромосомами, в результате чего на 22-й хромосоме, которая получила название филадельфийской (Ph<sup>+</sup>), образуется химерный ген *BCR-ABL*, кодирующий белок p210BCR-ABL с высокой тирозинкиназной активностью [43]. В период установления диагноза филадельфийская хромосома выявляется в 100 % клеток костного мозга у больных ХМЛ.

Тирозинкиназы участвуют в фосфорилировании тирозина в субстратах. Тирозинкиназа p210BCR-ABL располагается в цитоплазме и имеет высокую тирозинкиназную активность [31, 35]. Известно, что белок p210BCR-ABL тирозинкиназный домен получает от гена *ABL*, а домен олигомеризации гена *BCR*, вероятно, ответственен за активацию данного фермента. Показано, что делеция домена олигомеризации гена *BCR* блокирует активность тирозинкиназы p210BCR-ABL [34, 44]. Белок p210BCR-ABL способен к аутофосфорилированию, приводящему к автономной активности клетки и, следовательно, практически полной ее независимости от внешних регуляторных механизмов. После присоединения АТФ BCR-ABL-тирозинкиназа начинает фосфорилирование различных белков, участвующих практически во всех процессах жизнедеятельности клетки. Активируется множество сигнальных путей, как усиливающих пролиферацию клетки, так и подавляющих апоптоз [32, 45]. Усиленная пролиферативная активность и снижение чувствительности к апоптотическим сигналам приводят к быстрому накоплению лейкоэмических клеток. Характерный признак ХМЛ – способность к выходу незрелых клеток в периферическую кровь [17, 41]. В патогенезе заболевания выделяются два этапа. Первый полностью регулируется сигналами, получаемыми от гена *BCR-ABL*. По мере прогрессии заболевания наряду с данной транслокацией в процесс вовлекаются другие генетические аномалии, что придает опухолевой клетке независимость как от цитокинов, так и от самой BCR-ABL-тирозинкиназы. Показано, что при трисомии 8-й хромосомы часто возникает гиперэкспрессия гена *c-myc*, являющегося ингибитором апоптоза, появление дополнительной 22-й хромосомы приводит к амплификации гена *BCR-ABL*, формирование изохромосомы 17q сопровождается инактивацией антионкогена p53. В клетках больных бластным кризом ХМЛ



выявлена гиперэкспрессия мРНК гена и увеличение уровня белка BCR-ABL и резкое усиление фосфорилирования субстратов тирозинкиназы p210BCR-ABL.

Усиление пролиферативной активности, снижение чувствительности к апоптозу, нарушение процессов дифференцировки и повышенная способность незрелых гемопоэтических клеток-предшественников к выходу из костного мозга в периферическую кровь, постепенная полная потеря зависимости от BCR-ABL-тирозинкиназы являются основными характеристиками лейкемических клеток при ХМЛ [34, 46].

**Теломеры и активность теломеразы в хронической фазе и при прогрессировании ХМЛ.** Из-за ускоренного оборота миелоидных клеток BCR-ABL-положительного гемопоэтического клона у пациентов с ХМЛ выявляется ускоренное укорочение длины теломер. В Ph<sup>+</sup> лейкоцитах периферической крови теломеры приблизительно на 1 т. п. о. короче, чем в лейкоцитах здоровых доноров аналогичного возраста [10]. Известно, что за одно деление соматические клетки теряют приблизительно 100 п. о. (50–200 п. о.) [5, 47]. Уменьшенная длина теломер в клетках в хронической фазе ХМЛ указывает, что в данной точке и в данное время лейкемические BCR-ABL-положительные гемопоэтические стволовые клетки претерпели приблизительно 10 избыточных клеточных делений по сравнению с их нормальными поликлональными аналогами. Примечательно, что длина теломер коррелирует с оставшимся временем от хронической фазы до фазы акселерации и бластного криза (до прогрессирования заболевания) [10]. Таким образом, ускоренное сокращение теломер может быть расценено как признак плохого прогноза заболевания [10, 16].

Как показано методами флуоресценции и Саузерн-блоттинга, теломеры у пациентов в фазе акселерации и бластного криза значительно короче, чем в хронической фазе [8, 10, 38]. Скорость сокращения длины теломер во время прогрессирования заболевания в 10–20 раз выше, чем в нормальных гранулоцитах и бластных клетках, т.е. опухолевые образцы подверглись по меньшей мере 30–60 дополнительным делениям [37]. Более чем у 50 % больных ХМЛ в фазе бластного криза наблюдалось 50-кратное увеличение активности теломеразы, что было связано с приобретением дополнительных цитогенетических aberrаций [7, 37]. Кроме того, более 60 % этих пациентов показали различные микросателлитные изменения в одном или нескольких локусах, что указывает на геномную нестабильность, тогда как у большинства пациентов с низкой активностью теломеразы микросателлитных изменений не обнару-

жено [37]. Таким образом, можно предположить, что механизмы, лежащие в основе генетической нестабильности при ХМЛ, например, усиление гена, анеуплоидия и потеря гетерозиготности, непосредственно связаны с дисфункциональностью теломер, а также, по-видимому, с повышенной активностью теломеразы. Показано, что высокая активность теломеразы прогностически значима и коррелирует с более короткой выживаемостью пациентов [18, 39].

**Длина теломер у пациентов с ХМЛ при лечении.** До эпохи современного таргетного лечения ингибиторами тирозинкиназы терапией выбора ХМЛ было использование интерферона-альфа в сочетании с гидроксимочевинной. Н. Iwama et al. сообщили, что в группе пациентов, получавших терапию интерфероном-альфа, у лиц с длинными теломерами бластный криз развивался реже, чем у лиц с укороченными теломерами. Кроме того, при длинных теломерах была значительная более высокая частота цитогенетических ответов и благоприятного прогноза. Авторы предположили, что увеличение длины теломер было отражением «ранней» стадии хронической фазы ХМЛ, которая позволяет получить более эффективные ответы [26].

Появление новых лекарственных препаратов, ингибиторов атипичной тирозинкиназы, коренным образом изменило прогноз течения заболевания у больных ХМЛ. Данный вид терапии сопоставим с аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток по эффективности, а по безопасности радикально превосходит ее [28]. Полученный успех терапии иматинибом отчасти может быть связан с увеличением средней длины теломер [9].

Интересно, что недавние исследования показали постоянное уменьшение длины теломер у пациентов с ХМЛ в устойчивой полной цитогенетической ремиссии, практически независимо от того, какая терапия была использована для индукции ремиссии. Этот вывод может указывать на ранее существовавший дефицит длины теломер (и потенциальное предрасположение к нему) у пациентов с ХМЛ до развития BCR-ABL-положительного гемопоэза. Кроме того, установлено, что экспрессия мРНК *hTERT* в хронической фазе у пациентов после успешного лечения иматинибом повышена по сравнению с нелеченными больными [11]. Показано, что с-ABL фосфорилирует *hTERT* и тем самым подавляет ее активность, т.е. иматиниб ингибирует *hTERT*, что приводит к удлинению теломер в BCR-ABL-положительных клетках [4, 30]. Однако при введении в мышинные клетки BaF3 и BaF3p185 *in vitro* иматиниб не влиял на активность тело-



меразы или длину теломер [24]. Кроме того, когда клетки K562 обрабатывали антисмысловыми олигонуклеотидами против мРНК BCR-ABL/c-ABL, увеличение длины теломер и содержания hTERT наблюдалось только после долгосрочного лечения клеток [4].

**Теломераза как возможная цель для новой терапевтической стратегии.** Ингибирование теломеразы представляет собой новый возможный терапевтический подход к лечению миелопролиферативных и солидных опухолей [23], разработаны различные терапевтические стратегии. Введение доминирующей отрицательной формы hTERT в различные линии опухолевых клеток человека вызывало укорочение теломер, а также ускоренное старение и апоптоз клеток [22]; в культурах клеток рака молочной железы наряду с укорочением теломер и снижением активности теломеразы оно сопровождалось повышением чувствительности опухоли к традиционной химиотерапии [12]. В BCR-ABL-позитивных ХМЛ-клетках K562 50 % расширенных клонов подверглись апоптозу после детектируемого укорочения теломер при трансдуцировании с помощью доминирующей отрицательной формы hTERT [42]. Конкурентоспособное ингибирование каталитической активности достигнуто ингибитором малых молекул BIBR1532 (Boehringer, Ingelheim), а также олигонуклеотидом GRN163L (Geron Cooperation). Оба соединения дали обнадеживающие результаты в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [14, 23, 48].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Достижения в биологии теломер при ХМЛ дали информацию о механизмах, которые являются центральными для развития болезни и возможных новых стратегиях лечения. С одной стороны, критически короткие теломеры могут вызывать старение и апоптоз, представляющий мощный механизм подавления опухолей – по крайней мере, на устойчивом генетическом фоне [15]. Но, с другой стороны, ускоренное укорочение теломер приводит к генетической нестабильности и, следовательно, может распространять приобретение вторичных генетических событий, вызывающих эволюцию болезни в фазе акселерации и бластного криза. Кроме того, хотя повышение активности теломеразы может замедлить чрезмерное укорочение теломер в хронической фазе и, тем самым, предотвратить дисфункцию теломер до некоторой степени, ее чрезмерная активность, наблюдаемая в фазе акселерации и бластного криза, ассоциируется с повышенной генетической нестабильностью и более короткой

выживаемостью пациентов и может представлять собой предпосылку для продолжения развития и эволюции болезни.

Разрабатываются различные терапевтические стратегии (в том числе проводятся некоторые ранние клинические испытания), включая конкурентное ингибирование каталитической активности hTERT небольшими молекулами. Такие подходы могут хорошо сочетаться с ингибиторами тирозинкиназы или даже с обычной химиотерапией. Однако необходимы дальнейшие исследования для понимания механизма взаимодействия между теломеразой и теломерным комплексом в разные этапы ХМЛ.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богданов А.А. Теломеры и теломераза // Сорос. образ. журн. 1998. (12). 12–18.
2. Зверева М.Э., Щербакова Д.М., Донцова О.А. Теломераза: структура, функции и пути регуляции активности // Успехи биол. химии. 2010. 50. 155–202.
3. Щербакова Д.М., Зверева М.Э., Шпанченко О.В., Донцова О.А. Теломераза: строение и свойства фермента, особенности теломеразы дрожжей // Молекул. биология. 2006. 40. (4). 580–594.
4. Bakalova R., Ohba H., Zhelev Z., Ishikawa M., Shinohara Y., Baba Y. Cross-talk between Bcr-Abl tyrosine kinase, protein kinase C and telomerase – a potential reason for resistance to Glivec in chronic myelogenous leukaemia // Biochem. Pharmacol. 2003. 66. (10). 1879–1884.
5. Blasco M.A., Lee H.W., Hande M.P., Samper E., Lansdorp P.M., DePinho R.A., Greider C.W. Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA // Cell. 1997. 91. (1). 25–34.
6. Bollmann F.M. Targeting ALT: the role of alternative lengthening of telomeres in pathogenesis and prevention of cancer // Cancer Treat. Rev. 2007. 33. 704–709.
7. Boultonwood J., Fidler C., Shepherd P., Watkins F., Snowball J., Haynes S., Kusec R., Gaiger A., Littlewood T.J., Peniket A.J., Wainscoat J.S. Telomere length shortening is associated with disease evolution in chronic myelogenous leukemia // Am. J. Hematol. 1999. 61(1). 5–9.
8. Broccoli D., Young J.W., de Lange T. Telomerase activity in normal and malignant hematopoietic cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. 92. (20). 9082–9086.

9. Brummendorf T.H., Ersoz I., Hartmann U., Bartolovic K., Balabanov S., Wahl A., Paschka P., Kreil S., Lahaye T., Berger U., Gschaidmeier H., Bokemeyer C., Hehlmann R., Dietz K., Lansdorp P.M., Kanz L., Hochhaus A. Telomere length in peripheral blood granulocytes reflects response to treatment with imatinib in patients with chronic myeloid leukemia // *Blood*. 2003. 101. (1). 375–376.
10. Brummendorf T.H., Holyoake T.L., Rufer N., Barnett M.J., Schulzer M., Eaves C.J., Eaves A.C., Lansdorp P.M. Prognostic implications of differences in telomere length between normal and malignant cells from patients with chronic myeloid leukemia measured by flow cytometry // *Blood*. 2000. 95. (6). 1883–1890.
11. Campbell L.J., Fidler C., Eagleton H., Peniket A., Kusec R., Gal S., Littlewood T.J., Wainscoat J.S., Boulwood J. hTERT, the catalytic component of telomerase, is downregulated in the haematopoietic stem cells of patients with chronic myeloid leukaemia // *Leukemia*. 2006. 20. (4). 671–679.
12. Cerone M.A., Londono-Vallejo J.A., Autexier C. Telomerase inhibition enhances the response to anti-cancer drug treatment in human breast cancer cells // *Mol. Cancer Ther.* 2006. 5. (7). 1669–1675.
13. Collins K. The biogenesis and regulation of telomerase holoenzymes // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2006. 7. 484–494.
14. Damm K., Hemmann U., Garin-Chesa P., Havel N., Kauffmann I., Priepke H., Niestroj C., Daiber C., Enenkel B., Guilliard B., Lauritsch I., Muller E., Pascolo E., Sauter G., Pantic M., Martens U.M., Wenz C., Lingner J., Kraut N., Rettig W.J., Schnapp A. A highly selective telomerase inhibitor limiting human cancer cell proliferation // *EMBO J.* 2001. 20. (24). 6958–6968.
15. Deng Y., Chan S.S., Chang S. Telomere dysfunction and tumour suppression: the senescence connection // *Nat. Rev. Cancer*. 2008. 8. (6). 450–458.
16. Drummond M., Lennard A., Brummendorf T., Holyoake T. Telomere shortening correlates with prognostic score at diagnosis and proceeds rapidly during progression of chronic myeloid leukemia // *Leuk. Lymphoma*. 2004. 45. (9). 1775–1781.
17. Durig J., Rosenthal S., Elmaagacli A., Heyworth C., Halfmeyer K., Kasper C., Novotny J., Duhrsen U. Biological effects of stroma-derived factor-1 alpha on normal and CML CD34+ haemopoietic cells // *Leukemia*. 2000. 14. (9). 1652–1660.
18. Engelhardt M., Mackenzie K., Drullinsky P., Silver R.T., Moore M.A. Telomerase activity and telomere length in acute and chronic leukemia, pre- and post-ex vivo culture // *Cancer Res.* 2000. 60. (3). 610–617.
19. Fialkow P.J., Jacobson R.J., Papayannoulou T. Chronic myelocytic leukemia: clonal origin in a stem cell common to the granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte/macrophage // *Am. J. Med.* 1997. 63. 125–130.
20. Gordon M.Y. Cellular and molecular mechanisms in chronic myeloid leukemia: biology and treatment // *Brit. J. Haematol.* 1996. 95. 10–20
21. Greider C.W., Blackburn E.H. The telomere terminal transferase of *Tetrahymena* is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity // *Cell*. 1987. 51. 887–898.
22. Hahn W.C., Stewart S.A., Brooks M.W., York S.G., Eaton E., Kurachi A., Beijersbergen R.L., Knoll J.H., Meyerson M., Weinberg R.A. Inhibition of telomerase limits the growth of human cancer cells // *Nat. Med.* 1999. 5. (10). 1164–1170.
23. Harley C.B. Telomerase and cancer therapeutics // *Nat. Rev. Cancer*. 2008. 8. (3). 167–179.
24. Hartmann U., Balabanov S., Ziegler P., Feltenberg J., van der Kuip H., Duyster J., Lipp H.P., Bokemeyer C., Kanz L., Brummendorf T.H. Telomere length and telomerase activity in the BCR-ABL-transformed murine Pro-B cell line BaF3 is unaffected by treatment with imatinib // *Exp. Hematol.* 2005. 33. (5). 542–549.
25. Hsu M., Yu E.Y., Singh S.M., Lue N.F. Mutual dependence of *Candida albicans* Est1p and Est3p in telomerase assembly and activation // *Eukaryot. Cell*. 2007. 6. (8). 1330–1338.
26. Iwama H., Ohyashiki K., Ohyashiki J.H., Hayashi S., Kawakubo K., Shay J.W., Toyama K. The relationship between telomere length and therapy-associated cytogenetic responses in patients with chronic myeloid leukemia // *Cancer*. 1997. 79. (8). 1552–1560.
27. Janknecht R. On the road to immortality: hTERT upregulation in cancer cells // *FEBS Lett.* 2004. 564. 9–13.
28. Kantarjian H.M., Talpaz M., O'Brien S., Smith T.L., Giles F.J., Faderl S., Thomas D.A., Garcia-Manero G., Issa J.P., Andreeff M., Kornblau S.M., Koller C., Beran M., Keating M., Rios M.B., Shan J., Resta D., Capdeville R., Hayes K., Albitar M., Freireich E.J., Cortes J.E. Imatinib mesylate for Philadelphia chromosome-positive chronic-phase myeloid leukemia after failure of interferon-alpha: follow-up results // *Clin. Cancer Res.* 2002. 8. 2177–2187.
29. Kelleher C., Teixeira M.T., Forstemann K., Lingner J. Telomerase: biochemical considerations for enzyme and substrate // *Trends Biochem. Sci.* 2002. 27. 572–579.
30. Kharbanda S., Kumar V., Dhar S., Pandey P., Chen C., Majumder P., Yuan Z.M., Whang Y., Strauss W., Pandita T.K., Weaver D., Kufe D. Regulation of the hTERT telomerase catalytic subunit by the c-Abl tyrosine kinase // *Curr. Biol.* 2000. 10. (10). 568–575.
31. Kloetzer W.S., Kurzrock R., Smith L., Talpaz M., Spiller M., Gutterman J., Arlinghaus R. The human cellular *abl* gene product in the chronic myelogenous leukemia cell line K-562 has associated tyrosine protein kinase activity // *Virology*. 1985. 140. 230–238.

32. Kurzrock R., Kantarjian H.M., Druker B.J., Talpaz M. Philadelphia chromosome-positive leukemias: from basic mechanisms to molecular therapeutics // *Ann. Intern. Med.* 2003. 138. (10). 819–830.
33. Louis E.J., Vershinin A.V. Chromosome ends: different sequences may provide conserved functions // *Bioessays*. 2005. 27. 685–697
34. Lugo T.G., Pendergast A.M., Muller A.J., Witte O.N. Tyrosine kinase activity and transformation potency of *bcr-abl* oncogene products // *Science*. 1990. 247. 1079–1082.
35. McWhirter J.R., Wang J.Y. Activation of tyrosinase kinase and microfilament-binding functions of c-abl by bcr sequences in bcr/abl fusion proteins // *Mol. Cell. Biol.* 1992. 11. 1553–1565.
36. Muller H.J. Further studies on the nature and causes of gene mutations // *Proc. Sixth Int. Congr. Genet.* 1932. 1. 213–255.
37. Ohyashiki K., Iwama H., Tauchi T., Shimamoto T., Hayashi S., Ando K., Kawakubo K., Ohyashiki J.H. Telomere dynamics and genetic instability in disease progression of chronic myeloid leukemia // *Leuk. Lymphoma*. 2000. 40. (1–2). 49–56.
38. Ohyashiki K., Ohyashiki J.H., Iwama H., Hayashi S., Shay J.W., Toyama K. Telomerase activity and cytogenetic changes in chronic myeloid leukemia with disease progression // *Leukemia*. 1997. 11. (2). 190–194.
39. Ohyashiki J.H., Sashida G., Tauchi T., Ohyashiki K. Telomeres and telomerase in hematologic neoplasia // *Oncogene*. 2002. 21. (4). 680–687.
40. Osterhage J.L., Talley J.M., Friedman K.L. Proteasome-dependent degradation of Est1p regulates the cell cycle-restricted assembly of telomerase in *Saccharomyces cerevisiae* // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2006. 13. 720–728.
41. Peled A., Hardan I., Trakhtenbrot L., Gur E., Magid M., Darash-Yahana M., Cohen N., Grabovsky V., Franitza S., Kollet O., Lider O., Alon R., Rechavi G., Lapidot T. Immature leukemic CD34+CXCR4+ cells from CML patients have lower integrin-dependent migration and adhesion in response to the chemokine SDF-1 // *Stem Cells*. 2002. 20. (3). 259–266.
42. Roth A., Vercauteren S., Sutherland H.J., Lansdorp P.M. Telomerase is limiting the growth of acute myeloid leukemia cells // *Leukemia*. 2003. 17. (12). 2410–2417.
43. Rowley J.D. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia giemsa starting // *Nature*. 1973. 243. 290–303.
44. Smith K.M., Yacobi R., van Etten R.A. Autoinhibition of Bcr-Abl through its SH3 domain // *Mol. Cell*. 2003. 12. 27–37.
45. Steelman L.S., Pohnert S.C., Shelton J.G., Franklin R.A., Bertrand F.E., McCubrey J.A. JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, P13K/Akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis // *Leukemia*. 2004. 18. (2). 189–218.
46. Van Etten R.A. Cycling, stressed-out and nervous of c-abl // *Trend Cell. Biol.* 1999. 9. 179–186.
47. Vaziri H., Dragowska W., Allsopp R.C., Thomas T.E., Harley C.B., Lansdorp P.M. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1994. 91. (21). 9857–9860.
48. Ward R.J., Autexier C. Pharmacological telomerase inhibition can sensitize drug-resistant and drug-sensitive cells to chemotherapeutic treatment // *Mol. Pharmacol.* 2005. 68. (3). 779–786.

## **TELOMERES AND TELOMERASE ACTIVITY IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA (REVIEW)**

**Anna Sergeevna LYAMKINA, Tatyana Ivanovna POSPELOVA**

*Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

---

A review of literature data on the change in telomere length and telomerase activity at various stages of chronic myeloid leukemia (CML) has been performed. It has been shown that telomere length is reduced faster in the BCR-ABL-positive cells due to their rapid division. It has been reported that telomere length correlates with the remaining time until the disease progresses. Thus, the accelerated reduction of telomeres can be regarded as a sign of a poor prognosis of the disease. It was found that the rate of contraction of telomere length during the progression of the disease was 10–20 times higher than that observed in normal granulocytes and blast cells (tumor samples underwent at least 30–60 additional divisions from the base length of Ph-telomeres). More than 50 % of patients with CML (blast crisis) had a 50-fold increase in telomerase activity. The length of telomeres gradually increased when the cytogenetic response was achieved in the treatment of CML by imatinib or interferon-alpha. Inhibition of telomerase is a new possible therapeutic approach to the treatment of myeloproliferative and solid tumors. Various therapeutic approaches to the inhibition of telomerase have been developed.

---

**Key words:** telomeres, telomerase, chronic myeloid leukemia.

*Lyamkina A.S. – candidate of medical sciences, docent at the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: anna\_lyam@mail.ru*

*Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, vice-rector for research, head department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post\_gem@mail.ru*



## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ТРОМБОФИЛИИ И ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ РАЗНЫХ ФЕНОТИПОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ И ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЕЙ

Татьяна Юрьевна ПОЛЯНСКАЯ, Ирина Серафимовна ФЕВРАЛЕВА,  
Евгений Евгеньевич КАРПОВ, Надежда Викторовна САДЫКОВА,  
Магомед Султанович САМПИЕВ, Георгий Владимирович МИШИН,  
Александр Викторович ГОЛОБОКОВ, Дмитрий Юрьевич ПЕТРОВСКИЙ,  
Анастасия Александровна КОРОЛЕВА, Геннадий Мартинович ГАЛСТЯН,  
Андрей Борисович СУДАРИКОВ, Владимир Юрьевич ЗОРЕНКО

Национальный медицинский исследовательский центр гематологии Минздрава России  
125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4

**Цель** – исследовать у больных гемофилией наличие генетических маркеров тромбофилии, которые могут повлиять на течение заболевания и способствовать тромботическим осложнениям. **Материал и методы.** В исследование вошли 96 больных с тяжелой формой гемофилии: 75 (78,1 %) человек – с гемофилией А, 16 (16,7 %) – с гемофилией В, 5 (5,2 %) – с ингибиторной формой. Средний возраст пациентов составил 39,6 года. Всем больным по поводу тяжелой гемофилической артропатии выполнено оперативное вмешательство в объеме эндопротезирования коленного или тазобедренного сустава, а также исследование на наличие полиморфизма генов тромбофилии. **Результаты.** У 93 больных присутствовала либо гетерозиготная, либо гомозиготная форма полиморфизма маркеров тромбофилии. У 15 (15,6 %) пациентов выявлен полиморфизм одного из маркеров, у 78 (81,3 %) – сочетание нескольких маркеров. У пациентов с гемофилией В гомозиготные мутации в гене метилентетрагидрофолатредуктазы *MTHFR* (A1298C и C677T) встречались более чем в 2 раза чаще, чем у лиц с гемофилией А. Частота встречаемости полиморфизма генов фактора V (G1691A), *MTHFR* (C677T) и ингибитора активации плазминогена первого типа в исследуемой группе больных гемофилией выше, чем в общей российской популяции. **Заключение.** Выявленная высокая частота полиморфизмов генов тромбофилии и их сочетание в исследованной группе больных гемофилией могут оказывать влияние на клиническое течение заболевания и приводить к тромботическим осложнениям.

**Ключевые слова:** гемофилия, фенотипы гемофилии, полиморфизм генов тромбофилии.

**Полянская Т.Ю.** – к.м.н., старший научный сотрудник, врач-травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения, e-mail: polyan.tatyana@mail.ru, polyantat@rambler.ru, SPIN-код: 2780-8122, <http://orcid.org/0000-0002-4143-3094>

**Февралева И.С.** – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии, e-mail: irina\_fevraleva@mail.ru, SPIN-код: 5695-2088

**Карпов Е.Е.** – врач-травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения, e-mail: karпов.evg@mail.ru, SPIN-код: 5476-6219, <http://orcid.org/0000-0003-1464-8652>

**Садыкова Н.В.** – врач-травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения, e-mail: v.nadenka12@mail.ru, SPIN-код: 5051-8628, <http://orcid.org/0000-0001-7140-2152>

**Сампиев М.С.** – врач-травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения, e-mail: DoctorSampiev@mail.ru, SPIN-код: 1618-2097, <http://orcid.org/0000-0001-9285-5206>

**Мишин Г.В.** – врач-травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения, e-mail: georgiy-mishin@yandex.ru, SPIN-код: 4298-5538, <http://orcid.org/0000-0001-5111-0881>

**Голобоков А.В.** – врач-травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения, e-mail: golobokov\_aleks@mail.ru, SPIN-код: 1393-6761, <http://orcid.org/0000-0002-2962-1455>

**Петровский Д.Ю.** – врач-травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения, e-mail: d.petrovskii@yandex.ru, SPIN-код: 3147-1473, <http://orcid.org/0000-0002-5361-4765>

**Королева А.А.** – врач-ординатор-травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения, e-mail: nastena\_19-88@mail.ru

**Галстян Г.М.** – д.м.н., врач-анестезиолог-реаниматолог, зав. отделением реанимации и интенсивной терапии, e-mail: gengalst@gmail.com, SPIN-код: 5861-0842, <https://orcid.org/0000-0001-8818-8949>

**Судариков А.Б.** – д.б.н., зав. лабораторией молекулярной гематологии, e-mail: dusha@blood.ru, SPIN-код: 5740-2937, <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

**Зоренко В.Ю.** – д.м.н., врач-травматолог-ортопед, зав. травматолого-ортопедическим отделением, e-mail: v.zorenko@mail.ru, SPIN-код: 4047-5400, <http://orcid.org/0000-0002-2049-850X>

Гемофилия – редкое врожденное, сцепленное с X-хромосомой заболевание, характеризующееся повышенной кровоточивостью, вызванной дефицитом фактора VIII (гемофилия А) или фактора IX (гемофилия В). Специфической особенностью гемофилии является поражение опорно-двигательного аппарата вследствие повторных геморрагий [1]. Интенсивность и частота геморрагического синдрома у больных с одной и той же формой гемофилии часто варьируют. До настоящего времени нет убедительных данных, объясняющих разное клиническое течение при одной и той же тяжести гемофилии. У 44 % пациентов с тяжелой формой заболевания первые эпизоды кровотечений происходят на первом году жизни, в то время как у остальных кровотечения возникают после года и до 4 лет [16, 18]. В литературе имеются сведения, что у 45 % больных гемофилией с одинаковым исходным уровнем активности фактора VIII частота внутрисуставных кровоизлияний в 2 раза реже, чем у остальных 55 % пациентов [17]. Французские ученые приводят данные, что у 9 % молодых взрослых пациентов с тяжелой формой гемофилии, которым проводится гемостатическая терапия только по требованию, не было каких-либо внутрисуставных кровотечений [14]. На фенотип заболевания может влиять наличие генетических факторов тромбофилии, снижая частоту спонтанных кровотечений [8, 10, 13, 15].

В настоящее время продолжительность жизни больных гемофилией практически не отличается от таковой в общей популяции [9]. У пациентов появились сопутствующие заболевания, которые сами по себе могут вызвать тромботические осложнения (атеросклероз, гипертоническая болезнь, аутоиммунные заболевания, злокачественные новообразования, сахарный диабет и другие), а при наличии факторов тромбофилии риски тромбозов значительно возрастают. Больным гемофилией в настоящее время проводят любые хирургические вмешательства, в том числе и большие ортопедические, такие как эндопротезирование суставов, которые повышают риск развития тромбозов. Сообщения о возникновении тромбозов у больных гемофилией появляются все чаще [2, 11, 12].

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В проспективное исследование вошло 96 больных с тяжелой формой гемофилии, которые находились на стационарном лечении в отделении реконструктивно-восстановительной ортопедии для больных гемофилией Национального медицинского исследовательского центра гема-

тологии. Всем пациентам по поводу гемофилической артропатии выполнено оперативное вмешательство в объеме эндопротезирования коленного или тазобедренного сустава. Из 96 пациентов у 75 (78,1 %) была гемофилия А, у 16 (16,7 %) – гемофилия В и у 5 (5,2 %) – ингибиторная форма гемофилии. Пациенты были в возрасте от 23 до 68 лет, средний возраст 39,6 года. Всем больным проводилось стандартное предоперационное лабораторно-инструментальное исследование, принятое в Национальном медицинском исследовательском центре гематологии. Образцы ДНК крови пациентов с помощью мультиплексной аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени (AC-ПЦР-РВ) [5] были протестированы на наличие следующих генетических маркеров тромбофилии: полиморфизмы G1691A в гене *F5* (ген фактора свертывания V, FV), G20210A и T165M в гене *F2* (ген фактора свертывания II, FII), C677T и A1298C в гене *MTHFR* (ген метилентетрагидрофолатредуктазы), 4G/5G в гене ингибитора активации плазминогена первого типа (PAI-1).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Полиморфизм генов тромбофилии не был выявлен только у 3 (3,1 %) из 96 исследуемых пациентов. У остальных 93 больных присутствовала либо гетерозиготная, либо гомозиготная форма полиморфизма маркеров тромбофилии, у 15 (15,6 %) из них – полиморфизм одного из маркеров, у 78 (81,3 %) – сочетание нескольких. Полученные результаты представлены в табл. 1. У 12 (12,5 %) пациентов одновременно были гетерозиготные мутации C677T и A1298C в гене *MTHFR*. Среди пациентов с гемофилией В гомозиготные мутации в гене *MTHFR* встречались в пяти (31,25 %) случаях, что более чем в 2 раза чаще, чем у пациентов с гемофилией А (11 (14,7 %) человек) (см. табл. 1). Два пациента (2,08 %) (один с гемофилией А и один с ингибиторной формой) были одновременно носителями гетерозиготного полиморфизма генов FV (G1691A) и FII (T165M), которые в комбинации являются высокими факторами риска развития тромботических осложнений. Ни у одного из больных не выявлено гомозиготного варианта по аллелю гена FV (G1691A) и протромбина FII (G20210A). Полученные данные мы сравнили с данными полиморфизма основных генов тромбофилии в общей российской популяции [4, 6, 20] (табл. 2). В группе обследованных больных гемофилией частота встречаемости полиморфизма генов тромбофилии, таких как кодирующих FV (G1691A), *MTHFR* (C677T) и PAI-1, несколько выше, чем в общей российской популяции.

Таблица 1

Распределение больных в зависимости от наличия генетических маркеров тромбофилии, n (%)

Маркер		Гемофилия А	Гемофилия В	Ингибиторная гемофилия	Всего
FV (G1691A)	hom	0	0	0	0
	het	5 (6,7 %)	1 (6,25 %)	1 (20 %)	7 (7,29 %)
MTHFR (C677T)	hom	5 (6,7 %)	3 (18,75 %)	1 (20 %)	9 (9,38 %)
	het	29 (38,7 %)	5 (31,25 %)	2 (40 %)	36 (37,5 %)
MTHFR (A1298C)	hom	6 (8 %)	2 (12,5 %)	0	8 (8,33 %)
	het	33 (44 %)	5 (31,25 %)	1 (20 %)	39 (40,63 %)
FII (G20210A)	hom	0	0	0	0
	het	1 (1,3 %)	0	0	1 (1,04 %)
FII (T165M)	hom	6 (8 %)	0	0	6 (6,35 %)
	het	20 (26,67 %)	3 (18,75 %)	2 (40 %)	25 (20,04 %)
PAI-1	hom	27 (37,3 %)	6 (37,5 %)	1 (20 %)	34 (35,4 %)
	het	35 (46,7 %)	7 (43,75 %)	1 (20 %)	43 (44,79 %)

Примечание. hom – гомозиготные мутации, het – гетерозиготные мутации.

Таблица 2

Полиморфизм генетических маркеров тромбофилии у обследованных больных гемофилией и в общей популяции России

Маркер	В общей российской популяции, %	Обследованные больные гемофилией, %
FV (G1691A)	3,2–3,5	7,29
FII (G20210A)	1,74	1,04
MTHFR (C677T)	29–42	46,88
PAI-1	50–70	80,2

Необходимо отметить, что у одного пациента 60 лет с тяжелой формой гемофилии А и гетерозиготной мутацией гена *MTHFR* (C677T) после эндопротезирования коленного сустава в раннем послеоперационном периоде развился тромбоз подколенной и поверхностной бедренной вен. Гемостатическая терапия в послеоперационном периоде проводилась в стандартных режимах, фактор свертывания VIII поддерживался на уровне 90–100 %. После выявления тромбозов пациента вели в естественной гипокоагуляции, снизив дозы вводимого препарата фактора VIII, в крови его содержание поддерживалось на уровне 17–20 %. На 3-и сутки после снижения доз вводимого фактора отмечался регресс клинических проявлений тромбозов, в течение 7 дней наступила полная реканализация вен. Известно также, что у одного пациента 51 года с ингибиторной формой гемофилии и наличием сочетанного полиморфизма маркеров тромбофилии (гетерозигота FV (G1691A), гомозигота MTHFR (C677T) и гомозигота PAI-1) развился инфаркт миокарда, когда он находился дома. Гемостатическую терапию

больной проводил по требованию препаратом эптакон альфа активированный (rFVIIa); достоверных данных, когда и в каких дозах в условиях домашнего лечения он вводил препарат rFVIIa до развития острого инфаркта миокарда, нет.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

В современной литературе широко обсуждается наличие разных фенотипов одной и той же формы гемофилии. По мнению одних авторов, наличие полиморфизма генов тромбофилии приводит к снижению частоты гемартрозов у больных гемофилией [14, 16–18]. Отмечено, что у больных с тяжелой формой гемофилии первый гемартроз в детском возрасте развивается значительно позже, чем у пациентов без вышеупомянутых маркеров. Однако данную точку зрения не разделяют исследователи, которые не нашли взаимосвязи между наличием полиморфизма генов тромбофилии и клинических проявлений у своих больных с тяжелой формой гемофилии [7, 8, 19].

В нашем исследовании трудно проследить взаимосвязь между наличием маркеров тромбофилии и клинической картиной, так как у всех пациентов были тяжелые артропатии, потребовавшие проведения эндопротезирования. Более того, все они стали получать заместительную гемостатическую терапию препаратами факторов свертывания крови только во взрослом состоянии. Отследить, в каком именно возрасте у обследованных произошло первое кровотечение, не представлялось возможным. Для того чтобы определить взаимосвязь между наличием полиморфизма маркеров тромбофилии и фенотипами гемофилии, необходимо более детальное исследование на большем количестве пациентов. Однако обращает на себя внимание наличие большого количества полиморфизмов генов тромбофилии в группе исследуемых пациентов, а также сочетание мутаций по нескольким аллелям, что может значительно усугублять тромбогенность. В современной литературе все чаще появляются сообщения о развитии венозных тромбозов у больных гемофилией, одним из предрасполагающих факторов которых является полиморфизм генов тромбофилии [2, 11, 12]. Интересно отметить, что частота встречаемости полиморфизма генов, кодирующих FV (G1691A), MTHFR (C677T) и PAI-1, в исследуемой группе больных гемофилией выше, чем в общей российской популяции, что согласуется с данными аналогичного исследования, проведенного в Алтайском крае на меньшем количестве пациентов [3]. Более того, у обследованных нами пациентов с гемофилией В частота встречаемости гомозиготного полиморфизма MTHFR (C677T) более чем в 2 раза выше, чем при гемофилии А. Таким образом, у пациентов с гемофилией В риск развития тромботических осложнений при хирургических вмешательствах, наличии сопутствующих заболеваний и критических состояниях выше, чем при гемофилии А. Не стоит забывать, что и у больных с ингибиторной формой гемофилии наличие полиморфных генов тромбофилии может привести к тромботическим осложнениям, особенно при применении больших доз препаратов с шунтирующими механизмами действия.

Данные о развившихся тромбозе и инфаркте миокарда у пациентов с тяжелой формой гемофилии и с ингибиторной формой свидетельствуют о том, что при наличии полиморфизма генов тромбофилии и провоцирующих факторов, таких как хирургические вмешательства, интенсивная гемостатическая терапия и сопутствующие заболевания, у больных гемофилией возрастает риск развития тромботических осложнений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлена высокая частота встречаемости полиморфизма генов тромбофилии и сочетание нескольких маркеров тромбофилии у больных гемофилией, что может оказывать влияние на клиническое течение заболевания и приводить к тромботическим осложнениям.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование, данные которого изложены в статье, выполнено в рамках оказания высокой технологичной помощи больным гемофилией.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баркаган З.С. Введение в клиническую гемостазиологию. М.: Ньюдиамед-АО, 1998. 56 с.
2. Галстян Г.М., Полеводова О.А., Гавриш А.Ю., Полянская Т.Ю., Зоренко В.Ю., Самтеев М.С., Бирюкова Л.С., Модел С.В., Горгидзе Л.А., Савченко В.Г. Тромботические осложнения у больных гемофилией // Терапевт. арх. 2017. (7). 76–84.
3. Копылов А.Н., Елыкомов В.А., Гридчина А.В. Полиморфизмы генов системы гемостаза у больных гемофилией // Евраз. союз ученых. 2015. (4-7). 122–124.
4. Момот А.П., Ройтман Е.В., Елыкомов В.А., Свириш П.В., Ольховский И.А., Жарков П.А., Цыпкина Л.П., Кузнецов Н.Н., Сердюк Г.В., Федоров А.В., Филипенко М.Л., Боярских У.А., Плюшкин В.А., Шкрябунова В.В., Лобанов Ю.Ф. Протокол ведения Всероссийского регистра «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование и тромбопрофилактика тромбозомболических осложнений в онтогенезе» // Тромбоз, гемостаз и реология. 2010. (3). 30–78.
5. Февралева И.С., Рисинская Н.В., Сударишников А.Б. Выявление основных маркеров тромбофилии в паре донор/реципиент при ТКМ // Вестн. гематологии. 2018. 14. (2). 49–50.
6. Фетисова И.Н., Добролюбов А.С., Лутин М.А., Поляков А.В. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека // Вестн. нов. мед. технологии. 2007. 10. (1). 91–96.
7. Ar M.C., Baykara O., Buyru A.N., Baslar Z. The impact of prothrombotic mutations on factor consumption in adult patients with severe hemophilia // Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2009. 15. (6). 660–665.



8. *Arbini A.A., Mannucci P.M., Bauer K.A.* Low prevalence of the factor V Leiden mutation among «severe» hemophiliacs with a «milder» bleeding diathesis // *Thromb. Haemost.* 1995. 74. 1255–1258.
9. *Dolan G.* The challenge of an ageing hemophilic population // *Haemophilia*. 2010. 16. 11–16.
10. *Escuriola E.C., Halimeh S., Kurnik K. et al.* Symptomatic onset of severe hemophilia A in childhood is dependent on the presence of prothrombotic risk factors // *Thromb. Haemost.* 2001. 85. 218–220.
11. *Hermans C.* Venous thromboembolic disease in patients with haemophilia // *Thromb. Res.* 2012. 130. (Suppl. 1). S50–S52.
12. *Kashyap R., Sharma L.M., Gupta S., Saxena R., Srivastava D.N.* Deep vein thrombosis in a patient with severe haemophilia A // *Haemophilia*. 2006. 12. 87–89.
13. *Lee D.H., Walker I.R., Teitel J., Poon M.C., Ritchie B., Akabutu J., Sinclair G.D., Pai M., Wu J.W., Reddy S., Carter C., Growe G., Lillicrap D., Lam M., Blajchman M.A.* Effect of the factor V Leiden mutation on the clinical expression of severe hemophilia A // *Thromb. Haemost.* 2000. 83. 387–391.
14. *Molho P., Rolland N., Lebrun T., Dirat G., Courpied J.P., Crougns T., Duprat I., Sultan Y.* Epidemiological survey of the orthopaedic status of severe haemophilia A and B patients in France // *Haemophilia*. 2000. 6. 23–32.
15. *Nichols W.C., Amano K., Cacheris P.M., Figueiredo M.S., Michaelides K., Schwaab R., Hoyer L., Kaufman R.J., Ginsburg D.* Moderation of hemophilia A phenotype by the factor V R506Q mutation // *Blood*. 1996. 88. 1183–1187.
16. *Pollmann H., Richter H., Ringkamp H., Jurgens H.* When are children diagnosed as having severe haemophilia and when do they start to bleed? A 10-year single-centre PUP study // *Eur. J. Pediatr.* 1999. 158. (Suppl. 3). S166–S170.
17. *Rainsford S.G., Hall A.* A three-year study of adolescent boys suffering from haemophilia and allied disorders // *Br. J. Haematol.* 1973. 24. (5). 539–551.
18. *Ramgren O.* Haemophilia in Sweden. III. Symptomatology, with special reference to differences between haemophilia A and B // *Acta Med. Scand.* 1962. 171. 237–242.
19. *Tuten H., Cam H., Ozdemir N., Bezgal F., Buyru N., Zulfikar B., Celkan T.* Effect of prothrombotic mutations on factor consumption in children with hemophilia // *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2013. 19. (4). 445–448.
20. *Zoller B., Garcia F.P., Hillarp A., Dahlback B.* Thrombophilia as a multigenic disease // *Haematologica*. 1999. 84. 59–70.

## POLYMORPHISM OF THROMBOPHILIA GENES AND THEIR ROLE IN DEVELOPMENT OF DIFFERENT DISEASE PHENOTYPES AND THROMBOTIC COMPLICATIONS IN HEMOPHILIA PATIENTS

Tatyana Yuryevna POLYANSKAYA, Irina Serafimovna FEVRALEVA,  
Evgeniy Evgenyevich KARPOV, Nadezhda Viktorovna SADYKOVA,  
Magomet Sultanovich SAMPIEV, Georgiy Vladimirovich MISHIN,  
Aleksandr Viktorovich GOLOBOKOV, Dmitriy Yuryevich PETROVSKIY,  
Anastasiya Aleksandrovna KOROLEVA, Gennadiy Martinovich GALSTYAN,  
Andrey Borisovich SUDARIKOV, Vladimir Yuryevich ZORENKO

National Research Center for Hematology of Minzdrav of Russia  
125167, Moscow, Novyy Zhykovsky dr., 4

**Objective** was to study genetic markers of thrombophilia in patients with hemophilia, which can affect the course of the disease and contribute to thrombotic complications. **Material and methods.** The study included 96 patients with severe hemophilia: 75 (78.1 %) – hemophilia A, 16 (16.7 %) – hemophilia B, 5 (5.2 %) – hemophilia with inhibitor form. All patients were with severe hemophilic arthropathy and underwent knee or hip replacement. The average age of patients was 39.6 years. All patients were examined for markers of thrombophilia. **Results.** Ninety three patients had either a heterozygous or homozygous form of thrombophilia marker polymorphism. One of thrombophilia markers was present in 15 (15.6 %) patients and in 78 (81.3 %) there was a combination of several markers. In patients with hemophilia B homozygous mutations in the *MTHFR* gene (A1298C and C677T) were more than 2 times more frequent than in patients with hemophilia A. **Conclusion.** The frequency of occurrence of polymorphism of FV (G1691A), *MTHFR* (C677T) and PAI-1 in the studied group of patients with hemophilia is higher than in the general Russian population.

**Key words:** hemophilia, hemophilia phenotypes, thrombophilia gene polymorphism.

*Polyanskaya T.Yu.* – candidate of medical sciences, senior researcher, orthopedic surgeon of department of traumatology and orthopedics, e-mail: polyan.tatyana@mail.ru or polyantat@rambler.ru

*Fevraleva I.S.* – candidate of biological sciences, senior researcher of laboratory of molecular hematology, e-mail: irina\_fevraleva@mail.ru

*Karpov E.E.* – orthopedic surgeon of department of traumatology and orthopedics, e-mail: karpov.evg@mail.ru

*Sadykova N.V.* – orthopedic surgeon of department of traumatology and orthopedics, e-mail: v.nadenka12@mail.ru

*Sampiev M.S.* – orthopedic surgeon of department of traumatology and orthopedics, e-mail: DoctorSampiev@mail.ru

*Mishin G.V.* – orthopedic surgeon of department of traumatology and orthopedics, e-mail: georgiy-mishin@yandex.ru

*Golobokov A.V.* – orthopedic surgeon of department of traumatology and orthopedics, e-mail: golobokov\_aleks@mail.ru

*Petrovskiy D.Yu.* – orthopedic surgeon of department of traumatology and orthopedics, e-mail: d.petrovskii@yandex.ru

*Koroleva A.A.* – medical doctor of department of traumatology and orthopedics, e-mail: nastena\_19-88@mail.ru

*Galstyan G.M.* – doctor of medical sciences, anesthesiologist-resuscitator, head of the department of resuscitation and anesthesiology, e-mail: gengalst@gmail.com

*Sudarikov A.B.* – doctor of biological sciences, head of laboratory of molecular hematology, e-mail: dusha@blood.ru

*Zorenko V.Yu.* – doctor of medical sciences, orthopedic surgeon, head of department of traumatology and orthopedics, e-mail: v.zorenko@mail.ru

## ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООКРУЖЕНИЯ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ ДО И ПОСЛЕ ТЕРАПИИ

Виктор Иванович РУГАЛЬ<sup>1</sup>, Станислав Семенович БЕССМЕЛЬЦЕВ<sup>1</sup>,  
Наталья Юрьевна СЕМЕНОВА<sup>1</sup>, Сергей Васильевич ГРИЦАЕВ<sup>1</sup>,  
Иван Иванович КОСТРОМА<sup>1</sup>, Натэлла Иосифовна ЕНУКАШВИЛИ<sup>2</sup>,  
Анна Вадимовна ЧУБАРЬ<sup>3</sup>, Дмитрий Александрович ИВОЛГИН<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России  
193024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16

<sup>2</sup> Институт цитологии РАН  
194064, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., 4

<sup>3</sup> Покровский банк стволовых клеток  
199106, г. Санкт-Петербург, Большой просп. В.О., 85

**Цель исследования** – оценить морфофункциональные особенности опухолевого микроокружения и культуральные характеристики мезенхимных стромальных клеток (МСК) у пациентов с множественной миеломой (ММ) до и после терапии. **Материал и методы.** Изучена паренхиматозная и стромальная ткань костного мозга в трепанобиоптатах подвздошной кости 32 больных ММ в возрасте от 48 до 78 лет (медиана возраста 56 лет) до и после терапии заболевания. В работе использовались гистологические, иммуногистохимические и культуральные методы исследований. **Результаты и их обсуждение.** У всех пациентов установлены изменения стромального микроокружения костного мозга: увеличение плотности микрососудов, количества эндостальных стромальных клеток, усиление ретикулинового фиброза. Повышенный ангиогенез коррелирует с количеством плазматических клеток в миелограмме ( $r = 0,58$ ;  $p < 0,05$ ), с типом инфильтрации костного мозга ( $r = 0,85$ ;  $p < 0,05$ ), а также с остеодеструктивными изменениями в анамнезе больного ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,05$ ). Показаны существенные изменения в культурах МСК как до, так и после терапии, включая аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток. В МСК костного мозга больных ММ по сравнению со здоровыми донорами были снижены скорость пролиферации (в среднем в 2,4 раза) и общее время пассирования (с 7 до 5 пассажей), увеличена экспрессия маркеров, ассоциированных с миофибробластоподобным фенотипом и старением (гладкомышечный актин,  $\beta$ -галактозидаза). **Заключение.** Культуры МСК и нишеформирующие элементы костного мозга пациентов с ММ обладают чертами опухоль-ассоциированного микроокружения, несмотря на проведенное лечение основного заболевания.

**Ключевые слова:** множественная миелома, костный мозг, ниша гемопоэтических стволовых клеток, АутоТГСК, микроокружение, ангиогенез.

**Ругаль В.И.** – д.м.н., проф., зав. лабораторией по изучению лейкозов, e-mail: sciencerrugal@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4967-2601>

**Бессмельцев С.С.** – д.м.н., проф., зам. директора по научной работе, e-mail: bessmeltsev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6013-2422>

**Семенова Н.Ю.** – к.б.н., научный сотрудник лаборатории по изучению лейкозов, e-mail: semenova@mlc-lab.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4069-0678>

**Грицаев С.В.** – д.м.н., руководитель Республиканского центра трансплантации костного мозга, e-mail: gritsaevsv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7586-4709>

**Кострома И.И.** – к.м.н., научный сотрудник, e-mail: obex@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3768-0831>

**Енукашвили Н.И.** – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории морфологии клетки, группа некодирующей ДНК, e-mail: natellae@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5971-7917>

**Чубарь А.В.** – лаборант, e-mail: annachubar95@gmail.com

**Иволгин Д.А.** – к.м.н., зав. лабораторией выделения стволовых клеток, e-mail: medcenter@stemcellbank.spb.ru

Множественная миелома (ММ) – самый распространенный вид моноклональных гаммапатий, заболеваемость которой неуклонно растет. Каждый год в России регистрируется около 1,9 на 100 000 человек в год новых случаев заболевания. ММ на сегодняшний день является неизлечимым заболеванием, смертность от нее составляет более 10 000 человек в год. Субстрат опухоли – трансформированные плазматические клетки, подавляющие нормальный гемопоэз и продуцирующие патологический белок [1, 2].

Лечение ММ ведется разными методами, к которым относятся таргетная и биологическая терапия, химиотерапия, лучевая терапия, кортикостероиды, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (АутоТГСК). АутоТГСК, один из наиболее эффективных методов терапии, позволяет существенно уменьшить объем клеток патологического клона и повысить качество ответа [1, 2]. Несмотря на достигнутые успехи в лечении заболевания, большое количество схем и протоколов, остаются группы пациентов с неэффективной АутоТГСК – лица с неудачной мобилизацией и с ранним рецидивом после АутоТГСК (в течение 6 месяцев после проведения процедуры). Успех АутоТГСК зависит от многих причин и сопутствующих особенностей течения заболевания, протоколов мобилизации и проведения процедуры. Среди этих факторов также стоит отметить состояние микроокружения – ниши гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), поврежденной вследствие основного заболевания, а также подвергшейся токсическому воздействию агрессивного лечения.

Проблема взаимоотношений «микроокружение – стволовая клетка» является одной из актуальнейших в современной биологии и медицине. Ключевыми структурами, определяющими развитие ГСК и их коммитированных в лимфоидном направлении потомков, являются нишеформирующие элементы стромального микроокружения костного мозга (КМ) [3, 10–12].

Впервые идея ниши была обозначена относительно ГСК в 1978 г. R. Schofield. Ниша ГСК имеет структурно-анатомические и функциональные характеристики. Она обеспечивает длительное, на протяжении всей жизни организма, самоподдержание стволовых клеток, регулирует их дифференцировочный и пролиферативный потенциал. ГСК могут циркулировать в кровеносном русле и, находясь практически в любых тканях и органах, тем не менее функционируют в качестве стволовых клеток только при нахождении в определенном микроокружении (нише). Понимание гемопоэтической ниши значительно улучшилось

за последние несколько лет, что, по крайней мере частично, связано с развитием новых методов клеточных исследований [3, 5, 6, 10–12].

В формировании ниши принимают участие многие типы клеток, включая остеобласты, остеокласты, адипоциты, клетки эндотелия, ретикулярные клетки CXCL12+ (CAR-клетки), мезенхимальные стромальные клетки (МСК), симпатические нервные волокна. Выделяют эндостальную и васкулярную ниши КМ. В нишах ГСК могут находиться в состоянии покоя, а могут активно пролиферировать. Регуляторный эффект стромального микроокружения КМ осуществляется путем прямых контактов стромальных клеток с кроветворными предшественниками, а также посредством нарабатываемых стромой гуморальных факторов стимуляции и ингибирования процессов пролиферации и дифференцировки ГСК. Сложная сеть сигнальных путей регуляции ГСК в настоящее время является предметом интенсивных исследований [8, 10–12].

Микроокружение опухоли в динамике приобретает новые морфофункциональные характеристики в ответ на изменения в молекулярной биохимии, генетическом профиле и разнообразии типов опухолевых клеточных популяций. Считается, что опухоль и микроокружение тесно взаимодействуют и влияют на характеристики друг друга [3, 9, 10]. Микроокружение опухоли содержит несколько клеточных типов, включая МСК, остеобласты и остеокласты (располагаются в эндостальной зоне), адипоциты и различные типы иммуномодулирующих клеток (например, макрофаги, NK-клетки, регуляторные Т-клетки и т.д.). Опухолевое микроокружение влияет на рост и пролиферацию, миграцию, тип инфильтрации опухолевых клеток, обеспечивая структурную и питательную поддержку за счет выработки цитокинов, хемокинов, адипокинов (например, адипонектин и лептин), факторов роста (например, IL-6, IGF-1, VEGF, TNF- $\alpha$  и SDF-1), белков внеклеточного матрикса, лигандов к клеточным рецепторам сигнальных путей и других молекул. Все это в совокупности может влиять на приобретение лекарственной устойчивости злокачественных клеток.

Таким образом, изучение морфофункциональных особенностей стромального микроокружения КМ при ММ имеет значение как для теоретической, так и для практической гематологии. Цель исследования – оценить морфофункциональные особенности опухолевого микроокружения и культуральные характеристики МСК у пациентов с ММ до лечения и после терапии.



## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом исследования послужили цельные фрагменты подвздошной кости 32 больных ММ в возрасте от 48 до 78 лет (медиана возраста 56 лет). Пациенты были разделены на группы: 1-я группа – дебют заболевания (впервые выявленная ММ, больные, не получавшие терапию, медиана возраста 55 лет, 20 человек); 2-я группа – прогрессирующая ММ после проведенного лечения (химиотерапия по схемам VD, CVD, АутоТГСК, 12 пациентов в возрасте 52–68 лет, медиана 57 лет). Во 2-й группе рецидив заболевания отмечался в течение 6–18 мес., у трех пациентов – ранний рецидив (в течение 6 мес.) после АутоТГСК. У четырех человек при повторной подготовке к АутоТГСК отмечались неэффективные мобилизации при сборе клеток CD34+, у трех пациентов повторные сборы клеток CD34+, у одного пациента – неудачный сбор. Стадии ММ оценивались по Международной системе стадирования ISS (2005). В 1-й группе преобладали пациенты с III стадией по ISS – девять человек (45 %), со II стадией было восемь больных (40 %), с I стадией – три (15 %). Во 2-й группе пациентов со II и III стадией было одинаковое количество – по пять человек (42 %), два человека с I стадией (16 %). Контрольную группу при изучении КМ составили фрагменты подвздошной кости 15 здоровых лиц (доноров костного мозга) 38–55 лет (медиана возраста 45 лет). Контрольная группа сопоставима по полу, возрасту и национальности с основной.

В работе использовались гистологические, иммуногистохимические и культуральные методы исследований. При анализе трепанобиоптатов применялись окраски гематоксилином и эозином, азуром II и эозином, импрегнация серебром по Массону. Иммуногистохимические реакции проводили по стандартной методике, основываясь на рекомендациях фирм-производителей первичных антител. Выполняли общепринятые отрицательные и положительные контрольные процедуры при обработке параллельных срезов. Пациентам из 2-й группы были проведены культуральные исследования. Из аспирата КМ выде-

ляли ядродержащие клетки, которые культивировали в питательной среде по стандартным методикам с последующей оценкой культуральных характеристик МСК.

Морфометрические исследования паренхиматозных и стромальных элементов кроветворной ткани КМ осуществлялись с использованием пакета программ «ВидеоТест-Морфология 5.2» (Россия). Анализ гистологических препаратов проводился в 20 полях зрения при увеличении  $\times 40$  для каждого образца.

Статистическая обработка полученных данных проводилась методом вариационной статистики с определением средней величины  $M$  и средней ошибки  $m$ , связь между различными признаками в исследуемой выборке определялась с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Пирсона ( $r$ ). Достоверность различий оценивалась с помощью критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе морфологического исследования трепанобиоптатов КМ у большинства пациентов (27 человек, 84 % в выборке) было выделено два типа поражения КМ: интерстициальный и диффузный. У 16 % больных (пять человек) определялись единичные опухолевые клетки в КМ. Интерстициальный тип миеломного поражения характеризовался наличием плазматических клеток, расположенных среди элементов нормального гемопоэза, без изменения соотношения с жировой тканью. Диффузный тип поражения диагностировался в случаях массивной инфильтрации миеломными клетками интрамедуллярных пространств, которая сопровождалась редукцией жировой ткани с замещением костно-мозговых пространств плазмочитами и различной степенью угнетения гемопоэза.

При анализе 1-й группы пациентов отмечалась корреляция между типом инфильтрации КМ и некоторыми клинико-лабораторными показателями (табл. 1). При диффузной инфильтрации КМ наблюдалось большее количество плазматических клеток в миелограмме ( $r = 0,93$ ;  $p < 0,05$ ),

Таблица 1

Инфильтрация костного мозга опухолевыми клетками и взаимосвязь с клинико-лабораторными показателями

Инфильтрация костного мозга опухолевыми клетками	Количество пациентов	Количество клеток CD138+ в миелограмме, %	Количество пациентов с остеодеструктивным синдромом, %
Диффузная	18	21,25 (6,1–47)	44
Интерстициальная	9	7,86 (2,4–12)	30
Единичные клетки CD138+	5	1,95 (0,4–3,6)	20

Морфометрические показатели структур костного мозга подвздошной кости в зависимости от типа опухолевой инфильтрации

Структуры костного мозга	Здоровые лица, $n = 15$	1-я группа пациентов		2-я группа пациентов	
		ИИ, $n = 5$	ДИ, $n = 13$	ИИ, $n = 5$	ДИ, $n = 13$
Площадь гемопоэтической ткани (в том числе опухолевой), %	$37,8 \pm 3,15$	$40,1 \pm 3,9$ ( $19,4 \pm 5,4$ )	$45,2 \pm 3,1^*$ ( $38,3 \pm 5,7$ )	$36,4 \pm 3,1$ ( $18,3 \pm 3,7$ )	$31,1 \pm 4,3^*$ ( $27,3 \pm 3,2$ )
Площадь жировой ткани, %	$34,1 \pm 2,2$	$34,4 \pm 2,5$	$30 \pm 3,4$	$37,1 \pm 3,2^*$	$41,1 \pm 3,7^*$
Площадь костной ткани, %	$21,0 \pm 2,41$	$17,3 \pm 1,5$	$14,6 \pm 2,15$	$13,8 \pm 3,4^*$	$12,6 \pm 2,7^*$
Площадь сосудов микроциркуляции, %	$7,1 \pm 1,2$	$8,2 \pm 2,4$	$10,2 \pm 2,3^*$	$12,7 \pm 2,3^*$	$15,2 \pm 2,8^*$
Количество эндостальных клеток на единицу площади	$1,4 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,7$	$2,5 \pm 0,5^*$	$2,5 \pm 0,3^*$	$2,7 \pm 0,4^*$

Примечание. ИИ – интерстициальная инфильтрация; ДИ – диффузная инфильтрация; \* – отличие от величины соответствующего показателя здоровых лиц статистически значимо при  $p < 0,05$ .

чаще определялся остеодеструктивный синдром в анамнезе ( $r = 0,62$ ;  $p < 0,05$ ). Корреляции типа инфильтрации КМ с уровнем альбумина и  $\beta 2$ -микроглобулина у исследуемых пациентов выявлено не было.

Анализ стромальных структур микроокружения свидетельствовал об изменении состояния стромы при всех типах поражения интрамедуллярной паренхимы (табл. 2). В табл. 2 не вошли данные по группе пациентов с единичной инфильтрацией КМ, так как объем выборки не позволял статистически оценить значимость изменений. Интерстициальная инфильтрация КМ плазмодитами сопровождалась увеличением количества интрамедуллярных ретикулярных клеток, наличием ретикулиновых волокон, разбросанных в паренхиме без формирования склеротической сети, отмечались участки деструкции коллагена трабекул без статистически значимого уменьшения объема костной ткани. В эндотелии микрососудов, включая синусы, явных перестроек не наблюдалось, тем не менее количество микрососудов было умеренно увеличено по сравнению с контролем (соответственно  $8,2 \pm 2,4$  и  $7,1 \pm 1,2$  %;  $p > 0,05$ ). Повышение статистически не значимо, вероятно, ввиду небольшой выборки пациентов в этой группе. Выраженные изменения стромальной ткани КМ регистрировались при диффузной инфильтрации. Определялось усиление ретикулинового склероза, увеличение плотности микрососудов ( $10,2 \pm 2,3$  %;  $p < 0,05$ ), нарастание числа эндостальных клеток с уплощенными ядрами, нарушение структуры коллагена трабекул костной ткани. Площадь костных балок была снижена на 4–8 %, однако уменьшение остеогенной ткани не было статистически значимым ( $p > 0,05$ ).

Площадь жировой ткани у пациентов 1-й группы достоверно не отличалась от контроля, в то время как во второй группе она статистически

значимо увеличена (соответственно  $37,1 \pm 3,2$ ,  $34,1 \pm 2,2$  и  $41,1 \pm 3,7$  %), что, вероятно, связано с ответом на проведенную терапию заболевания. Остеолизис у пациентов с ММ встречался двух типов – гладкая костная резорбция и лакунарное рассасывание, с преобладанием первого типа (61 %). Остеолизис наблюдался у пациентов со всеми типами инфильтрации КМ, и встречались случаи ярко выраженного остеолизиса при минимальном поражении КМ опухолевыми клетками. Ретикулиновый рисунок у пациентов всех групп был увеличен по сравнению с контролем. Миелофиброз 1-й или 2-й стадии отмечался у девяти пациентов (45 %) из 1-й группы и у восьми пациентов (68 %) из 2-й группы. Площадь сосудов КМ при диффузной инфильтрации КМ была больше, чем в контроле. Повышенный ангиогенез коррелировал с количеством плазматических клеток в миелограмме ( $r = 0,58$ ;  $p < 0,05$ ), с типом инфильтрации КМ ( $r = 0,85$ ;  $p < 0,05$ ), а также с остеодеструктивными изменениями в анамнезе больного ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,05$ ).

Среди 12 пациентов с прогрессирующей ММ после лечения (пять мужчин и семь женщин) в возрасте 52–68 лет (медиана 56 лет) у трех человек объем поражения КМ не превышал 10 %, в четырех случаях объем опухолевых клеток составил 20–30 % и у пяти больных обнаружена диффузная инфильтрация более 50 %. У всех пациентов определялось увеличенное количество микрососудов в паренхиме КМ и в субэндостальной зоне –  $12,7 \pm 2,3$  % при интерстициальной инфильтрации и  $15,2 \pm 2,8$  % при диффузной по сравнению с  $7,1 \pm 1,2$  % в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). На эндосте отмечалось повышение количества клеток на единицу длины костной трабекулы –  $2,5 \pm 0,3$  при интерстициальной инфильтрации и  $2,7 \pm 0,4$  при диффузной по сравнению с  $1,4 \pm 0,2$  в контроле ( $p < 0,05$ ). Также в субэндо-

стальной зоне и вокруг синусов КМ наблюдалось увеличение экспрессии коллагена IV типа и зоны ярко выраженного ретикулинового склероза. Показано сокращение площади костной ткани до  $12,6 \pm 2,7$  % по сравнению с  $21,0 \pm 2,41$  % в контрольной группе.

Таким образом, у пациентов после лечения сохраняются нарушения в клетках микроокружения КМ. Полученные данные по увеличению площади сосудов после лечения согласуются с данными О.С. Покровской и соавторов [4], которые показали, что плотность микрососудов в КМ перед АутоТГСК служит более важным прогностическим показателем, чем уровень секреции парапротеина и содержание плазматических клеток в КМ. В нашей выборке пациентов с прогрессирующей ММ после проведенного лечения у всех пациентов отмечалось увеличение площади сосудов в 1,5 раза и более, в то время как инфильтрация КМ CD138-позитивными клетками по данным трепанобиоптатов и миелограмм была очень вариабельна. Данные, полученные на материале трепанобиоптатов пациентов с ММ, повторяют тенденции, выявленные при исследовании стромы КМ у пациентов с хроническим лимфолейкозом [7]. Также при усилении инфильтрации отмечалось увеличение количества сосудов, повышение количества и активности клеток в эндостальной зоне. Морфологически были определены изменения стромальных нишеобразующих элементов: площадь сосудистого компонента, увеличение количества эндостальных клеток, усиление ретикулинового рисунка. При этом эти особенности сохранялись и после проведенного лечения.

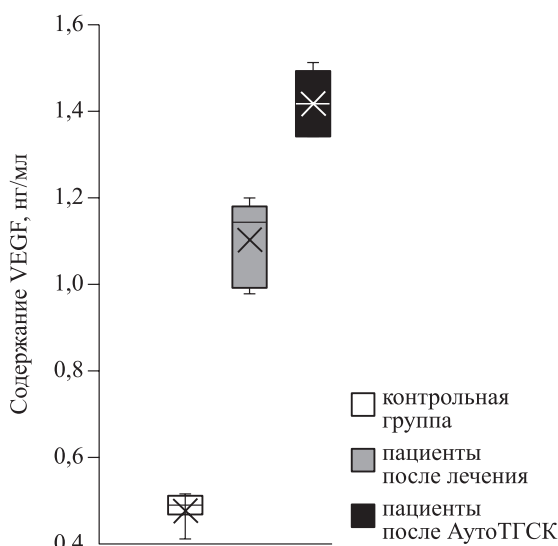
Культуральные исследования МСК КМ пациентов с ММ из 2-й группы, проведенные после мобилизации для сбора стволовых клеток для подтверждения или опровержения выявленных повреждений нишеобразующих структур, показали, что их пролиферативная активность и потенциал деления статистически не отличались от величин соответствующих показателей контрольной группы доноров КМ, хотя в самой группе пациентов наблюдались существенные колебания количества колониеобразующих единиц гранулоцито-моноцитарного ряда (КОЕ-ГМ) от  $39 \times 10^5$  до  $300 \times 10^5$  клеток. Отсутствие корреляции с другими показателями и сильная вариабельность показателя КОЕ-ГМ свидетельствуют о многофакторности и сложности взаимодействия клеток микроокружения и требуют дальнейшего изучения.

При культуральных исследованиях показано снижение скорости пролиферации МСК КМ больных ММ по сравнению со здоровыми донорами (в среднем в 2,4 раза), уменьшение общего времени пассирования с 7 до 5 пассажей. После

АутоТГСК пролиферативная активность сильно варьирует в разных культурах. После лечения только у небольшой части больных (17 %) происходило восстановление кривой роста до показателей доноров.

Остеогенная дифференцировка у пациентов с остеодеструктивным синдромом в анамнезе и диффузной инфильтрацией снижена по сравнению с контролем, в группе пациентов без остеодеструкции близка к нормальным значениям.

Независимо от остеодеструктивного синдрома у всех исследованных пациентов после индукционной терапии и перед АутоТГСК отмечалось усиление экспрессии маркеров, ассоциированных с миофибробластоподобным фенотипом и старением (гладкомышечный актин,  $\beta$ -галактозидаза) – 45–80 % клеток в культуре положительно окрашивались этими маркерами. В культурах МСК пациентов после АутоТГСК  $\beta$ -галактозидаза синтезировалась слабее, чем до лечения, но тем не менее интенсивнее, чем в контрольной группе. МСК КМ здоровых доноров данный фермент практически не синтезировали. Фибриллы гладкомышечного актина выявлялись в МСК КМ до АутоТГСК, а после нее практически отсутствовали. Содержание VEGF в культурах МСК коррелировало с площадью микрососудов, определенной морфологическим методом ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,05$ ). После индукционной терапии оно было больше, чем у лиц группы контроля, и оставалось повышенным после проведения АутоТГСК (рисунок).



**Рис.** Содержание VEGF в культурах МСК от пациентов после индукционной терапии ММ и после проведенной АутоТГСК в сравнении с контролем. Крестики – средние значения, горизонтальные линии – медианы, прямоугольники – межквартильный интервал, «усы» – минимальные и максимальные значения

Результаты, полученные в культуральных исследованиях, дополняют и подтверждают данные морфологических исследований и свидетельствуют о вовлечении структур васкулярной и эндостальной ниши в прогрессию заболевания. В данной работе показано, что ниша ГСК в КМ у больных с ММ отличается от таковой у здоровых доноров КМ. Морфофункциональные особенности основных элементов ниши КМ могут быть причиной нарушений в регуляции развития ГСК и их приживления при АутоТГСК. Дальнейшие исследования стромальной ниши ГСК в динамике заболевания и в условиях применения современных схем терапии позволят получить дополнительные данные о патогенетической роли нишеобразующих структур в регуляции В-лимфопоэза.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что культуры МСК и нишеформирующие элементы КМ пациентов с ММ обладают чертами опухоль-ассоциированного микроокружения, причем как до, так и после проведенного лечения, включая АутоТГСК.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие конфликтов интересов.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана Грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых № МК-6706.2018.7.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бессмельцев С.С. Множественная миелома (лечение первичных больных): обзор литературы и собственные данные. Часть 2 // Клин. онкогематология. 2013. 6. (4). 379–414.

2. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома: руководство для врачей. М.: МК, 2016. 504 с.

3. Герасимова Л.П., Дризе Н.И., Лубкова О.Н. Нарушения стромального микроокружения у больных с различными заболеваниями системы крови // Гематология и трансфузиология. 2008. 53. (5). 59–62.

4. Покровская О.С., Менделеева Л.П., Капланская И.Б., Грибанова Е.О., Варламова Е.Ю., Обухова Т.Н., Гемджян Э.Г., Савченко В.Г. Ангиогенез в костном мозге больных множественной миеломой на различных этапах высокодозной химиотерапии // Клин. онкогематология. 2010. 3. (4). 347–353.

5. Ругаль В.И., Бессмельцев С.С. Оценка опухолевой инфильтрации костного мозга при множественной миеломе по результатам исследования трепанобиоптатов // Вестн. гематологии. 2009. 5. (1). 49–50.

6. Семенова Н.Ю., Бессмельцев С.С., Артюхина З.Е., Ругаль В.И. Состояние структур гемопоэтической ниши при множественной миеломе // Клин. онкогематология. 2017. 10. (4). 577–578.

7. Семенова Н.Ю., Бессмельцев С.С., Ругаль В.И. Роль дефектов кроветворной и лимфоидной ниш в генезе хронического лимфолейкоза // Клин. онкогематология. 2016. 9. (2). 176–190.

8. Bessmeltsev S., Rugal V. Stromal microenvironment and stem cell niches in multiple myeloma // Haematologica. 2010. 95. (25). 569–570.

9. De Raevae H.R., Vanderkerken K. The role of the bone marrow microenvironment in multiple myeloma // Histol. Histopathol. 2005. 20. 1227–1250.

10. Ellis S.L., Grassinger J., Jones A., Borg J., Camenisch T., Haylock D., Bertoncello I., Nilsson S.K. The relationship between bone, hemopoietic stem cells, and vasculature // Blood. 2011. 118. (6). 1516–1524.

11. Huang M.-M., Zhu J. The regulation of normal and hematopoietic stem cells by niches // Cancer Microenviron. 2012. 5. (3). 295–305.

12. Yin T., Li L. The stem cell niches in bone // J. Clin. Invest. 2006. 116. (5). 1195–1201.



## CHARACTERISTICS OF BONE MARROW MICROENVIRONMENT IN MULTIPLE MYELOMA BEFORE AND AFTER TREATMENT

Viktor Ivanovich RUGAL<sup>1</sup>, Stanislav Semenovich BESSMELTSEV<sup>1</sup>,  
Natalya Yurevna SEMENOVA<sup>1</sup>, Sergey Vasilevich GRITSAEV<sup>1</sup>,  
Ivan Ivanovich KOSTROMA<sup>1</sup>, Natella Iosifovna ENUKASHVILI<sup>2</sup>,  
Anna Vadimovna CHUBAR<sup>3</sup>, Dmitriy Aleksandrovich IVOLGIN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of FMBA of Russia  
193024, Saint-Petersburg, 2-ya Sovetskaya str., 16*

<sup>2</sup> *Institute of Cytology of RAS  
194064, Saint-Petersburg, Tikhoretsky av., 4*

<sup>3</sup> *Pokrovsky Stem Cell Bank  
199106, Saint-Petersburg, Bol'shoy av. V.O., 85*

---

The purpose of the study is to evaluate the morphological and functional features of the tumor microenvironment and the cultural characteristics of mesenchymal stromal cells (MSC) of patients with multiple myeloma (MM) before and after treatment. **Material and methods.** Parenchymal and stromal bone marrow tissue in iliac bone trepanobiopsy of 32 patients with MM aged from 48 to 78 years (median age 56 years) before and after treatment was investigated. The study applied histological, immunohistochemical and cultural methods. **Results and discussion.** Changes of stromal microenvironment of bone marrow in all patients with MM have been revealed: increased microvascular density and the number of endosteal stromal cells, strengthening of reticulin fiber in subendosteal and perivascular spaces. Increased angiogenesis correlates with the number of plasma cells in the myelogram ( $r = 0.58$ ;  $p < 0.05$ ) and with the type of bone marrow infiltration ( $r = 0.85$ ;  $p < 0.05$ ), as well as with osteodestructive changes in the patient's history ( $r = 0.65$ ;  $p < 0.05$ ). Significant changes in MSC cultures, both before and after therapy, including autologous hematopoietic stem-cell transplantation, were shown. Bone marrow MSC of patients with MM had decreased speed of proliferation (2.4 times on average), total time of passaging from 7 to 5 passages, increased expression of markers associated with myofibroblastic phenotype and aging (smooth muscle actin,  $\beta$ -galactosidase) compared to healthy donors. **Conclusion.** MSC cultures and BM niche forming elements of patients with MM have signs of tumor-associated microenvironment, despite the treatment of the underlying disease.

---

**Key words:** multiple myeloma, bone marrow, hematopoietic stem cell niche, AutoHSCT, microenvironment, angiogenesis.

*Rugal V.I. – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory for the study of leukemia,  
e-mail: sciencerrugal@gmail.com*

*Bessmeltsev S.S. – doctor of medical sciences, professor, deputy director for research, e-mail: bessmeltsev@yandex.ru*

*Semenova N.Yu. – candidate of biology sciences, researcher at the laboratory for the study of leukemia,  
e-mail: semenova@mlc-lab.ru*

*Gritsaev S.V. – doctor of medical sciences, head of the Republican center of bone marrow transplantation,  
e-mail: gritsaevsv@mail.ru*

*Kostroma I.I. – candidate of medical sciences, researcher, e-mail: obex@rambler.ru*

*Enukashvili N.I. – candidate of biology sciences, senior researcher at the laboratory of cell morphology non-coding  
DNA group, e-mail: natellae@gmail.com*

*Chubar A.V. – technician of Pokrovsky stem cell bank, e-mail: annachubar95@gmail.com*

*Ivolgin D.A. – candidate of medical sciences, head of the laboratory of stem cell isolation Pokrovsky stem cell bank,  
e-mail: medcenter@stemcellbank.spb.ru*

## БОЛЕЗНЬ КАСТЛЕМАНА, РОЕМС-СИНДРОМ И ПРОДУКТИВНЫЙ ВАСКУЛИТ МИКРОСОСУДИСТОГО РУСЛА В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ

Анатолий Михайлович МИХАЙЛОВ<sup>1</sup>, Станислав Семенович БЕССМЕЛЬЦЕВ<sup>2</sup>,  
Всеволод Геннадьевич ПОТАПЕНКО<sup>3</sup>, Виктор Иванович РУГАЛЬ<sup>2</sup>,  
Наталья Юрьевна СЕМЕНОВА<sup>2</sup>, Наталья Михайловна ХМЕЛЬНИЦКАЯ

<sup>1</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет  
им. И.И. Мечникова Минздрава России  
191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

<sup>2</sup> Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России  
191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16

<sup>3</sup> Городская клиническая больница № 31  
197110, г. Санкт-Петербург, просп. Динамо, 3

**Цель работы** – изучение состояния микроциркуляторного русла в окружающих биопсированные лимфатические узлы тканях (в жировой и соединительнотканной капсуле) и его сопоставление с клинической картиной болезни. **Материал и методы.** Наблюдались 24 пациента с болезнью Кастлемана (БК), негативных по ВИЧ и вирусу герпеса человека 8 типа, в возрасте 36–70 лет (мужчин – 14, женщин – 10). У 10 больных диагностирован гиалиново-васкулярный тип БК, у 14 – плазмоклеточный многоцентровый. У 10 пациентов развился РОЕМС-синдром. Диагноз БК подтверждался гистологической картиной лимфатического узла и иммуногистохимическим исследованием распределения В- и Т-лимфоцитов в ткани узла. Сосуды проявляли гистохимической реакцией с антителами к CD34, плазматические клетки – антителами к CD138. Четверо больных с РОЕМС-синдромом не лечились, шестеро получили различные виды терапии, в том числе двое – терапию аутологичными стволовыми клетками костного мозга (находятся в ремиссии БК и РОЕМС в течение 10 лет), двое – по 5 циклов лечения по схеме VCD с редукцией симптомов РОЕМС (находятся под наблюдением в течение 5 лет), один больной с РОЕМС и аутоиммунным гемолизом получил 10 курсов R-СНОР с достижением ремиссии длительностью 3 года. У двоих из шести скончавшихся больных с РОЕМС-синдромом произведено гистологическое исследование внутренних органов. **Результаты и их обсуждение.** У всех 24 больных БК обнаружен продуктивный васкулит микроциркуляторного русла в виде утолщения стенок сосудов за счет лимфогистиоцитарной инфильтрации, фиброза, набухания клеток эндотелия, что сужало или полностью закрывало просвет сосуда. Наиболее резкое склерозирование мелких сосудов в ткани лимфатических узлов наблюдалось у больных с РОЕМС, у которых периваскулярная инфильтрация включала плазматические клетки. У больных с РОЕМС отмечалось обширное вовлечение в склеротический процесс нескольких близлежащих сосудов. При изучении микроциркуляторного русла на секционном материале обнаружено системное поражение во всех внутренних органах. **Заключение.** Независимо от гистологического варианта болезни Кастлемана наблюдается поражение сосудов микроциркуляторного русла в виде плазмоклеточного продуктивного васкулита, наиболее выраженного при развитии у больных РОЕМС-синдрома.

**Ключевые слова:** болезнь Кастлемана, РОЕМС-синдром, лимфатические узлы, внутренние органы, васкулит.

*Михайлов А.М.* – к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии и кардиологии им. М.С. Кушаковского, e-mail: mihailovanatolii@mail.ru

*Бессмельцев С.С.* – д.м.н., проф., зам. директора по научной работе, e-mail: bessmeltsev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6013-2422>

*Потапенко В.Г.* – ординатор отделения онкогематологии и химиотерапии, e-mail: potapenko.vsevolod@mail.ru

*Ругаль В.И.* – д.м.н., проф., зав. лабораторией по изучению лейкозов, e-mail: sciencerugal@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4967-2601>

*Семенова Н.Ю.* – к.б.н., научный сотрудник лаборатории по изучению лейкозов, e-mail: semenova@mlc-lab.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4069-0678>

*Хмельницкая Н.М.* – д.м.н., проф., зав. кафедрой патологической анатомии факультета последипломного образования, e-mail: kb180@yandex.ru

Одним их редких заболеваний, систематизированное изучение которых чрезвычайно затруднительно, является болезнь Кастлемана (БК), или ИЛ-6 зависимая ангиофолликулярная гиперплазия лимфатических узлов, описанная в 1954 г. В. Castleman [5]. За прошедшие 65 лет в литературе описаны сотни случаев диагностики этого заболевания и опубликованы обзоры литературы [6]. БК следует рассматривать как аутоиммунное заболевание [7], которое можно разделить на гиалиново-васкулярный и плазмоклеточный типы. Каждый из них может быть локализованным и многоцентровым (мультицентрическим). Плазмоклеточный вариант БК может осложняться развитием РОEMS-синдрома, при котором обнаруживаются полинейропатия, увеличение внутренних органов, эндокринопатии, М-протеин в крови и изменение кожи в виде ангиом. В основе развития РОEMS-синдрома лежит гиперпродукция плазматическими клетками легких  $\lambda$ -цепей иммуноглобулинов и эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor). Легкие  $\lambda$ -цепи являются ведущим звеном развития РОEMS-синдрома, разрушающим миелин нервных волокон с развитием демиелинизирующей сенсорно-моторной периферической полинейропатии, в терминальных стадиях с нейромышечным респираторным блоком и остановкой дыхания. VEGF обеспечивает неконтролируемый рост микрососудов с усиленным развитием склеротических изменений органов и нервов, развитие полостных отеков [7]. Наиболее выраженный неоангиогенез происходит при плазмоклеточном варианте БК [3].

Ввиду редкости БК с прижизненной диагностикой имеется и мало описаний посмертных изменений внутренних органов при данной патологии. Ранее нами было опубликовано исследование двух секционных случаев больных с прижизненной диагностикой плазмоклеточного многоцентрового типа БК, осложнившихся развитием РОEMS-синдрома, с обнаружением продуктивного васкулита во всех внутренних органах [2]. В литературе нам не встретилось ни одного описания состояния стенки микрососудов в перинодулярной жировой ткани при БК. Не проводилась оценка состояния сосудов и изменений внутренних органов при этом заболевании. Целью данной работы являлось изучение состояния микроциркуляторного русла в перинодулярной ткани биопсированных лимфатических узлов и в секционных препаратах у больных с различными гистологическими и клиническими вариантами БК и его сопоставление с состоянием внутренних органов.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 24 пациента с болезнью Кастлемана, все негативные по ВИЧ и вирусу герпеса человека 8 типа, в возрасте от 36 до 70 лет (мужчин – 14, женщин – 10). У 10 больных имелся гиалиново-васкулярный, у 14 – плазмоклеточный тип многоцентровой БК, с развитием у 10 из них РОEMS-синдрома с ведущим проявлением в виде периферической демиелинизирующей сенсорно-моторной полинейропатии, подтвержденной электромиографически, что является обязательным условием его диагностики [7]. У всех пациентов с РОEMS-синдромом при электрофорезе выявлены минорные количества М-протеина. Моноклональность  $\lambda$ -цепей подтверждена у всех больных с РОEMS-синдромом либо визуально при иммуногистохимической окраске антителами к  $\lambda$ -цепям на срезах биопсированных лимфатических узлов, либо иммунным методом в сыворотке крови. Предварительно гистологический диагноз БК устанавливался по окраске срезов биопсированных лимфатических узлов гематоксилином и эозином. Для дифференциального диагноза с лимфомами использовали иммуногистохимическую окраску с антителами к CD19, CD20, CD3, CD21 и CD23, циклину D1 [8].

У всех больных с РОEMS-синдромом обнаружено нормальное распределение В- и Т-лимфоцитов между фолликулами и межфолликулярными зонами. Сосуды выявляли окраской с антителами к CD34. Плазматические клетки экспрессировали CD38 и CD138. У всех пациентов с РОEMS-синдромом исходно имелся отечный синдром в виде полостных экссудатов, в связи с чем им проводилось кардиологическое обследование – ЭКГ и эхокардиография; данных за очаговые поражения миокарда не получено. Лечение у четырех больных с РОEMS-синдромом по различным причинам не проводилось, все они умерли в срок от 3 до 5 лет после начала заболевания. Остальные 6 человек получали различные виды терапии. Двум пациенткам были назначены циклы терапии, одной – 3 цикла РАД, другой – 2 курса ДНАР с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток, обе более 10 лет находятся в ремиссии БК с редукцией симптомов РОEMS. Одна больная получает терапию леналидомидом в течение года с момента постановки диагноза, наблюдение за ней продолжается. Один пациент получил 10 курсов R-СНОР, достиг ремиссии, которая продолжалась 3 года, однако в последующем у него развилась тяжелая панцитопения с присоединением диареи и критической потерей массы тела.



Скончался от присоединившейся пневмонии, что было расценено как осложнение длительной химиотерапии. Двое больных, получивших по 5 курсов терапии по схеме VCD, идентичной схеме при множественной миеломе, живы в течение 5 лет с редукцией симптомов РОEMS-синдрома.

На момент написания статьи живы 5 больных, имевших осложнение в виде РОEMS-синдрома и получивших лечение. У двоих скончавшихся пациентов с РОEMS-синдромом исследовался аутопсийный материал лимфатических узлов и внутренних органов. У больного М., мужчины 65 лет, при профилактическом обследовании выявлено ускорение СОЭ (60 мм/ч). При дальнейшем обследовании обнаружено массивное образование в средостении. Произведена оперативная биопсия образования. После иммуногистохимического исследования подтверждена плазмноклеточная форма БК. При проведении компьютерно-томографического исследования диагностирован многоцентровый характер болезни. В течение последующих трех лет больной не лечился. В связи с нарастающей слабостью и анемией был госпитализирован, диагноз многоцентровой плазмноклеточной формы БК был подтвержден и, кроме того, диагностирован РОEMS-синдром. Однако в связи с выявленной креатининемией и резко сниженным клиренсом креатинина, высокой суточной потерей белка с мочой (6,5 г) пациент химиотерапевтического лечения не получил и был переведен на отделение хронического гемодиализа. Прижизненное морфологическое исследование почек не проводилось из-за развития тяжелой хронической болезни почек. Длительность нахождения больного на хроническом гемодиализе составила 3 года, затем у него начались необъяснимые приступы судорог с потерей сознания, во время одного из эпизодов наступила смерть.

У больного А., мужчины 59 лет, при случайном проведении УЗИ выявлен крупный конгломерат забрюшинных лимфоузлов с сопутствующей аутоиммунной гемолитической анемией и спленомегалией. При проведении гистологического и иммуногистохимического исследования установлен диагноз плазмноклеточного варианта БК. Томографическое исследование диагностировало многоцентровое поражение лимфатических узлов, обнаружены симптомы РОEMS-синдрома. Пациент получил 10 циклов терапии по схеме R-СНОР с полной редукцией узлов, исчезновением симптомов иммунного гемолиза и РОEMS-синдрома. Ремиссия продолжалась 3 года. Затем появились необъяснимые поносы, потеря веса, сопровождавшиеся развитием тяжелой панцитопении. Проводившаяся терапия ферментными препаратами, антибиотиками, гемотрансфузия-

ми, преднизолоном эффекта не имела, и больной скончался через три месяца от присоединившейся пневмонии.

Морфологическая оценка микроциркуляторного русла у всех больных проводилась как в паренхиме лимфатических узлов, так и в капсуле, в окружающей жировой клетчатке. В секционных случаях микроциркуляторное русло оценивали в гистологических препаратах, приготовленных из внутренних органов. Оценка микроциркуляторного русла проводилась по препаратам, окрашенным гематоксилином и эозином по стандартной методике, присутствие плазматических клеток в ткани выявляли иммунной реакцией к CD138.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех 24 больных БК, независимо от гистологического варианта, обнаружены проявления продуктивного васкулита в виде утолщения стенок сосудов микроциркуляторного русла за счет лимфогистиоцитарной инфильтрации, явлений фиброза и набухания клеток эндотелия, что приводило к уменьшению или полной облитерации их просвета (рис. 1). Наиболее выраженные изменения в виде склерозирования мелких сосудов наблюдались у всех 10 больных с РОEMS-синдромом при плазмноклеточном варианте БК, наблюдалась выраженная периваскулярная инфильтрация с наличием плазматических клеток, экспрессирующих CD38 и CD138. Единичные плазматические клетки обнаружены и в толще стенок склерозированных сосудов микроциркуляторного русла. В отдельных наблюдениях фибропластические изменения сосудов у больных с РОEMS-синдромом были необычайно обшир-

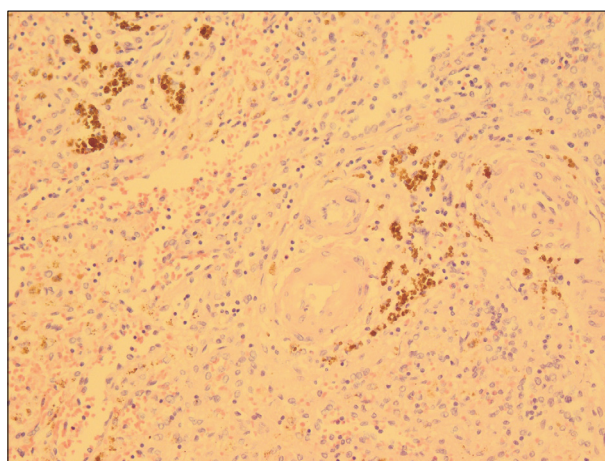
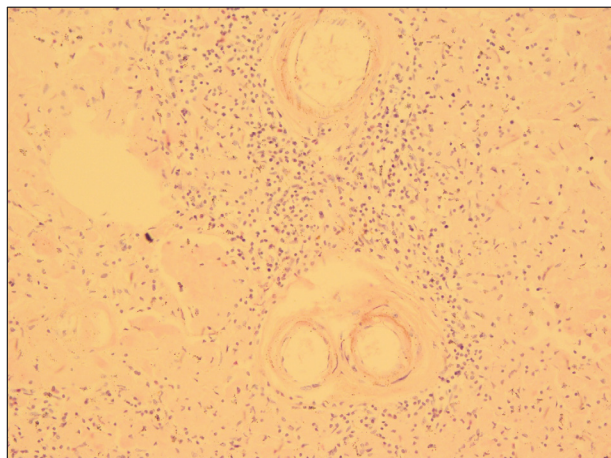


Рис. 1. Системное поражение мелких сосудов лимфатического узла: утолщение и склероз стенки сосудов с сужением их просвета. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 200$

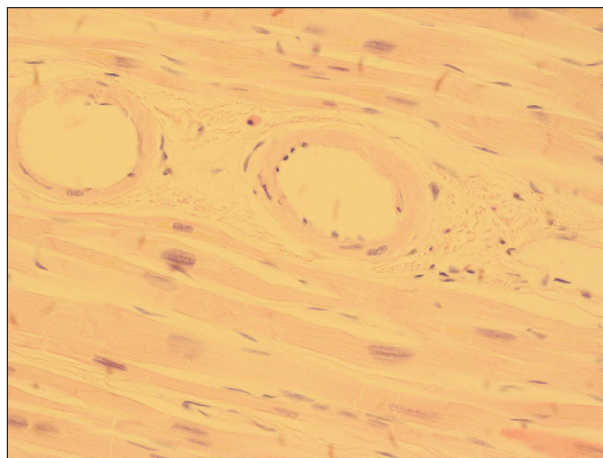




**Рис. 2.** Системное поражение мелких сосудов лимфатического узла у больного плазмноклеточным многоцентровым вариантом БК, осложнившимся РОEMS-синдромом: склерозирование стенки с сужением просвета сосудов. Вовлечение в склеротический процесс двух близлежащих сосудов. Образ «маски». Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 200$

ными, с вовлечением нескольких близлежащих сосудов и принимали причудливые формы в виде «масок», как, например, у больного с длительностью заболевания три года с осложнением массивным плевроперикардальным выпотом и нервно-мышечным респираторным блоком, не получавшего химиотерапии и скончавшегося от остановки дыхания (рис. 2).

Особый интерес представляло изучение гистологических препаратов двух аутопсий. Морфологический анализ гистологических препаратов двух секционных наблюдений при летальных исходах мультицентрической формы плазмноклеточного варианта БК с РОEMS-синдромом выполнен как в лимфатических узлах, так и во внутренних органах: сердце, легкие, пищевод, толстый кишечник, печень, почки, селезенка. Во всех изученных гистологических препаратах обращало на себя внимание системное поражение стенок сосудов микроциркуляторного русла, а также и артерий среднего калибра, в том числе внутримиекардиальных (рис. 3). Именно обнаруженным васкулитом внутренних органов можно объяснить как изолированное нарушение газодиффузионной способности легких, описанное нами ранее у больного с плазмноклеточным вариантом мультицентрической формы БК [4], так и быстрое, в течение трех лет, развитие тяжелой почечной недостаточности у одного из погибших (больной М.), не получавшего химиотерапии. Вероятно, развитием васкулита в пищеварительном тракте и печени можно объяснить быстрое фа-



**Рис. 3.** Секционное исследование сердца больного плазмноклеточным многоцентровым вариантом БК, осложнившимся РОEMS-синдромом. Васкулит с утолщением стенки внутримиекардиальных сосудов с прилегающей плазматической клеткой. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 200$

тальное ухудшение состояния больного А. после трех лет полной редукции лимфоаденопатии. Васкулит нарушал функции всех жизненно важных органов: диффузию газов в легких, клубочковую фильтрацию в почках, пищеварение и всасывание в кишечнике, работу миокарда. Следует отметить, что васкулит в почечной ткани при первичном развитии РОEMS-синдрома описан давно [1]. В представленном исследовании обнаружен системный васкулит микроциркуляторного русла и артерий среднего калибра внутренних органов при плазмноклеточном мультицентрическом варианте БК, осложнившимся РОEMS-синдромом. Это объясняется тем, что морфологическим субстратом РОEMS всегда является плазматическая клетка, а факторами развития легкого –  $\lambda$ -цепи иммуноглобулинов и VEGF [7].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что независимо от гистологического варианта при болезни Кастлемана наблюдается поражение сосудов микроциркуляторного русла в виде продуктивного плазмноклеточного васкулита. Большая степень выраженности фибропластических процессов при развитии РОEMS-синдрома приводит к значительному нарушению кровенаполнения в результате склерозирования стенок сосудов микроциркуляторного русла и артерий среднего калибра исследованных органов: почек, легких, печени, сердца, кишечника, что установ-

лено при изучении аутопсийного материала. На представленных 24 случаях болезни Кастлемана доказана универсальность васкулитного компонента ее морфологии и влияния васкулита на развитие клинических манифестаций и исхода болезни при развитии у больных РОEMS-синдрома.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии потенциальных и явных конфликтов интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клодзинский А.А., Рыжко В.В., Соркина О.М., Капланская И.Б., Семенова Е.А., Варламов Е.Ю., Алексина М.Ж., Сечтеева М.А. РОEMS-синдром (описание наблюдений и обзор литературы) // Клин. онкогематология. 2008. 1. (2). 145–155.

2. Михайлов А.М., Бессмельцев С.С., Климович А.В., Медведева Н.В., Потапенко В.Г., Ругаль В.И., Семенова Н.Ю., Смирнов Д.Р., Хмельницкая Н.М. Продуктивный васкулит и его клинические проявления при плазмноклеточном варианте многоцентрической болезни Кастлемана, осложнившейся РОEMS-синдромом (исследование двух секционных случаев) // Современные подходы в клинико-морфологической диагностике и лече-

нии заболеваний человека: сб. тр. Всерос. конф. с международным участием, Санкт-Петербург, 13 октября 2017 г. СПб., 2017. 114–116.

3. Михайлов А.М., Раскин Г.А., Ругаль В.И., Семенова Н.Ю., Бессмельцев С.С. Морфологические варианты болезни Кастлемана и плотность сосудистой сети в ткани лимфатических узлов // Сиб. мед. журн. 2017. 32. (2). 66–69.

4. Михайлов А.М., Бессмельцев С.С., Пожариский К.М., Костина О.Я., Коваль О.П., Матюхина Л.М., Криволапов Ю.А., Трофимов В.И., Лапин С.В. Болезнь Кастлемана и РОEMS-синдром // Клин. онкогематология. 2010. 3. (3). 259–269.

5. Castleman B., Town V. Case 40011 // N. Engl. J. Med. 1954. 250. (1). 26–30

6. Cory C. The audiology and management of Castleman disease at 50 years: translating pathophysiology to patient // Br. J. Hematol. 2005. 129. (1). 3–17.

7. Dispezieri A. POEMS syndrom. Review // Blood Rev. 2007. 21. (5). 285–299.

8. Yu L., Tu M., Cortes J., Xu-Monette Z.Y., Miranda R.N., Zhang J., Orłowski R.Z., Neelapu S., Boddu P.C., Akosile M.A., Uldrick T.S., Yarchoan R., Medeiros L.J., Li Y., Fajgenbaum D.C., Young K.H. Clinical and pathological characteristics of HIV and HHV-8-negative Castleman disease // Blood. 2017. 129. (12). 1658–1668.

## THE CASTLEMAN DISEASE, POEMS-SYNDROME AND PRODUCTIVE VASCULITIS IN MICROVASCULAR NETWORK OF DIFFERENT TISSUES

Anatoliy Mikhaylovich MIKHAYLOV<sup>1</sup>, Stanislav Semenovich BESSMELTSEV<sup>2</sup>,  
Vsevolod Gennad'yevich POTAPENKO<sup>3</sup>, Victor Ivanovich RUGAL<sup>2</sup>,  
Nataliya Yurievna SEMENOVA<sup>2</sup>, Nataliya Mikhaylovna KHMELNITSKAYA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>North-West State Medical University n.a. I.I. Mechnikov  
191015, Saint-Petersburg, Kirochnaya str., 41

<sup>2</sup>Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of FMBA of Russia  
193024, Saint-Petersburg, 2nd Sovetskaya str., 16

<sup>3</sup>City Clinical Hospital No. 31  
197110, Saint-Petersburg, Dinamo av., 3

**Objective:** to study the condition of microvascular network in the tissues surrounding the biopsied lymph nodes: in the fat and connective tissue capsule, and to match these findings with the clinical picture of the disease. **Material and methods.** Our research included 24 patients with Castleman's disease (CD), all negative for HIV and herpes virus-8 type, at the age of 36–70 years (men-14, women-10). 10 patients had hyaline-vascular type of CD, 14 patients had plasma-cell multicenter type. Of the 24 patients, 10 patients developed POEMS syndrome. The diagnosis of CD was confirmed by the histological examination of the lymph node and immunohistochemical study of the distribution of B- and T-lymphocytes in the node tissue. Vessels showed immunohistochemical positivity with antibodies to CD34, plasma cells with antibodies to CD138. Four patients with POEMS syndrome did not receive treatment, 6 patients received various types of therapy. Of these, 2 patients underwent therapy with autologous stem cell transplantation of bone marrow. Both patients were in remission of CD and POEMS for 10 years. Two patients received 5 cycles of therapy according to VCD scheme. They were alive for 5 years with the reduction of POEMS's symptoms. 1 patient with POEMS and autoimmune hemolysis has received 10 courses of R-CHOP and has resulted in remission for 3 years. Two of the 6 deceased patients with POEMS syndrome underwent autopsy. **Results and discussion.** In all patients, regardless of the histological variant of CD, productive vasculitis in microvascular network was found and it had following characteristics: thickening of the walls due to lymph-histiocytic infiltration, fibrosis, swelling of endothelial cells, which narrowed or completely obstruct the vessel's lumen. The most severe sclerosis of small vessels in the lymph node tissue was observed in patients with POEMS, in which perivascular infiltration included plasma cells. Patients with POEMS showed extensive involvement in the sclerotic process nearby vessels. The study of the microvascular network on the autopsy material revealed its systemic damage in all internal organs. **Conclusion.** Regardless of the histological variant of Castleman's disease, in all 24 cases there was a lesion of microvascular network in the form of plasma cell productive vasculitis, with the most severe changes in group of patients with POEMS syndrome.

**Key words:** Castleman's disease, POEMS syndrome, lymph nodes, internal organs, vasculitis.

*Mikhaylov A.M.* – candidate of medical sciences, associate professor of hospital therapy and cardiology,  
e-mail: mihailovanatolii@mail.ru

*Bessmeltsev S.S.* – doctor of medical sciences, professor, deputy director for research, e-mail: bessmeltsev@yandex.ru

*Potapenko V.G.* – intern of the department of oncohematology and chemotherapy, e-mail: potapenko.vsevolod@mail.ru

*Rugal V.I.* – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory for the study of leukemia,  
e-mail: sciencerugal@gmail.com

*Semenova N.Yu.* – candidate of biology sciences, researcher at the laboratory for the study of leukemia,  
e-mail: semenova@mlc-lab.ru

*Khmelnitskaya N.M.* – doctor of medical sciences, professor, head of the department of pathological anatomy  
of the faculty of postgraduate education, e-mail: k6180@yandex.ru

## РОЛЬ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ КАК ПРОЯВЛЕНИЯ СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ АГРЕССИВНЫХ И ИНДОЛЕНТНЫХ ВАРИАНТОВ НЕХОДЖКИНСКИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЛИМФОМ

Ольга Борисовна СЕРЕГИНА<sup>1</sup>, Татьяна Николаевна БАБАЕВА<sup>1,2</sup>,  
Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

<sup>2</sup>Городская клиническая больница № 2  
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, 21

**Цель** – исследовать проявления ангиогенной и гемостатической форм эндотелиальной дисфункции (ЭД) и системной воспалительной реакции (СВР) у больных неходжкинскими злокачественными лимфомами (НХЗЛ) в дебюте заболевания. **Материал и методы.** Обследовано 99 пациентов, 55 из которых страдали агрессивными вариантами НХЗЛ и 44 – индолентными. Средний возраст больных составил  $60,71 \pm 10,63$  года. В качестве маркера ангиогенной формы ЭД измерялся уровень фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), гемостатической – содержание тромбомодулина, D-димеров, растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) и активность фактора Виллебранда в сыворотке крови. Для оценки степени выраженности СВР в сыворотке крови определяли концентрацию провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6), C-реактивного белка (СРБ), фибриногена, для оценки противовоспалительной резистентности – противовоспалительного цитокина IL-4. **Результаты и их обсуждение.** Содержание провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-6 у пациентов обеих исследуемых групп было больше, чем в группе контроля. Уровень противовоспалительного цитокина IL-4 не отличался от значений контрольной группы. Концентрация СРБ и фибриногена была повышена только в группе больных агрессивными вариантами НХЗЛ, у которых также наблюдалась статистически значимая корреляция между уровнем СРБ и провоспалительных цитокинов. Содержание VEGF, тромбомодулина, D-димеров, РФМК и активность фактора Виллебранда были увеличены в сыворотке крови больных как агрессивными, так и индолентными лимфомами в сравнении с группой контроля. У пациентов с агрессивными лимфомами концентрация тромбомодулина, D-димеров, РФМК и активность фактора фон Виллебранда были достоверно больше, чем у больных индолентными вариантами. **Заключение.** У больных НХЗЛ наблюдались признаки ангиогенной и гемостатической форм ЭД, сопровождаемых проявлениями СВР и снижением противовоспалительной резистентности с развитием цитокинового дисбаланса с преобладанием провоспалительных цитокинов. Признаки СВР, а также гемостатическая форма ЭД с сопутствующей ей тромбинемией были ярче выражены у больных агрессивными НХЗЛ.

**Ключевые слова:** типовые формы эндотелиальной дисфункции, системная воспалительная реакция, неходжкинские злокачественные лимфомы, цитокиновый дисбаланс, противовоспалительная резистентность.

Термин «эндотелий» (от лат. «endo-» – «внутри» и греч. «θηλή» – «сосок») был предложен в 1865 г. швейцарским анатомом Wilhelm His для обозначения внутренней выстилки полостей тела в противовес к термину «эпителий» [9, 33]. Эндотелий – это однослойный пласт специализированных клеток, обладающих метаболической активностью, который выстилает изнутри всю

сердечно-сосудистую систему и выполняет такие функции в организме, как обеспечение текучести крови в нормальном состоянии и запуск тромбообразования в месте повреждения сосуда, регуляция адгезии лейкоцитов, регуляция тонуса сосудов, сосудистое ремоделирование. Эти функции эндотелий сосудов осуществляет путем синтеза и выделения ряда биологически активных соедине-

*Серегина О.Б.* – ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
e-mail: aperi@yandex.ru

*Бабаева Т.Н.* – ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
врач-гематолог отделения гематологии, e-mail: babaeva\_tatyana@inbox.ru

*Поспелова Т.И.* – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ,  
e-mail: post\_gem@mail.ru



ний [8]. Количество эндотелиальных клеток в организме человека составляет примерно  $6 \times 10^{13}$ , их общий вес достигает 1–1,5 кг, общая площадь поверхности – 7 м<sup>2</sup> [17]. Выделяют несколько групп факторов, синтезируемых в эндотелии и регулирующих его функции:

1) факторы вазоконстрикции (эндотелин-1, ангиотензин-II, тромбоксан A<sub>2</sub>, простагландин H<sub>2</sub>) и факторы вазодилатации (оксид азота, простациклин, эндотелиновый фактор деполяризации (EDHF)).

2) факторы гемостаза (тромбоцитарный ростовой фактор (PDGF), ингибитор активатора плазминогена, фактор Виллебранда, ангиотензин IV, эндотелин-1), антикоагулянты (тромбомодулин, комплекс «гепарин – антитромбин III», гепарансульфат) и антиагреганты (оксид азота, тканевый активатор плазминогена, простациклин).

3) факторы, влияющие на рост сосудов – стимуляторы (эндотелин-1, ангиотензин II, супероксидный анион-радикал, фактор роста эндотелия сосудов) и ингибиторы (оксид азота, простациклин, С-натрийуретический пептид).

4) факторы, влияющие на воспаление – стимуляторы (TNF- $\alpha$ , супероксидный анион-радикал) и ингибиторы (оксид азота) [9].

В норме эндотелий обладает высокой тромборезистентностью, играет важную роль в поддержании жидкого состояния крови, предупреждении тромбозов [8]. Как известно, антикоагулянтные свойства эндотелия обеспечиваются следующими механизмами:

1) интактный эндотелий не обладает прокоагулянтной активностью;

2) эндотелий пассивно предотвращает контакт крови с субэндотелиальными структурами, обладающими выраженными прокоагулянтными свойствами;

3) интактный эндотелий синтезирует, выделяет в кровь или представляет на своей поверхности вещества, препятствующие коагуляции, адгезии, агрегации и спазму сосудов [5], а именно секретирует мощный ингибитор агрегации тромбоцитов простациклин, экспрессирует на поверхности тромбомодулин (связывает тромбин, в результате чего последний утрачивает коагуляционные свойства, но при этом сохраняет активирующее действие на систему естественных антикоагулянтов протеинов С и S), мукополисахариды и комплекс «гепарин – антитромбин III», синтезирует и секретирует тканевый активатор плазминогена, стимулирующий фибринолиз;

4) эндотелий способен элиминировать из крови активированные факторы свертывания крови и их метаболиты [2].

Центральную роль в процессе как физиологического, так и патологического ангиогенеза играет фактор роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor) [25, 32] – мультифункциональный цитокин, вызывающий пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток. Генное семейство VEGF млекопитающих включает пять представителей: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D и плацентарный фактор роста PIGF [52]. В отличие от всех других факторов роста, VEGF-A (классический VEGF) является мощным митогеном по отношению только к эндотелиальным клеткам и не вызывает пролиферацию других типов клеток [26]. VEGF также активирует урокиназу и коллагеназу, в результате чего происходит лизис эндотелиального матрикса, что повышает способность эндотелиальных клеток к миграции, а опухолевых – к инвазии и метастазированию [27]. Вместе с тем VEGF играет ключевую роль в разрушении эндотелия при воспалении, при котором он обеспечивает вазодилатацию и повышенную проницаемость [46]. В ряде исследований отмечалось повышение уровня VEGF при сепсисе и септическом шоке [10, 56] и при различных инфекционных заболеваниях [24, 41, 55].

В широком смысле слова эндотелиальную дисфункцию (ЭД) можно определить не только как ухудшение эндотелий-зависимой вазодилатации, но и как повышение содержания в сыворотке крови молекул адгезии, усиление пролиферации гладкомышечных клеток сосудов и развитие гиперкоагуляционного состояния [58].

Различают следующие типовые формы ЭД:

1) вазомоторная, при которой нарушается синтез оксида азота, простациклина, EDHF, повышается синтез эндотелина;

2) гемостатическая, которая сопровождается изменением образования тромбогенных и атромбогенных факторов, одним из ее чувствительных маркеров является D-димер, повышенный уровень которого в крови свидетельствует об активации фибринолиза, чему предшествуют тромбемия и усиленное образование нерастворимого фибрина [6, 50];

3) адгезионная, при которой происходит гиперэкспрессия молекул адгезии; неконтролируемая адгезия лейкоцитов имеет большое значение в патогенезе воспаления и иммунологических расстройств [50];

4) ангиогенная, с избыточным образованием ангиогенных факторов [7].

Выделение отдельных форм ЭД имеет определенное практическое значение для оптимизации подходов к ее фармакологической коррекции. Данные формы ЭД редко существуют изолиро-

ванно, но, как правило, доминируют при том или другом заболевании [1].

Одной из важных функций эндотелиальных клеток является ангиогенез. Известно, что кровоснабжение – один из определяющих факторов роста опухоли. Рост и метастатический потенциал большинства опухолей, как солидных, так и гематологических, зависят от неоангиогенеза [29, 49]. VEGF является ключевым цитокином в регуляции ангиогенеза. Источником его продукции при опухолевом росте становятся клетки, составляющие опухоль и ее микроокружение – макрофаги, лимфоциты и гранулоциты. При агрессивных лимфомах VEGF секретируется опухолевыми клетками, и его высокий уровень на этапе постановки диагноза, сочетающийся с высоким содержанием IL-6, ассоциирован с низкой выживаемостью [30, 34, 61]. VEGF запускает процесс неоангиогенеза, повышает проницаемость сосудистой стенки, что облегчает миграцию новых макрофагов в очаг опухолевого роста. По прибытии макрофагов в опухолевый очаг гипоксическое микроокружение стимулирует их продуцировать VEGF и матриксную металлопротеиназу, которые способствуют ангиогенезу и вносят вклад в повышение проницаемости сосудов опухоли. К тому же макрофаги секретируют большое количество факторов роста (PIGF, FGF, PDGF, M-CSF, TGF- $\beta$ ) и цитокинов (IL-1, IL-8, TNF- $\alpha$ ), которые стимулируют ангиогенез и активируют эндотелий [20, 28]. Таким образом, ангиогенная форма ЭД, основным маркером которой является повышение содержания VEGF в сыворотке крови, характеризуется повышенной проницаемостью эндотелия, разрушением субэндотелиального матрикса.

Провоспалительные цитокины, такие как TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-6, являющиеся важнейшими маркерами системной воспалительной реакции, также принимают активное участие в неоангиогенезе при злокачественных новообразованиях. IL-6 и TNF- $\alpha$  могут индуцировать продукцию VEGF клетками опухоли и ее микроокружения, а также индуцировать прямое высвобождение VEGF из нейтрофилов [18], источником повышенной продукции IL-6 при лимфомах являются как опухолевые В-лимфоциты, так и нормальные, неизмененные клетки [35]. Пациенты, страдающие НХЗЛ, с повышенным уровнем IL-6 и VEGF в сыворотке крови в дебюте заболевания имели худшие показатели общей выживаемости по сравнению с пациентами с нормальным содержанием этих цитокинов [44, 51]; значительное снижение в сыворотке крови концентрации VEGF и IL-6 в первые недели после назначения протокола полихимиотерапии СНОР коррелирует с большей вероятностью достижения полной ремиссии [48].

На начальном этапе возникновения опухоли источником провоспалительных цитокинов служат сами опухолевые клетки, клетки ее микроокружения и привлеченные в очаг макрофаги и нейтрофилы, которые являются также мощными регуляторами опухолевого ангиогенеза. Затем, по мере того как процесс начинает носить системный характер, в процесс вовлекается вся сеть эндотелиоцитов и сами эндотелиоциты становятся источником провоспалительных цитокинов. Клетки врожденного иммунитета, такие как макрофаги и нейтрофилы, вносят значительный вклад в повышенную проницаемость сосудистого фенотипа, наблюдаемого при опухолях, в основном за счет повышения концентрации биодоступного VEGF в микроокружении. Таким образом, лейкоциты, мигрируя в очаг опухолевого роста, под влиянием микроокружения приобретают свойства, которые вынуждают их работать на благо опухоли. Повышенная проницаемость сосудистой стенки облегчает процесс дальнейшего проникновения лейкоцитов в опухолевый очаг.

В дальнейшем, по мере увеличения опухоли, происходит «прорыв» и процесс начинает носить системный характер – провоспалительные цитокины и факторы роста попадают в системный кровоток, запуская активацию эндотелия не только локально, в сосудах опухоли, но и сосудистого русла всего организма. Продуцируемые опухолью и клетками микроокружения цитокины, находящиеся в плазме в растворенном состоянии или в составе тромбоцитов и микровезикул, участвуют в формировании премеастатических ниш в органах, которые в дальнейшем становятся метастатическими очагами. Эти эффекты осуществляются путем привлечения лейкоцитов в будущие места метастазов еще до прибытия в них опухолевых клеток. Таким образом, происходит подготовка микроокружения опухоли для облегчения процесса метастатической колонизации. Эндотелий играет главную роль в этом процессе. Неповрежденная сосудистая стенка выступает в роли барьера для метастатических опухолевых клеток, и целостность эндотелия служит важным защитным механизмом против процесса метастазирования. Метастазирование является сложным и труднейшим процессом для опухолевых клеток. Не все находящиеся в циркуляции опухолевые клетки, а только небольшая их часть осядет и станет источником вторичных очагов в отдаленных органах.

Первичная опухоль содействует метастатической колонизации путем организации системного процесса, который подготавливает место для вторичных очагов, создавая так называемую премеастатическую нишу. Это осуществляется

путем секреции в кровотоки ростовых факторов (прежде всего VEGF) и провоспалительных цитокинов, которые, воздействуя на эндотелий, повышают его проницаемость и облегчают процесс прохождения макрофагов и нейтрофилов в места будущих метастазов. Системное воспаление, признаком которого служит повышение уровня провоспалительных цитокинов и С-реактивного белка, является фактором, стимулирующим метастазирование. В работе L.D. Roy et al. [54] показано, что системное воспаление, вызванное аутоиммунным артритом, способствовало более раннему метастазированию и распространенности метастазов рака молочной железы, смоделированного на мышах.

Эффект метастазирования наблюдался не только в легких, но и в костном мозге, доказывая тот факт, что системное воспаление может быть общим стимулятором процесса метастазирования. Системное воспаление характеризуется тотальной воспалительной реактивностью эндотелиоцитов, плазменных и клеточных факторов крови, соединительной ткани, а на заключительных этапах – микроциркуляторными расстройствами в жизненно важных органах и тканях. При системном воспалении активированные эндотелиоциты сами являются источниками провоспалительных цитокинов и других медиаторов воспаления [17, 21, 60], включая ключевые для идентификации системной воспалительной реакции цитокины: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 и др. [3, 15, 37, 45]. Таким образом, системная воспалительная реакция с ее атрибутивным свойством в виде ЭД, а именно ее ангиогенной формы, будет способствовать прогрессированию опухоли и ее метастазированию.

Высокоспецифическим маркером ЭД является тромбомодулин – специфический мембранный белок, играющий основную роль в поддержании антикоагулянтных свойств крови. Известно, что связывание тромбина тромбомодулином усиливает специфичность тромбина по отношению к протеину С и тромбин-активируемому ингибитору фибринолиза. При этом повышается скорость их протеолитической активации почти в 3 раза, обеспечивая таким образом антикоагулянтные, антифибринолитические и противовоспалительные свойства сосудистой стенки. В норме основная часть тромбомодулина связана с мембраной эндотелиоцитов и в циркуляции определяется его незначительное количество. Растворимый тромбомодулин появляется в циркуляции в результате сшивания мембранно-связанных форм белка с поверхности эндотелиальных клеток под воздействием различных повреждающих факторов.

При патологических состояниях наблюдается умеренное, но достоверное повышение уровня тромбомодулина в плазме в 1,5–2,0 раза: при вирусных гепатитах [47], анкилозирующем спондилите [57], кардиоэмболическом ишемическом инсульте [19], ожирении [59], метаболическом синдроме у больных системной красной волчанкой [43], преэклампсии [53], сепсис-индуцированном синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания [39] и при развитии тяжелого острого респираторного дистресс-синдрома взрослых [40]. Содержание тромбомодулина значительно возрастает в плазме крови пациентов после операции аортокоронарного шунтирования [11, 36]. В настоящее время стойкое повышение концентрации циркулирующего тромбомодулина во время различных патологических процессов рассматривается как важный маркер ЭД и используется для определения риска сосудистых осложнений [12, 42].

Фактор фон Виллебранда представляет собой мультимерный гликопротеин с высоким молекулярным весом, который выделяется в кровотоки только активированным эндотелием. Он играет важную роль в роли медиатора адгезии тромбоцитов к поврежденным артериальным стенкам. Впервые фактор фон Виллебранда использовался в качестве маркера ЭД В. Boneu et al. в 1975 г. [13].

D-димеры и растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК) наряду с тромбомодулином и фактором фон Виллебранда также являются чувствительными маркерами гемостатической формы ЭД. Их повышенный уровень в сыворотке крови свидетельствует об активации фибринолиза, чему предшествуют тромбинемия и усиленное образование нерастворимого фибрина [6, 50]. D-димеры служат одновременно маркерами фибринообразования и фибринолитической активности. Концентрация D-димеров в сыворотке пропорциональна активности фибринолиза и количеству лизируемого фибрина. Увеличение уровня D-димеров в крови определяется при возникновении венозных тромбозов, атеротромбозе, тромбоемболии легочной артерии, синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания, после обширных операций, при онкологических заболеваниях и других состояниях с повышенным образованием фибрина. В. Boneu et al. рекомендуют измерение концентрации D-димеров для мониторинга или идентификации гиперкоагуляционного статуса [14].

Таким образом, ЭД играет огромную роль в процессах роста первично возникшей опухоли, ее метастазирования и тромботических осложнений, тем самым способствуя увеличению леталь-



ности, связанной с онкологическими заболеваниями. Системные воздействия, индуцированные опухолью, являются причиной большинства случаев летальности при онкологических заболеваниях [16].

Целью исследования являлось изучение уровня маркеров ангиогенной и гемостатических форм эндотелиальной дисфункции и системной воспалительной реакции в сыворотке крови больных агрессивными и индолентными вариантами НХЗЛ в дебюте заболевания.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На базе Городского гематологического центра г. Новосибирска обследовано 99 пациентов в возрасте 26–80 лет ( $60,71 \pm 10,63$  года), страдающих неходжкинскими В-клеточными лимфомами, среди них 54 мужчины и 45 женщин. В зависимости от степени злокачественности выделяли две группы больных: страдающих агрессивными вариантами лимфом (55 человек, что составило 55,6 % от общего числа пациентов) и индолентными вариантами лимфом (44 человека, 44,4 % от общего числа пациентов). Диагноз верифицировался данными иммуногистохимического исследования биопсированного лимфоузла, аспирата костного мозга. Согласно классификации ВОЗ (2008), к группе агрессивных вариантов лимфом были отнесены диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома III цитологического типа и мантийно-клеточная лимфома, к группе индолентных вариантов – диффузная В-мелкоклеточная лимфома, лимфома из клеток маргинальной зоны фолликула, фолликулярная лимфома I и II цитологического типа и лимфома из клеток centroфолликулярной зоны. В группе больных агрессивными вариантами лимфом подавляющее большинство пациентов имели генерализованные стадии заболевания: I–II стадия была только у девяти человек, а III–IV – у 46 (соответственно 16,4 и 83,6 % от числа всех больных агрессивными вариантами лимфом). Среди пациентов, страдающих индолентными вариантами лимфом, три человека были с I–II стадией, а подавляющее большинство (41 человек) – с III–IV (соответственно 6,8 и 93,2 % от количества всех больных индолентными вариантами лимфом).

Кровь у больных забирали до начала курсов полихимиотерапии, на этапе диагностики заболевания. Для оценки степени выраженности системной воспалительной реакции исследовали уровень в сыворотке крови провоспалительных цитокинов – TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, а также острофазовых белков – С-реактивного белка (СРБ) и фибриногена. С целью анализа противовоспалительной

резистентности определяли содержание противовоспалительного цитокина IL-4. Концентрацию цитокинов измеряли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов ИФА-Вектор Бест (Новосибирск). Группу контроля составили 20 здоровых добровольцев, имеющих аналогичное гендерное и возрастное распределение.

Для выявления ангиогенной формы ЭД определяли уровень основного ангиогенного цитокина – VEGF. В качестве маркеров гемостатической формы ЭД выступали такие показатели, как содержание тромбомодулина, D-димеров и растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), активность фактора Виллебранда. Активность фактора Виллебранда измеряли с помощью иммуноферментного набора для определения антигена фактора Виллебранда TECHNOZYM® vWF:Ag ELISA («Diapharma», США), результаты переводили в единицы активности из расчета 1 ЕД/мл антигена vWF:Ag = 100 % активности фактора Виллебранда. Концентрацию тромбомодулина и VEGF измеряли с использованием иммуноферментных наборов для количественного *in vitro* определения тромбомодулина («Wuhan USCN Business Co.», США, номер по каталогу E90529Hu, диапазон измерения 4,7–300 нг/мл) и VEGF («Вектор-Бест», номер по каталогу А-8784, диапазон измерений 0–2000 пг/мл). Для выявления РФМК использовали паракоагуляционный ортофенантролиновый тест, с помощью которого возможно не только качественное, но и количественное определение РФМК. Содержание фибриногена измеряли по методу Клауса, D-димеров – на автоматическом иммунохемилюминесцентном анализаторе Immulite 2000 («Siemens AG», Германия).

Данные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me [25 %; 75 %]). Для оценки различий использовали критерий Манна – Уитни, критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы ( $p$ ) принимали равным 0,05. Связь между различными признаками в исследуемой выборке определяли с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена ( $r_s$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-6 в сыворотке крови больных обеих групп было выше значений контрольной группы (таблица), что косвенным образом указывает на общность механизмов опухолевой прогрессии различных вариантов НХЗЛ. Концентрация IL-6 у пациентов с агрессивными лимфомами была больше, чем у лиц с индолентными



Таблица

Показатели, характеризующие ЭД у больных агрессивными и индолентными вариантами НХЗЛ

Параметр	Пациенты с НХЗЛ		Контрольная группа
	Агрессивные варианты	Индолентные варианты	
Содержание TNF- $\alpha$ , пг/мл	5,60** [3,01; 11,79]	7,26** [3,44; 16,61]	0,90 [8,53; 1,40]
Содержание IL-6, пг/мл	5,60**,# [2,92; 20,48]	3,30** [2,58; 5,32]	1,09 [0,40; 1,85]
Содержание IL-1 $\beta$ , пг/мл	2,85** [1,21; 4,27]	3,82 [2,97; 4,51]	0,43 [0,12; 0,58]
Содержание IL-4, пг/мл	0,96 [0,74; 1,30]	0,80 [0,60; 0,93]	1,00 [0,70; 1,35]
Содержание СРБ, мг/л	6,00** [3,00; 16,33]	3,00 [2,00; 4,00]	4,00 [3,25; 4,00]
Содержание фибриногена, г/л	4,40** [3,50; 5,30]	3,95 [2,73; 4,40]	3,25 [3,20; 3,50]
Содержание VEGF, пг/мл	290,70** [78,71; 544,63]	227,90** [162,00; 465,55]	26,81 [8,91; 79,60]
Содержание тромбомодулина, пг/мл	39,14**,# [22,50; 67,99]	41,62* [26,71; 47,39]	18,43 [11,06; 22,06]
Активность фактора фон Виллебранда, %	129,20**,# [102,35; 149,16]	106,25* [98,48; 114,68]	97,21 [89,93; 100,89]
Содержание D-димеров, нг/мл	444,50**,# [208,00; 683,15]	237,00** [127,50; 565,00]	128,00 [89,50; 198,00]
Содержание РФМК, мг/100 мл	5,75**,# [3,50; 10,0]	3,50* [3,50; 3,50]	3,00 [2,13; 3,50]

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей лиц контрольной группы (\* – при  $p < 0,05$ , \*\* – при  $p < 0,01$ ) и пациентов с индолентными вариантами НХЗЛ (# – при  $p < 0,05$ , ## – при  $p < 0,01$ ).

вариантами НХЗЛ, по содержанию TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  группы достоверно не различались (см. таблицу). Плейотропное действие цитокинов в организме, приводящее к стимулированию продукции одним цитокином целого спектра других, схожих по функциональной активности, способствует усугублению морфофункциональных изменений в клетках и тканях с развитием их функциональной недостаточности [4]. Доказательством факта плейотропности может служить обнаруженная в нашем исследовании прямая корреляционная зависимость между концентрацией в сыворотке крови TNF- $\alpha$  и IL-6 в группе больных агрессивными лимфомами ( $r_s = 0,345$ ), TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  (в группе больных агрессивными вариантами,  $r_s = 0,539$ , индолентными вариантами,  $r_s = 0,43$ ), IL-1 $\beta$  и IL-6 (в группе больных агрессивными лимфомами,  $r_s = 0,537$ ), а также между уровнем IL-1 $\beta$  и VEGF ( $r_s = 0,392$ ) в группе больных индолентными лимфомами.

Несмотря на увеличение содержания провоспалительных цитокинов, не происходило компенсаторного повышения уровня противовоспалительного цитокина IL-4 (см. таблицу), что свидетельствует и снижение противовоспалительной резистентности, и развитие цитокинового дисбаланса. У больных, страдающих агрессивными вариантами НХЗЛ, отмечалось повышение уровня в сыворотке крови исследуемых острофазовых белков (см. таблицу) – СРБ и фибриногена в срав-

нении с группой контроля. Также в этой группе больных была выявлена статистически значимая корреляция между концентрацией СРБ и цитокинов – TNF- $\alpha$  ( $r_s = 0,56$ ), IL-6 ( $r_s = 0,506$ ), IL-1 $\beta$  ( $r_s = 0,587$ ), IL-4 ( $r_s = 0,388$ ), а также между уровнем фибриногена и IL-6 ( $r_s = 0,314$ ). У больных, страдающих индолентными вариантами НХЗЛ, уровень С-реактивного белка и фибриногена достоверно не отличался от значений в группе контроля (см. таблицу).

Уровень VEGF был повышен в сыворотке крови больных обеих групп (см. таблицу), свидетельствуя о наличии ангиогенной формы ЭД, которая играет ключевую роль в процессе неоангиогенеза опухоли. При этом по величине данного показателя группы не различались, что подтверждает общность механизма неоангиогенеза как агрессивных, так и индолентных лимфом. Выявлена статистически значимая корреляция между уровнем VEGF и IL-6 ( $r_s = 0,385$ ), TNF- $\alpha$  ( $r_s = 0,304$ ) и IL-1 $\beta$  ( $r_s = 0,573$ ) в сыворотке крови больных агрессивными лимфомами.

Содержание тромбомодулина и активности фактора фон Виллебранда в сыворотке больных как агрессивными, так и индолентными лимфомами было выше, чем у лиц контрольной группы (см. таблицу). При сравнении групп больных агрессивными и индолентными лимфомами обнаружено статистически значимое различие величин обоих показателей. Выявлялись также

признаки тромбинемии в обеих группах больных как агрессивными, так и индолентными лимфомами – повышение концентрации D-димеров и РФМК по сравнению с группой контроля (см. таблицу). Величины обоих показателей у пациентов с агрессивными лимфомами были достоверно выше, чем у больных индолентными лимфомами. Таким образом, для пациентов характерно наличие гемостатической формы ЭД, сопровождаемой тромбинемией, более выраженной у страдающих агрессивными лимфомами.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Нами показано, что у пациентов с НХЗЛ именно ангиогенная форма ЭД была выражена наиболее ярко. Так, у больных как агрессивными, так и индолентными лимфомами был повышен уровень VEGF, локальное увеличение которого в месте расположения опухоли способствует неоангиогенезу, а возрастание в системном кровотоке указывает на активацию эндотелиальных клеток всего организма, повышение проницаемости эндотелия, что облегчает процесс проникновения лейкоцитов в места будущих метастазов с формированием премеатастических и антиметастических ниш. Также выявлена статистически значимая корреляция между содержанием VEGF и концентрацией IL-6, TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в сыворотке крови больных агрессивными лимфомами. В группе больных индолентными лимфомами отмечалась достоверная корреляция между уровнем IL-1 $\beta$  и VEGF. В сыворотке крови больных как агрессивными, так и индолентными лимфомами до начала терапии отмечалось достоверное повышение содержания IL-6 в сравнении с группой контроля, наиболее выраженное у пациентов с агрессивными лимфомами. Также у пациентов вне зависимости от степени агрессивности лимфом был повышен уровень других провоспалительных цитокинов, TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ .

В качестве маркеров системной воспалительной реакции нами были исследованы уровни острофазовых белков – СРБ и фибриногена. В группе больных агрессивными лимфомами величины обоих показателей были больше значений группы контроля. В ряде работ показано, что продукция СРБ гепатоцитами зависит от циркулирующего в сыворотке крови IL-6 [23, 36]. При этом увеличение содержания СРБ было характерно только для больных НХЗЛ с повышенной экспрессией гена IL-6, и это позволило предположить, что выработка СРБ была стимулирована IL-6, синтезированным опухолевыми клетками [23]. Похожие взаимоотношения обнаружены между экспрессией гена IL-6 и плазменным уровнем

фибриногена. Фибриноген продуцируется в основном гепатоцитами, его синтез зависит от IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$  [38]. При этом IL-6 стимулирует продукцию фибриногена гепатоцитами более эффективно, чем другие факторы [22, 31]. Клинические данные показывают, что циркулирующий IL-6, секретируемый клетками НХЗЛ, стимулирует в гепатоцитах выработку таких острофазовых белков, как СРБ и фибриноген [35]. В нашем исследовании в группе больных агрессивными вариантами НХЗЛ выявлена статистически значимая корреляция между уровнем СРБ и исследуемых про- и противовоспалительных цитокинов, а также между содержанием фибриногена и IL-6.

Несмотря на выраженность системной воспалительной реакции, содержание противовоспалительного цитокина IL-4 не отличалось от контрольных значений в обеих группах больных. Данное несоответствие между высоким уровнем провоспалительных цитокинов и низким ответом со стороны противовоспалительных цитокинов говорит о развитии цитокинового дисбаланса и о несостоятельности противовоспалительной резистентности на системном уровне, что является условием развития системного воспаления [3].

Выявленное нами повышение содержания растворимого тромбомодулина в сыворотке крови больных агрессивными формами НХЗЛ может рассматриваться как маркер гемостатической формы ЭД, выражающейся в снижении тромборезистентности эндотелия. Этот процесс является следствием воспалительной активации эндотелиоцитов и слущиванием тромбомодулина с их поверхности под влиянием провоспалительных цитокинов и ростовых факторов, синтезируемых опухолью и ее микроокружением. Нами также обнаружено умеренное увеличение активности фактора фон Виллебранда в сыворотке крови больных агрессивными и индолентными лимфомами, по величине данного показателя группы не различались. Уровень D-димеров и РФМК у больных НХЗЛ был повышен, что говорит об активации фибринолиза, при этом наиболее выраженные изменения были у больных агрессивными вариантами НХЗЛ. Таким образом, повышение в сыворотке крови содержания растворимого тромбомодулина, D-димеров и РФМК и активности фактора фон Виллебранда позволяют нам говорить о наличии гемостатической формы ЭД у больных, страдающих неходжкинскими лимфомами высокой степени злокачественности. У больных индолентными лимфомами наблюдались умеренно выраженные признаки тромбинемии в виде возрастания концентрации D-димеров и РФМК и умеренно выраженное повышение активности фактора фон Виллебранда.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у больных НХЗЛ наблюдались признаки ангиогенной и гемостатической форм ЭД, сопровождаемых проявлениями системной воспалительной реакции. Ангиогенная форма ЭД присутствовала в обеих группах больных и не зависела от степени злокачественности лимфом. Признаки системной воспалительной реакции, а также гемостатическая форма ЭД с сопутствующей тромбоцитопенией были ярче выражены у больных агрессивными лимфомами.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абросимов В.Н., Аристархов В.Г., Бяловский Ю.Ю., Вейс И.Е. Клиническая патофизиология. СПб.: СпецЛит, 2012. 432 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2008.
3. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А. Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Ч. 1. Общая характеристика процесса // Патол. физиология и эксперим. терапия. 2012. (4). 3–14.
4. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление. 2003. 2. (3). 20–35.
5. Долгов В.В., Свиринов П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. Тверь: Триада, 2005. 227 с.
6. Папаян Л.П., Князева Е.С. D-димер в клинической практике: Пособие для врачей. М.: Инсайт полиграфика, 2002. 20 с.
7. Петрищев Н.Н., Васина Л.В., Власов Т.Д. Типовые формы дисфункции эндотелия // Клинико-лаб. консилиум. 2007. (18). 31–36.
8. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Физиология и патофизиология эндотелия // Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / ред. Н.Н. Петрищев. СПб., 2003. 184 с.
9. Чернеховская Н.Е., Шишло В.К., Чомаева А.А., Кодина Т.В. Эндотелий кровеносных и лимфатических сосудов. М.: ВНИИ животноводства, 2010. 182 с.
10. Alves B.E., Montalvo S.A.L., Aranha F.J.P., Lorand-Metze I., de Souza C.A., Annichino-Bizzacchi J.M., de Paula E.V. Time-course of sFlt-1 and VEGF-A release in neutropenic patients with sepsis

and septic shock: a prospective study // J. Transl. Med. 2011. 9. (1). 23.

11. Arazi H.C., Doiny D.G., Torcivia R.S., Grancelli H., Waldman S.V., Nojek C., Fornari M.C., Badimon J.J. Impaired anti-platelet effect of aspirin, inflammation and platelet turnover in cardiac surgery // Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg. 2010. 10. (6). 863–867.

12. Boehme M.W., Deng Y., Raeth U., Bierhaus A., Ziegler R., Stremmel W., Nawroth P.P. Release of thrombomodulin from endothelial cells by concerted action of TNF-alpha and neutrophils: *in vivo* and *in vitro* studies // Immunology. 1996. 87. (1). 134–140.

13. Boneu B., Abbal M., Plante J., Bierme R. Factor-VIII complex and endothelial damage // Lancet. 1975. 305. (7922). 1430.

14. Boneu B., Bes G., Pelzer H., Sie P., Boccalon H. D-Dimers, thrombin antithrombin III complexes and prothrombin fragments 1+2: diagnostic value in clinically suspected deep vein thrombosis // Thromb. Haemost. 1991. 65. (1). 28–31.

15. Brown Z., Gerritsen M.E., Carley W.W., Strieter R.M., Kunkel S.L., Westwick J. Chemokine gene expression and secretion by cytokine-activated human microvascular endothelial cells. Differential regulation of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in response to interferon-gamma // Am. J. Pathol. 1994. 145. (4). 913–921.

16. Cedervall J., Dimberg A., Olsson A.K. Tumor-induced local and systemic impact on blood vessel function // Mediators Inflamm. 2015. 2015. 1–8.

17. Cines D.B., Pollak E.S., Buck C.A., Loscalzo J., Zimmerman G.A., McEver R.P., Pober J.S., Wick T.M., Konkle B.A., Schwartz B.S., Barnathan E.S., McCrae K.R., Hug B.A., Schmidt A.M., Stern D.M. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders // Blood. 1998. 91. (10). 3527–3561.

18. Cohen T., Nahari D., Cerem L.W., Neufeld G., Levi B.-Z. Interleukin 6 Induces the Expression of Vascular Endothelial Growth Factor // J. Biol. Chem. 1996. 271. (2). 736–741.

19. Dharmasaroja P., Dharmasaroja P.A., Sobhon P. Increased plasma soluble thrombomodulin levels in cardioembolic stroke // Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2012. 18. (3). 289–293.

20. Dirx A.E.M., oude Egbrink M.G.A., Wagstaff J., Griffioen A.W. Monocyte/macrophage infiltration in tumors: modulators of angiogenesis // J. Leukocyte Biol. 2006. 80. (6). 1183–1196.

21. Dormond O., Bezzi M., Mariotti A., Ruegg C. Prostaglandin E2 promotes integrin  $\alpha V\beta 3$ -dependent endothelial cell adhesion, Rac-activation, and spreading through cAMP/PKA-dependent signaling // J. Biol. Chem. 2002. 277. (48). 45838–45846.

22. Duvoix A., Dickens J., Haq I., Mannino D., Miller B., Tal-Singer R., Lomas D.A. Blood fibrinogen



- as a biomarker of chronic obstructive pulmonary disease // *Thorax*. 2013. 68. (7). 670–676.
23. *Emilie D., Wijdenes J., Gisselbrecht C., Jarrousse B., Billaud E., Blay J.Y., Gabarre J., Gaillard J.P., Brochier J., Raphael M.* Administration of an anti-interleukin-6 monoclonal antibody to patients with acquired immunodeficiency syndrome and lymphoma: effect on lymphoma growth and on B clinical symptoms // *Blood*. 1994. 84. (8). 2472–2479.
24. *Erdman L.K., Dhabangi A., Musoke C., Conroy A.L., Hawkes M., Higgins S., Rajwans N., Wolofsky K.T., Streiner D.L., Liles W.C., Cserti-Gazdewich C.M., Kain K.C.* Combinations of host biomarkers predict mortality among Ugandan children with severe malaria: A retrospective case-control study // *PLoS One*. 2011. 6. (2). e17440.
25. *Ferrara N.* Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: Therapeutic implications // *Semin. Oncol.* 2002. 29. (6). 10–14.
26. *Ferrara N., Davis-Smyth T.* The biology of vascular endothelial growth factor // *Endocr. Rev.* 1997. 18. (1). 4–25.
27. *Ferrara N., Keyt B.* Vascular endothelial growth factor: Basic biology and clinical implications // *EXS*. 1997. 79. 209–232.
28. *Fischer C., Jonckx B., Mazzone M., Zaccigna S., Loges S., Pattarini L., Chorianopoulos E., Liesenborghs L., Koch M., de Mol M., Autiero M., Wyns S., Plaisance S., Moons L., van Rooijen N., Giacca M., Stassen J.-M., Dewerchin M., Collen D., Carmeliet P.* Anti-PlGF inhibits growth of VEGF(R)-inhibitor-resistant tumors without affecting healthy vessels // *Cell*. 2007. 131. (3). 463–475.
29. *Folkman J.* Angiogenesis // *Annu. Rev. Med.* 2006. 57. (1). 1–18.
30. *Foss H.-d., Araujo I., Demel G., Klotzbach H., Hummel M., Stein H.* Expression of vascular endothelial growth factor in lymphomas and Castleman's disease // *J. Pathol.* 1997. 183. (1). 44–50.
31. *Gabay C., Kushner I.* Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation // *N. Engl. J. Med.* 1999. 340. (6). 448–454.
32. *Gerber H.-P., Ferrara N.* The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis // *J. Mol. Med. (Berl)*. 2002. 81. (1). 20–31.
33. *Hwa C., Aird W.C.* The history of the capillary wall: doctors, discoveries, and debates // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007. 293. (5). H2667–H2679.
34. *Kadowaki I., Ichinohasama R., Harigae H., Ishizawa K., Okitsu Y., Kameoka J., Sasaki T.* Accelerated lymphangiogenesis in malignant lymphoma: possible role of VEGF-A and VEGF-C // *Br. J. Haematol.* 2005. 130. (6). 869–877.
35. *Kato H., Kinoshita T., Suzuki S., Nagasaka T., Hatano S., Murate T., Saito H., Hotta T.* Production and effects of interleukin-6 and other cytokines in patients with non-Hodgkin's lymphoma // *Leuk. Lymphoma*. 1998. 29. (1-2). 71–79.
36. *Klein B., Wijdenes J., Zhang X.G., Jourdan M., Boiron J.M., Brochier J., Liautard J., Merlin M., Clement C., Morel-Fournier B.* Murine anti-interleukin-6 monoclonal antibody therapy for a patient with plasma cell leukemia // *Blood*. 1991. 78. (5). 1198–1204.
37. *Kokame K., Zheng X., Sadler J.E.* Activation of thrombin-activable fibrinolysis inhibitor requires epidermal growth factor-like domain 3 of thrombomodulin and is inhibited competitively by protein C // *J. Biol. Chem.* 1998. 273. (20). 12135–12139.
38. *Krishnaswamy G., Kelley J., Yerra L., Smith J.K., Chi D.S.* Human endothelium as a source of multifunctional cytokines: molecular regulation and possible role in human disease // *J. Interferon Cytokine Res.* 1999. 19. (2). 91–104.
39. *Kuby J.* Role of cytokines in the inflammatory response. Immunology, 2<sup>nd</sup> edition / Ed. J. Kuby. N.Y.: W.H. Freeman and Company, 1994. 313–315.
40. *Lin S.-M., Wang Y.-M., Lin H.-C., Lee K.-Y., Huang C.-D., Liu C.-Y., Wang C.-H., Kuo H.-P.* Serum thrombomodulin level relates to the clinical course of disseminated intravascular coagulation, multiorgan dysfunction syndrome, and mortality in patients with sepsis // *Crit. Care Med.* 2008. 36. (3). 683–689.
41. *Liu Z.H., Wei R., Wu Y.P., Lisman T., Wang Z.X., Han J.J., Ren D.L., Chen B., Xia Z.L., Zhu Z., Zhang Y., Cui X., Hu H.T., de Groot P.G., Xu W.B.* Elevated plasma tissue-type plasminogen activator (t-PA) and soluble thrombomodulin in patients suffering from severe acute respiratory syndrome (SARS) as a possible index for prognosis and treatment strategy // *Biomed. Environ. Sci.* 2005. 18. (4). 260–264.
42. *Maroeska te Loo D., Bosma N., van Hinsbergh V., Span P., de Waal R., Clarijs R., Sweep C., Monnens L., van den Heuvel L.* Elevated levels of vascular endothelial growth factor in serum of patients with D+ HUS // *Pediatr. Nephrol.* 2004. 19. (7). 754–760.
43. *Martin F.A., Murphy R.P., Cummins P.M.* Thrombomodulin and the vascular endothelium: insights into functional, regulatory, and therapeutic aspects // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013. 304. (12). H1585–H1597.
44. *Mok C.C., Poon W.L., Lai J.P.S., Wong C.K., Chiu S.M., Lun S.W.M., Ko G.T.C., Lam C.W.K., Lam C.S.* Metabolic syndrome, endothelial injury, and subclinical atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus // *Scand. J. Rheumatol.* 2010. 39. (1). 42–49.
45. *Niitsu N., Okamoto M., Nakamine H., Yoshino T., Tamaru J.-I., Nakamura S., Higashihara M., Hirano M.* Simultaneous elevation of the serum concentrations of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 as independent predictors of prognosis in aggressive non-Hodgkin's lymphoma // *Eur. J. Haematol.* 2002. 68. (2). 91–100.



46. Nilsen E.M., Johansen F.E., Jahnsen F.L., Lundin K.E.A., Scholz T., Brandtzaeg P., Haraldsen G. Cytokine profiles of cultured microvascular endothelial cells from the human intestine // *Gut*. 1998. 42. (5). 635–642.
47. Page A.V., Liles W.C. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases // *Virulence*. 2013. 4. (6). 507–516.
48. Pawlak K., Mysliwiec M., Pawlak D. Hepatitis C virus seropositivity and TNF superfamily receptors: sCD40, sFas – the new putative determinants of endothelial dysfunction in haemodialysis patients // *Thromb. Res*. 2010. 126. (5). 393–398.
49. Pedersen L.M., Jurgensen G.W., Johnsen H.E. Serum levels of inflammatory cytokines at diagnosis correlate to the bcl-6 and CD10 defined germinal centre (GC) phenotype and bcl-2 expression in patients with diffuse large B-cell lymphoma // *Br. J. Haematol*. 2005. 128. (6). 813–819.
50. Perez-Atayde A.R., Sallan S.E., Tedrow U., Connors S., Allred E., Folkman J. Spectrum of tumor angiogenesis in the bone marrow of children with acute lymphoblastic leukemia // *Am. J. Pathol*. 1997. 150. (3). 815–821.
51. Righini M., Perrier A., de Moerloose P., Bounameaux H. D-Dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later // *J. Thromb. Haemost*. 2008. 6. (7). 1059–1071.
52. Riihijarvi S., Nurmi H., Holte H., Bjorkholm M., Fluge O., Pedersen L.M., Rydstrom K., Jerkeman M., Eriksson M., Leppa S. High serum vascular endothelial growth factor level is an adverse prognostic factor for high-risk diffuse large B-cell lymphoma patients treated with dose-dense chemoimmunotherapy // *Eur. J. Haematol*. 2012. 89. (5). 395–402.
53. Robinson C.J., Stringer S.E. The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors // *J. Cell Sci*. 2001. 114. (Pt. 5). 853–865.
54. Rousseau A., Favier R., van Dreden P. Elevated circulating soluble thrombomodulin activity, tissue factor activity and circulating procoagulant phospholipids: New and useful markers for pre-eclampsia? // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*. 2009. 146. (1). 46–49.
55. Roy L.D., Ghosh S., Pathangey L.B., Tinder T.L., Gruber H.E., Mukherjee P. Collagen induced arthritis increases secondary metastasis in MMTV-PyV MT mouse model of mammary cancer // *BMC Cancer*. 2011. 11. (1).
56. Sathupan P., Khongphattanayothin A., Srisai J., Srikaew K., Poovorawan Y. The role of vascular endothelial growth factor leading to vascular leakage in children with dengue virus infection // *Ann. Trop. Paediatr*. 2007. 27. (3). 179–184.
57. Shapiro N.I., Yano K., Okada H., Fischer C., Howell M., Spokes K.C., Ngo L., Angus D.C., Aird W.C. A prospective, observational study of soluble FLT-1 and vascular endothelial growth factor in sepsis // *Shock*. 2008. 29. (4). 452–457.
58. Taylan A., Sari I., Kozaci D.L., Yildiz Y., Bilge S., Coker I., Maltas S., Gunay N., Akkoc N. Evaluation of various endothelial biomarkers in ankylosing spondylitis // *Clin. Rheumatol*. 2011. 31. (1). 23–28.
59. Triggler C.R., Ding H. A review of endothelial dysfunction in diabetes: a focus on the contribution of a dysfunctional eNOS // *J. Am. Soc. Hypertens*. 2010. 4. (3). 102–115.
60. Urban M., Wojtkielewicz K., Glowinska B., Peczynska J. Soluble thrombomodulin – a molecular marker of endothelial cell injury in children and adolescents with obesity // *Endokrynol. Diabetol. Chor. Przemiany Materii Wieku Rozw*. 2005. 11. (2). 73–77.
61. Walker T.S., Brown J.S., Hoover C.S., Morgan D.A. Endothelial Prostaglandin Secretion: Effects of Typhus Rickettsiae // *J. Infect. Dis*. 1990. 162. (5). 1136–1136.
62. Zhao W.-L., Mourah S., Mounier N., Leboeuf C., Daneshpouy M.E., Legres L., Meignin V., Oksenhendler E., Maignin C.L., Calvo F., Briere J., Gisselbrecht C., Janin A. Vascular endothelial growth factor-A is expressed both on lymphoma cells and endothelial cells in angioimmunoblastic T-cell lymphoma and related to lymphoma progression // *Lab. Invest*. 2004. 84. (11). 1512–1519.

## THE ROLE OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AS A PART OF SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE IN PATHOGENESIS OF AGGRESSIVE AND INDOLENT NON-HODGKIN'S LYMPHOMAS

Olga Borisovna SEREGINA<sup>1</sup>, Tatyana Nikolaevna BABAEVA<sup>1,2</sup>, Tatyana Ivanovna POSPELOVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk Medical State University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

<sup>2</sup>Novosibirsk Clinical Hospital № 2  
630051, Novosibirsk, Polzunov str., 21

---

**Objective.** To study of manifestation of angiogenic and hemostatic forms of endothelial dysfunction and systemic inflammatory response in patients with non-Hodgkin's lymphomas at the onset of disease. **Material and methods.** A total of 99 patients were enrolled in this study, including 55 patients with aggressive variants and 44 patients with indolent variants. The average age was 60.71±10.63 years. The serum level of vascular endothelial growth factor (VEGF) was measured as a marker of angiogenic form of endothelial dysfunction, the serum levels of thrombomodulin, D-dimers, soluble fibrin-monomer complex (SFMC) and level of Willebrand factor activity were used for evaluation of hemostatic form of endothelial dysfunction. To assess the degree of systemic inflammation response the serum levels of proinflammatory cytokines – TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 were measured, as well as serum level of acute phase proteins – C-reactive protein (CRP), fibrinogen. The serum level of IL-4 was used to evaluate antiinflammation resistance. **Results and discussion.** Proinflammatory cytokine (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6) content was higher in both studied groups compare to the control group. Serum concentration of anti-inflammatory cytokine IL-4 in studied groups did not differ from the level in the controls group. CRP and fibrinogen serum content was increased only in group of patients with aggressive variants. There was a significant correlation between the level of CRP and proinflammatory cytokines in aggressive lymphoma group. Serum content of VEGF, thrombomodulin, D-dimers, SFMC and Willebrand factor activity were increased in both studied group in comparison with the control group. Concentration of thrombomodulin, D-dimers, SFMC and Willebrand factor activity was higher in patients with aggressive than in patients with indolent lymphomas. **Conclusion.** The signs of angiogenic and hemostatic forms of endothelial dysfunction in patients with aggressive and indolent variants of non-Hodgkin's lymphoma were detected, as well as manifestation of systemic inflammatory response and attenuation of anti-inflammatory resistance with development of cytokines imbalance with proinflammatory cytokines predominance. The manifestations of systemic inflammatory response and hemostatic type of endothelial dysfunction with activation of coagulation were displayed more prominently in the aggressive lymphoma group.

---

**Key words:** types of endothelial dysfunction, systemic inflammatory response, non-Hodgkin's lymphomas, cytokines imbalance, anti-inflammatory resistance.

*Seregina O.B.* – assistant professor of the department of therapy, hematology and transfusiology,  
e-mail: alepu@yandex.ru

*Babaeva T.N.* – candidate of medical sciences, assistant professor of the department of therapy,  
hematology and transfusiology, e-mail: babaeva\_tatyana@inbox.ru

*Pospelova T.I.* – doctor of medical sciences, professor, vice rector on scientific work, head of the department  
of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post\_gem@mail.ru

**МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МЕТОДИК КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЭРИТРОЦИТСОДЕРЖАЩИХ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ****Наталья Сергеевна НИКУЛИНА, Елена Николаевна КАЛИНИНА***Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА  
610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72*

**Цель исследования** – оценить пригодность методик контроля качества эритроцитсодержащих компонентов крови. **Материал и методы.** С целью оценки метрологических характеристик методик осуществлен анализ 46 образцов эритроцитсодержащих компонентов крови: 5 образцов эритроцитной массы, 5 образцов эритроцитной массы лейкофильтрованной, 32 образца эритроцитной взвеси лейкофильтрованной и 4 образца тромбоцитного концентрата лейкофильтрованного. При определении содержания гемоглобина в качестве отрицательного контроля (образец «плацебо») использовали «Натрия хлорид, раствор для инфузий 0,9 %». Содержание гемоглобина (общего и свободного) измеряли тремя методами: гемиглобинцианидным методом, бесцианидным SLS-методом с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i-1», фотометрическим методом с использованием портативного анализатора «HemoCue Hb 201+». Для определения гематокрита использовали два метода: унифицированный метод центрифугирования в гематокритных капиллярах и кондуктометрический метод с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i-1». Количество остаточных лейкоцитов подсчитывали тремя методами: в камере Горяева, проточной цитометрией с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i-1» и анализатора «FACS Canto™II». **Результаты и их обсуждение.** Максимальные значения коэффициентов вариации методик анализа общего гемоглобина и степени гемолиза гемиглобинцианидным методом, гематокрита унифицированным методом составили 3,03, 20,71 и 1,83 % соответственно. При использовании анализатора «Sysmex XT-4000i-1» коэффициенты вариации методик определения содержания гемоглобина составили от 0,29 до 0,54 %, гематокрита – от 0,58 до 1,87 %. В ходе сопоставления трех методик определения количества остаточных лейкоцитов в лейкофильтрованных компонентах крови сделан вывод о целесообразности использования метода проточной цитометрии на анализаторе «FACS Canto™II». Приписанная характеристика методики составила 19,8 %. **Заключение.** Для контроля общего гемоглобина и степени гемолиза рекомендованы гемиглобинцианидный метод и бесцианидный SLS-метод с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i». Определение гематокрита следует проводить с использованием унифицированного метода и с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i». Количество остаточных лейкоцитов в лейкофильтрованных компонентах рекомендовано определять методом проточной цитометрии на анализаторе «FACS Canto™II».

**Ключевые слова:** валидация, эритроцитсодержащие компоненты крови, контроль качества, методики анализа, метрологические характеристики.

Основной задачей учреждений службы крови является заготовка донорской крови и ее компонентов надлежащего качества. В приложении № 1 к Техническому регламенту о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии, утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации № 29 от 26.01.2010 г. (далее – Технический регламент), приведен перечень показателей биологической полноценности, функциональной активности и лечебной эффективности донорской крови и ее компонентов [3]. Однако методики анализа указанных показателей в этом документе не представлены. В связи

с этим важной задачей является составление перечня и валидация рекомендуемых к применению методик контроля качества крови донорской и ее компонентов, и определение их метрологических характеристик.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Перечень предлагаемых методик контроля качества эритроцитсодержащих компонентов крови и допустимые коэффициенты вариации представлены в табл. 1. Все испытания проведены в течение срока годности анализируемых образцов компонентов крови.

*Никулина Н.С. – младший научный сотрудник лаборатории препаратов крови, e-mail: nikulina@niigpk.ru  
Калинина Е.Н. – начальник отдела обеспечения качества, e-mail: kalininaen@niigpk.ru*

Таблица 1

Допустимые коэффициенты вариации CV методик контроля качества эритроцитсодержащих компонентов крови

Показатель качества	Метод	Критерий приемлемости	Нормативный документ
Содержание общего гемоглобина	1. Гемиглобинцианидный метод 2. Бесцианидный SLS-метод с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i-1» 3. Фотометрия с использованием портативного анализатора HemoCueHb 201+	$CV \leq 4,0 \%$	Приказ МЗ РФ от 26.05.2003 № 220 «Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов»
Степень гемолиза	1. Гемиглобинцианидный метод 2. Бесцианидный SLS-метод с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i-1» 3. Фотометрия с использованием портативного анализатора HemoCueHb 201+	$CV \leq 23,3 \%$	Приказ МЗ РФ от 07.02.2000 № 45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения РФ»
Гематокрит	1. Кондуктометрия с гидродинамическим фокусированием с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i-1» 2. Унифицированный метод центрифугирования в гематокритных капиллярах	$CV \leq 2,4 \%$	Приказ МЗ РФ от 07.02.2000 № 45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения РФ»
Количество остаточных лейкоцитов	1. Метод подсчета в камере Горяева 2. Проточная цитометрия с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i-1» 3. Проточная цитометрия с использованием анализатора FACSCanto™ II	Не установлен	—

Содержание гемоглобина (общего и свободного) в эритроцитсодержащих компонентах крови определяли тремя разработанными методами:

1. Гемиглобинцианидным методом с использованием наборов реагентов «Гемоглобин-1000-«С-Пб» или «Гемоглобин-200-«С-Пб» (ТУ 9398-279-11149567-02, ООО «Фирма Синтакон», Россия). Оптическую плотность измеряли относительно трансформирующего раствора при длине волны 540 нм в кюветках с толщиной оптического слоя 10 мм [4] с использованием спектрофотометра PV1251C (ЗАО «Солар», Беларусь).

2. Бесцианидным SLS-методом с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i-1» (Roche, Швейцария) и комплекта реагентов для него: CELPACK (разбавитель, готовый к использованию), STROMATOLYSER-FB (разбавитель, готовый к использованию), STROMATOLYSER-4DL (разбавитель, готовый к использованию), STROMATOLYSER-4DS (краситель, готовый к использованию), RET SEARCH II (готовый набор, состоящий из разбавителя и

красителя), SULFOLYSER (реагент без цианидов, используется для определения гемоглобина, готовый к использованию), CELLCLEAN (детергент для очистки прибора, удаления остатков лизирующих реагентов, клеток и белков крови из рабочих узлов анализатора), контрольные материалы для анализаторов Sysmex серии X (XS, XT, XE) СВС-XE (уровень 1 – низкий, уровень 2 – норма, уровень 3 – высокий).

3. Фотометрическим методом с использованием портативного анализатора для определения уровня гемоглобина «HemoCue Hb 201+» («HemoCue AB», Швеция) и микрокувет «HemoCue Hb 201» («HemoCue AB»).

Для определения гематокрита использовали два метода:

1. Метод кондуктометрии с гидродинамическим фокусированием с применением гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i-1» и комплекта реагентов для него.

2. Унифицированный метод определения общего объема эритроцитов путем центрифуги-



рования в гематокритных капиллярах (ТУ 9464-001-52876351-2000, ООО «МиниМед», Россия) на центрифуге медицинской «MPW-215» («MPW Med.Instruments», Польша) при 8000 об/мин в течение 5 мин. Значение гематокрита считывали с использованием ридера гематокритного круглого («MPW Med.Instruments»).

Количество остаточных лейкоцитов подсчитывали тремя методами:

1) унифицированным методом подсчета в 2-сеточной камере Горяева с использованием светового микроскопа «Микмед-1» («ЛОМО», Россия);

2) с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i-1» и комплекта реагентов для него;

3) методом проточной цитометрии с использованием анализатора «FACS Canto™ II» («BD Biosciences», США) с использованием набора реагентов BD Leuco Count (BD).

Содержание гемоглобина и количество лейкоцитов в дозе рассчитывали исходя из извлекаемого объема компонента крови, определенного с помощью калиброванного мерного цилиндра.

С целью оценки метрологических характеристик методик осуществлен анализ гематокрита унифицированным методом, а также определение содержания гемоглобина и степени гемолиза гемиглобинцианидным методом в 8 единицах эритроцитсодержащих компонентов крови, заготовленных с использованием антикоагулянта CPDA: в 5 образцах эритроцитной массы и в 3 образцах эритроцитной взвеси с ресуспендирующим раствором фильтрованной (ресуспендирующий раствор – SAG-M). При определении содержания гемоглобина в качестве отрицательного контроля (образец «плацебо») использовали «Натрия хлорид, раствор для инфузий 0,9 %». В ходе исследования двумя аналитиками проведено по 10–12 определений каждого показателя в каждом образце. Полученные данные подвергли статистической обработке. В аттестационном эксперименте при определении содержания гемоглобина и гематокрита с использованием анализатора «Sismex XT-4000i-1» исследовали образцы эритроцитной взвеси с ресуспендирующим раствором фильтрованной (ресуспендирующий раствор – SAG-M): содержание гемоглобина определяли в 4 образцах, гематокрита – в 2 образцах. Каждую пробу исследовали десятикратно. С целью сравнения результатов, полученных параллельно разными методиками определения общего гемоглобина, гематокрита и степени гемолиза, проводили контроль 5 образцов эритроцитной массы лейкофильтрованной и 17 образцов

эритроцитной взвеси лейкофильтрованной. Пробы анализировали в дублях.

Проведенный анализ нормативной документации не позволил установить критерии приемлемости при определении остаточных лейкоцитов. В связи с этим установление метрологической характеристики проводили на основе экспериментальной оценки. В аттестационных испытаниях по установлению приписанных характеристик методик определения остаточных лейкоцитов анализировали 10 образцов лейкофильтрованных компонентов крови (6 образцов эритроцитной взвеси с ресуспендирующим раствором лейкофильтрованной, 4 образца тромбоцитного концентрата лейкофильтрованного) методом подсчета в камере Горяева с использованием анализаторов «FACS Canto™ II» и «Sismex XT-4000i».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе метрологической оценки гемиглобинцианидного метода определения содержания общего гемоглобина при анализе отрицательного контроля значение оптической плотности составило  $0,000 \pm 0,001$ . Содержание гемоглобина в образце «плацебо» было принято равным нулю, что соответствует критерию специфичности. Максимальные значения коэффициентов вариации методик анализа общего гемоглобина и степени гемолиза гемиглобинцианидным методом, гематокрита – унифицированным методом составили 3,03, 20,71 и 1,83 % соответственно. При использовании анализатора «Sismex XT-4000i-1» коэффициенты вариации методик определения содержания гемоглобина составили от 0,29 до 0,54 %, гематокрита – от 0,58 до 1,87 %. По результатам проведенного исследования анализируемая характеристика сходимости во всех случаях не превышала установленных ранее нами критериев приемлемости (см. табл. 1).

Значимость различий результатов определения содержания общего гемоглобина различными методиками оценивали с использованием дисперсионного анализа ANOVA. Значение  $p = 0,0642$  в тесте Левена свидетельствовало об обоснованности проведения дисперсионного анализа для полученных экспериментальных данных. Рассчитанное в модуле ANOVA значение  $p = 0,0741$  подтверждало гипотезу об отсутствии различий между группами [2], следовательно, результаты определения содержания общего гемоглобина с использованием «HemoCue Hb 201+» статистически эквивалентны результатам, полученным на анализаторе «Sismex XT-4000i-1» и гемиглобинцианидным методом.

Таблица 2

Значения коэффициентов вариации результатов определения количества остаточных лейкоцитов в лейкофильтрованных компонентах крови

Метод подсчета в камере Горяева	Анализатор SismexXT-4000i	Анализатор FACSCanto™ II
От 6,8 до 447,2 %	От 34,6 до 129,1 %	От 0,9 до 19,8 %

Затем проводили сравнение методик определения степени гемолиза с применением анализаторов «Sismex XT-4000i-1» и «HemoCue Hb 201+» с референсной методикой – гемиглобинцианидным методом с приписанной характеристикой сходимости, установленной на предыдущем этапе настоящего исследования [1]. Проверку гипотезы о статистической значимости различий осуществляли с использованием *t*-критерия Стьюдента. Данные, полученные с использованием гематологического анализатора «Sismex XT-4000i-1», были статистически эквивалентны данным референсной методики ( $p = 0,19076$ ). Вместе с тем результаты, полученные на портативном анализаторе «HemoCue Hb 201+», значительно отличались ( $p = 0,00000$ ), при этом наблюдалось занижение значений степени гемолиза. В связи с этим сделан вывод о нецелесообразности применения портативного анализатора «HemoCue Hb 201+» для контроля степени гемолиза и содержания общего гемоглобина в эритроцитсодержащих компонентах крови.

Результаты определения гематокрита различными методиками анализировали с использованием *t*-критерия Стьюдента. Рассчитанное значение  $p = 0,14629$  свидетельствовало об отсутствии значимых различий результатов сравниваемых методик определения гематокрита. Следовательно, обе методики (метод центрифугирования в гематокритных капиллярах и метод кондуктометрии с гидродинамическим фокусированием на гематологическом анализаторе «Sysmex XT-4000i-1») пригодны для определения показателя гематокрита в эритроцитсодержащих компонентах крови.

Результаты статистической обработки данных, полученных при определении количества остаточных лейкоцитов различными методиками, представлены в табл. 2, из которой видно, что приемлемыми являются значения коэффициентов вариации результатов определения величины показателя с использованием анализатора «FACS Canto™II», которые составили от 0,9 до 19,8 %. Высокая вариация результатов наблюдалась при использовании камеры Горяева и анализатора «Sismex XT-4000i». Следует отметить, что при визуальном подсчете клеток выявлена тенден-

ция к снижению коэффициентов вариации при увеличении количества остаточных лейкоцитов в образце. Согласно полученным данным, использование камеры Горяева допустимо для подсчета количества лейкоцитов более  $40,0 \times 10^6$  в дозе. Высокие коэффициенты вариации при тестировании образцов на анализаторе «Sysmex XT-4000i» связаны с тем, что количество лейкоцитов от 0 до  $25,0 \times 10^6$  в дозе является фоновым диапазоном согласно технической документации на анализатор. Вместе с тем в соответствии с требованиями Технического регламента количество остаточных лейкоцитов в лейкофильтрованных компонентах крови не должно превышать  $1,0 \times 10^6$  клеток в дозе. Следовательно, метод подсчета в камере Горяева и анализатор «Sysmex XT-4000i» не пригодны для анализа лейкофильтрованных компонентов крови по показателю «Количество лейкоцитов», так как не обладают достаточной аналитической чувствительностью. В ходе сопоставления трех методик определения количества остаточных лейкоцитов в лейкофильтрованных компонентах крови сделан вывод о целесообразности использования метода проточной цитометрии на анализаторе «FACS Canto™II». Приписанная характеристика методики составила 19,8 % [1].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе метрологической оценки методик контроля качества эритроцитсодержащих компонентов крови установлены приписанные характеристики методик определения общего гемоглобина и степени гемолиза гемиглобинцианидным методом и бесцианидным SLS-методом с использованием гематологического анализатора «Sysmex XT-4000i», доказана статистическая эквивалентность результатов указанных методик. Сделан вывод о непригодности метода фотометрии с применением портативного анализатора «HemoCue Hb 201+» для оценки содержания общего гемоглобина и степени гемолиза. Установлены приписанные характеристики и показано отсутствие статистических различий результатов определения гематокрита унифицированным методом и с использованием гематологическо-

го анализатора «Sysmex XT-4000i». Количество остаточных лейкоцитов в лейкофильтрованных компонентах рекомендовано определять методом проточной цитометрии на анализаторе «FACS Sauto™II» или аналогичном, установлена приписанная характеристика данной методики. Результаты проведенного исследования использованы при разработке проекта рекомендаций «Методы контроля качества эритроцитсодержащих компонентов крови».

Проведенное исследование позволило оценить пригодность существующих методик анализа показателей качества эритроцитсодержащих компонентов крови.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. МИ 2377-98 Государственная система обеспечения единства измерений. Разработка и аттестация методик выполнения измерений. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200005227>

2. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2000. 312 с.

3. Технический регламент: О требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии: постановление Правительства РФ от 26 января 2010 № 29. Режим доступа: <http://www.transfusion.ru/2010/01-30-1.html>

4. Четкин А.В., Ващенко В.И., Карнищенко А.И., Согрина Ю.Н., Ващенко Т.Н. Лабораторные методы контроля качества гемотрансфузионных средств в службе крови. Методическое пособие. СПб., 2006. 29 с.

## **METROLOGICAL EVALUATION OF QUALITY CONTROL METHODS OF ERYTHROCYTE-CONTAINING BLOOD COMPONENTS**

**Nataliya Sergeevna NIKULINA, Elena Nikolaevna KALININA**

*Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of FMBA  
610027, Kirov, Krasnoarmeyskaya str., 72*

---

**Objective** – to evaluate experimentally the suitability of quality control methods used to control the quality of erythrocyte-containing blood components. **Material and methods.** In order to assess the metrological characteristics of the techniques, 46 samples of erythrocyte-containing blood components were analyzed: 10 samples of erythrocyte mass, 26 samples of erythrocyte suspension, 6 samples of erythrocyte suspension of leukoreduced and 4 samples of leukoreduced platelet concentrate. For determining the hemoglobin content as a negative control («placebo» sample), «Sodium chloride, 0.9 % infusion solution» was used. The hemoglobin content (total and free) was determined by three methods: hemiglobincyanide method, non-cyanide SLS method using a hematology analyzer «Sysmex XT-4000i-1», and photometric method using a portable analyzer «HemoCue Hb 201+». Two methods were used to determine hematocrit: a unified method of centrifugation in hematocrit capillaries, a conductometric method using a hematology analyzer «Sysmex XT-4000i-1». Counting the number of residual leukocytes was performed by three methods: a unified method of counting in 2 Goryaev chambers, flow cytometry using a «Sysmex XT-4000i-1» hematology analyzer, and flow cytometry using a «FACS CantoTMII analyzer». **Results and discussion.** The maximum values of coefficients of variation of the analysis methods of total hemoglobin and the hemolysis degree by the hemiglobincyanide method, hematocrit – by the unified method, were 3.03, 20.71 and 1.83 %, respectively. When using the analyzer «Sismex XT-4000i-1», the coefficients of variation of the methods for determining the hemoglobin content ranged from 0.29 to 0.54 %, hematocrit from 0.58 to 1.87 %. In the course of comparing the three methods for determining the amount of residual leukocytes in the leukoreduced blood components, it was concluded that it is advisable to use the flow cytometry method on the «FACS CantoTMII analyzer». The attributed characteristic of the technique was 19.8 %. **Conclusion.** For the control of total hemoglobin and the degree of hemolysis, the hemiglobincyanide method and the uncyanide SLS method using the «Sysmex XT-4000i» hematology analyzer are recommended. Hematocrit determination should be carried out using a unified method and using a «Sysmex XT-4000i» hematology analyzer. The amount of residual leukocytes in leukoreduced components is recommended to be determined by flow cytometry using a «FACS CantoTMII» analyzer.

---

**Key words:** validation, erythrocyte-containing blood components, quality control, methods of analysis, metrological characteristics.

*Nikulina N.S. – junior researcher of laboratory of blood products, e-mail: nikulina@niigpk.ru  
Kalinina E.N. – head of quality assurance, e-mail: kalininaen@niigpk.ru*



## ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА МЕДИЦИНСКОГО ОСВИДЕТЕЛЬСТВОВАНИЯ ДОНОРОВ КРОВИ КАК ЭЛЕМЕНТ БЕРЕЖЛИВОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ В НОВОСИБИРСКОМ КЛИНИЧЕСКОМ ЦЕНТРЕ КРОВИ

Юлия Владимировна МООР<sup>1,2</sup>, Константин Васильевич ХАЛЬЗОВ<sup>2,3</sup>,  
Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский клинический центр крови  
630054, г. Новосибирск, ул. Серафимовича, 2/1

<sup>2</sup> Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

<sup>3</sup> Министерство здравоохранения Новосибирской области  
630007, г. Новосибирск, Красный просп., 18

**Цель исследования** – на основе использования принципов бережливого здравоохранения оценить возможность оптимизации процесса медицинского освидетельствования доноров крови и ее компонентов, сократить среднее время работы участков, задействованных в процедуре медицинского освидетельствования доноров. **Материал и методы.** Проведен анализ общего хронометража процедур медицинского обследования регистрации доноров, первичного клинико-лабораторного исследования, медицинского освидетельствования в двух несопряженных группах доноров в количестве 200 человек, результатов социологического опроса 1137 доноров Новосибирского клинического центра крови (НКЦК). **Результаты и их обсуждение.** С целью сокращения времени пребывания доноров на донорском пункте в НКЦК изменена организация их потоков при регистрации и медицинском освидетельствовании, для чего были приняты и реализованы различные административные решения. Направлениями работы стали: создание необходимой инфраструктуры, внедрение открытой регистратуры, электронного документооборота, сокращение очередей, времени ожидания приема врача-трансфузиолога и клинико-лабораторных исследований, формирование комфортной среды для доноров в НКЦК. Проведенные мероприятия позволили оптимизировать процессы взаимодействия с донорами крови и ее компонентов, улучшить качество их обслуживания и сократить общее время медицинского обследования (в 2,2 раза, с  $51,9 \pm 0,8$  до  $23,6 \pm 0,5$  мин), увеличить пропускную способность регистратуры в 1,6 раза, участка комплектования донорских кадров и лаборатории – в 1,8 раза, повысить удовлетворенность доноров условиями, предоставленными в НКЦК, на 23,1 %. **Заключение.** Внедрение принципов бережливого здравоохранения в рутинную практику приема доноров позволили усовершенствовать работу медицинского персонала, оптимизировать процесс медицинского освидетельствования, ускорить выполнение анализов, упростить запись на донацию и, как следствие, повысить удовлетворенность доноров условиями донации, предоставленными в НКЦК.

**Ключевые слова:** Новосибирский клинический центр крови, доноры, оптимизация, медицинское освидетельствование, бережливое здравоохранение.

В последние десятилетия непрерывно возрастает потребность медицинских организаций в компонентах донорской крови, применение которых определяет возможность и качество оказания специализированной медицинской помощи [6, 7]. Несмотря на развитие науки и техники, доноры остаются единственным источником получения крови и ее компонентов, которые заготавливаются для использования в клинических целях,

следовательно, их ведение должно быть организовано в соответствии с высокими стандартами медицинской помощи и заботы о здоровье и благополучии со стороны учреждений службы крови. Известно, что длительное пребывание человека на донорском пункте негативно сказывается на его решении повторно сдавать кровь, поэтому эффективная организация приема доноров приобретает принципиальное значение [8].

*Моор Ю.В.* – исполняющая обязанности главного врача, e-mail: nbb@nso.ru

*Хальзов К.В.* – к.м.н., министр здравоохранения Новосибирской области, главный трансфузиолог Новосибирской области, e-mail: zdrav@nso.ru

*Поспелова Т.И.* – д.м.н., проф., проректор по научной работе, зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, e-mail: post\_gem@mail.ru

Особое внимание Министерством здравоохранения Российской Федерации уделяется созданию комфортной среды и атмосферы доброжелательности в медицинских организациях. Пилотный проект «Бережливая поликлиника», успешно реализованный в 2017 году, предполагает внедрение в повседневную практику амбулаторно-поликлинических учреждений бережливых технологий, способствующих созданию пациент-ориентированной системы и благоприятной среды, совершенствующих логистику и комфортность предоставления услуг, а также повышающих ресурсную эффективность медицинских организаций. «Бережливая поликлиника» является инструментом, позволяющим достичь высокого уровня функционирования системы здравоохранения и увеличить ее эффективность в условиях ограниченности ресурсов [1]. Внедрение принципов «бережливого здравоохранения» в ежедневную практику учреждений службы крови подразумевает оптимизацию ряда процессов, в результате которой перестраивается работа регистратуры с учетом современных стандартов коммуникации и информатизации, внедряется электронная очередь, меняется логистика потоков действующих и потенциальных доноров, улучшается эргономика на рабочих местах персонала.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа включала в себя два этапа. Первый был посвящен исследованиям общего хронометража процедур медицинского обследования регистрации доноров, первичного клинико-лабораторного исследования, медицинского освидетельствования врачом-трансфузиологом в двух несопряженных группах доноров в количестве 200 человек, результатов социологического опроса 1137 доноров Новосибирского клинического центра крови (НКЦК). Второй этап включал оценку условий сдачи крови, оказания услуг и качества работы персонала в НКЦК, для чего проведено первичное маркетинговое исследование в виде прямого опроса или интервьюирования доноров. Донорам была предложена анкета, разработанная в рамках реализации мероприятий приоритетного национального проекта в сфере здравоохранения по развитию службы крови в 2010 г., содержащая вопросы относительно условий сдачи крови и ее компонентов в НКЦК [2]. При первом анкетировании в исследовании приняли участие 687, при втором – 450 доноров крови и ее компонентов, посетивших НКЦК.

В работе использованы социологические и статистические методы анализа. Для определения основных параметров распределения

переменных, проверки их на соответствие нормальному закону распределения и оценки достоверности различий между сравниваемыми величинами использованы непараметрический U-критерий Манна – Уитни (для объективного сравнения и выявления статистически значимых различий при изучении изменений в хронометраже выполняемых манипуляций, показателей удовлетворенности доноров) и критерий  $\chi^2$  (для обработки результатов социологических исследований). Различия относили к значимым при  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Важную роль в создании позитивного образа учреждения играет оценка донорами условий сдачи крови на донорском пункте и качества работы персонала, а также совпадение их ожиданий от посещения НКЦК с уровнем оказания медицинских услуг, обслуживания посетителей, доступностью донесения необходимой информации о донорстве крови и ее компонентов. Следовательно, понятность для посетителей процессов дифференциации доноров по категориям, вариативности медицинского процесса от вида донации могут положительно сказаться на общей оценке учреждения. Принципы «бережливой поликлиники» применительно к учреждениям службы крови предполагают концентрироваться на донорах как главных действующих лицах (донороориентированный подход), непрерывно изменять и совершенствовать процессы организации донорства, выявлять и своевременно корректировать проблемы.

Ежедневно в НКЦК обращается около 150 граждан с желанием сдать донорскую кровь или ее компоненты. С целью оценки условий сдачи крови, оказания услуг и качества работы персонала проведен ряд исследований. Традиционный инструмент оценки отношения доноров к донорству, медицинским организациям и условиям посещения медицинских организаций – это применение первичных маркетинговых исследований в виде их прямого опроса или интервьюирования. По результатам анкетирования условия в НКЦК оценили как удобные и комфортные статистически значимое большинство респондентов (461 человек, 67,1 %); главная проблема – это наличие очередей, о чем сообщил 151 человек (22,0 %). Проблема очередей в последнее время стала актуальной для многих центров крови и станций переливания крови в разных регионах Российской Федерации. Учитывая недовольство большинства респондентов слишком долгим пребыванием в НКЦК, для оптимизации этого вре-

Таблица 1

Алгоритм первичного клинико-лабораторного обследования доноров

Категория доноров	Доля доноров в общем потоке, %	Особенности обследования
Доноры резерва	70	Стандартный протокол обследования: определение группы крови по системам АВ0, Резус, Келл, уровня гемоглобина
Кадровые доноры, в том числе доноры плазмы	15	Стандартный протокол обследования. Дополнительно: общий анализ крови, измерение СОЭ. Скрининг инфекционных маркеров до донации не проводится
Доноры эритроцитов методом афереза	15	Стандартный протокол обследования. Дополнительно: определение активности АлАТ и скрининг инфекционных маркеров (по показаниям)
Доноры тромбоцитов методом афереза		Стандартный протокол обследования. Дополнительно: подсчет числа тромбоцитов, времени свертывания, определение активности АлАТ, скрининг инфекционных маркеров (по показаниям)

мени нами проведен анализ движения доноров при прохождении всех обязательных этапов медицинского освидетельствования и забора крови.

В соответствии с нормативными правовыми документами [3–5] порядок медицинского освидетельствования доноров крови и ее компонентов включает в себя:

- регистрацию донора с заполнением учетной формы «Карта донора резерва» (форма 407/у) или «Медицинская карта активного донора» (форма № 406/у);

- первичное, до сдачи крови и ее компонентов, клинико-лабораторное исследование крови, заключающееся в определении группы крови по системе АВ0, уровня гемоглобина и/или гематокрита, по показаниям, определении числа тромбоцитов, времени свертывания, СОЭ и других показателей;

- медицинское обследование врачом-трансфузиологом, заключающееся в измерении веса, температуры тела, артериального давления, определении ритмичности и частоты пульса, сборе подробного анамнеза с учетом данных анкеты донора, осмотре кожных покровов, видимых слизистых оболочек, склер, пальпации лимфатических узлов и органов брюшной полости, аускультации органов грудной клетки, оценке психоневрологического статуса с последующим допуском к донорству, определением его вида, объема взятия крови или ее компонентов.

Все доноры, обратившиеся в НКЦК, уже в процессе регистрации делились на три потока (кадровые доноры, доноры резерва и доноры афереза), для каждого из которых, несмотря на различие регламентов медицинского освидетельствования и первичного клинико-лабораторного исследования, требовалось предварительное посещение врача-трансфузиолога с целью получе-

ния направления на дополнительное лабораторное обследование (табл. 1).

Для изучения продолжительности этапов медицинского освидетельствования и анализа общего хронометража проводимых процедур были взяты две несопряженные группы доноров НКЦК в количестве 200 единиц (исходная и окончательная). Установлено, что в среднем для донора резерва или кадрового донора, сдающего кровь или ее компоненты, среднее время медицинского освидетельствования до процедуры донации составляло  $51,9 \pm 0,8$  мин при условии средней наполняемости НКЦК. При изучении схемы регистрации и перемещения доноров при проведении медицинского освидетельствования выявлено следующее:

- 1) доноры на регистрацию обращаются неравномерно: с 08:00 до 09:30 – около 20 %, с 09:30 до 11:30 – около 70 %, с 11:30 до 14:30 – около 10 %;

- 2) в едином потоке обращаются доноры для сдачи крови и ее компонентов; доноры, нуждающиеся в выдаче направления на обследование к врачу-инфекционисту (выявление маркеров гемотрансмиссивных инфекций по результатам скринингового исследования крови при предыдущей донации); потенциальные доноры, нуждающиеся в проведении эпидемиологического расследования (наличие информации в базе данных единого донорского центра (ЕДЦ) о перенесенных заболеваниях или контактах с инфекционными больными из социально-значимых учреждений здравоохранения Новосибирской области);

- 3) первичное клинико-лабораторное исследование крови для кадровых доноров и доноров резерва проводится в разных кабинетах лаборатории, при этом нагрузка на фельдшера-лаборанта, принимающего доноров резерва, в несколько раз

Таблица 2

Сравнительная характеристика процессов медицинского освидетельствования доноров в НКЦК

Этап медицинского освидетельствования	Исходный вариант, мин	Окончательный вариант, мин	Повышение эффективности, %
Регистрация доноров	9,1 ± 0,3	5,5 ± 0,1	39,6
Лабораторное обследование	9,9 ± 0,2	8,2 ± 0,4	17,2
Дополнительное лабораторное обследование	20,2 ± 0,2	Этап исключен	–
Врачебный прием	17,7 ± 0,5	9,9 ± 0,1	44,1
Среднее время до донации	51,9 ± 0,8	23,6 ± 0,5	55,7

выше, чем на принимающего кадровых доноров, так как пул доноров резерва составляет не менее 70 %.

Как было отмечено ранее, длительное (более 1 ч) пребывание человека на донорском пункте негативно влияет на желание дальнейшего участия в донорстве, поэтому принципиальное значение имела место рациональная организация потоков доноров при регистрации и медицинском освидетельствовании [8]. Для решения данных задач в рамках концепции «бережливой поликлиники» с целью оптимизации процесса медицинского освидетельствования доноров были приняты следующие административные решения:

1) для регулярных доноров введена запись онлайн, что позволило производить поиск, обработку карт, оформление врачом-трансфузиологом необходимых назначений лабораторного обследования накануне донации;

2) введен единый порядок регистрации доноров с распределением по потокам при регистрации: искусственное разделение донорских потоков на уровне регистратуры позволило принимать решение об объеме первичного обследования, экономить время донора, исчезла необходимость его возвращения в лабораторию на дообследование после посещения врача-трансфузиолога;

3) введена должность администратора регистратуры, который непосредственно принимает участие в эффективном распределении доноров по потокам в зависимости от существующего запаса компонентов крови в центре крови и от потребности медицинских организаций в компонентах донорской крови (заявок на гемокомпоненты) на конкретную дату;

4) введена должность врача-эпидемиолога ЕДЦ с целью приема доноров, у которых выявлены отклонения по результатам скринингового исследования крови на гемотрансмиссивные инфекции, проведения эпидемиологического расследования с потенциальными донорами, информация о которых получена из внешних источников и имеется в базе данных ЕДЦ;

5) объединены участки первичного клинико-лабораторного исследования крови для кадровых доноров и доноров резерва;

6) введен единый алгоритм обследования с приоритетом приема без очереди доноров афереза и кадровых доноров и единовременным выполнением всех необходимых тестов;

7) введена электронная очередь.

За счет оптимизации процесса медицинского освидетельствования доноров крови и ее компонентов удалось значительно сократить время, затраченное донором, от процедуры регистрации до момента забора крови, а также существенно уменьшить количество очередей при том же количестве обратившихся доноров. Временной анализ проведенных исследований и сравнительная характеристика процесса медицинского освидетельствования доноров в НКЦК до и после оптимизации представлены в табл. 2. Проведенные изменения позволили исключить неэффективные действия персонала, увеличить эффективность работы участков, задействованных в процедуре медицинского освидетельствования доноров, на 39,2 %, статистически значимо ( $p < 0,01$ ) сократить среднее время медицинского освидетельствования для доноров (в 2,2 раза – с 51,9 ± 0,8 до 23,6 ± 0,5 мин), увеличив пропускную способность регистратуры в 1,6 раза, участка комплектования донорских кадров и лаборатории – в 1,8 раза.

С целью оценки произошедших в НКЦК изменений в течение недели проведен опрос 450 доноров крови и ее компонентов. Статистически значимое большинство опрошенных отметили общее позитивное впечатление от НКЦК и в дальнейшем планируют продолжить свое участие в донорстве крови и ее компонентов (табл. 3).

Таким образом, можно сделать заключение, что на приверженность к донорству у посетителей НКЦК влияют не только условия сдачи крови, такие как удобство, комфорт, позитивный настрой персонала по отношению к донорам, но и скорость процессов обслуживания.



Таблица 3

Распределение мнений доноров об условиях сдачи крови в НКЦК

Показатель	До проведенных изменений, n = 687		После проведенных изменений, n = 450	
	n	%	n	%
Удобные и комфортные условия	461	67,1	406*	90,2
Позитивное отношение персонала к посетителям	554	80,6	383	85,1
Современная материально-техническая база	585	85,1	390	86,7
Наличие очередей	151	22,0	38*	8,4
Намерение в дальнейшем участвовать в донорстве	580	84,4	385	85,5
Общее позитивное впечатление	522	75,9	441*	98,0

Примечание. \* – отличие от величины соответствующего показателя до проведенных изменений статистически значимо при  $p < 0,01$ .

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внедрение принципов «бережливого здравоохранения» в рутинную практику приема доноров крови и ее компонентов позволили усовершенствовать работу по обслуживанию доноров крови и ее компонентов и оптимизировать процесс их медицинского освидетельствования, последнее позволило значительно (более чем в 2 раза) сократить время, затраченное донором, от процедуры регистрации до момента забора крови, уменьшить количество очередей при том же количестве обратившихся доноров, а также повысить их удовлетворенность предоставленными условиями и общее впечатление о НКЦК соответственно на 23,1 и 22,1 %. Реализация концепции «бережливой поликлиники» позволила на практике исключить избыточные функции и издержки, не несущие ценности, усовершенствовать работу медицинского персонала и оптимизировать процесс медицинского освидетельствования (регистрации, комплектования донорских кадров и участка предварительного лабораторного исследования), в несколько раз сократить очереди, ускорить выполнение анализов, упростить запись на донацию и обслужить гораздо большее количество доноров за единицу времени, а также создать доброжелательную атмосферу и, как следствие, повысить их удовлетворенность условиями донации, предоставленными в НКЦК.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Выступление Министра здравоохранения Российской Федерации Вероники Скворцовой на итоговой коллегии Минздрава России. Режим доступа: [www.rosminzdrav.ru/news/2018/03/30/7544](http://www.rosminzdrav.ru/news/2018/03/30/7544).
2. Материалы по итогам исследований «Мониторинг исполнения законодательства в сфере донорства крови», «Проблемы оценки качества работы учреждений Службы крови». Национальный фонд развития здравоохранения, ВЦИОМ. М., 2016.
3. Постановление Правительства РФ от 31.12.2010 № 1230 «Об утверждении правил и методов исследований и правил отбора образцов донорской крови, необходимых для применения и исполнения технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии». Режим доступа: <https://www.rosminzdrav.ru/documents/7354-postanovlenie-pravitelstva-rf-1230-ot-31-dekabrya-2010-g>
4. Постановление Правительства РФ от 26.01.2010 № 29 «Технический регламент “О требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии”». Режим доступа: <http://www.transfusion.ru/2010/01-30-1.html>
5. Приказ Минздрава России от 14.09.2001 № 364 «Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов». Дополнения к приказу № 175н от 16.04.2008 и № 261н от 06.06.2008 в редакции Минздравсоцразвития РФ.
6. Селезнев Т.Д., Исковских Л.К. К вопросу о сохранении донорских кадров // Вестн. службы крови России. 2008. (3). 3–5.

7. Чететкин А.В., Данильченко В.В., Макеев А.Б., Григорьян М.Ш., Воробей Л.Г., Плоцкий Р.А. Совершенствование обеспечения компонентами крови лечебных учреждений Российской Федерации // Трансфузиология. 2015. 16. (1). 4–13.

8. Чететкин А.В., Филина Н.Г., Шестаков В.Н., Суханов Ю.С., Лаптев В.В., Персанова Л.В. Основные угрозы, связанные с обслуживанием доноров крови, получением и клиническим применением компонентов крови (литературный обзор. Ч. I) // Вестн. службы крови России. 2016. (1). 55–59.

## OPTIMIZATION OF MEDICAL EXAMINATION OF BLOOD DONORS AS AN ELEMENT OF LEAN HEALTHCARE IN NOVOSIBIRSK CLINICAL BLOOD CENTER

Yuliya Vladimirovna MOOR<sup>1,2</sup>, Konstantin Vasilyevich KHALZOV<sup>2,3</sup>,  
Tatyana Ivanovna POSPELOVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk Clinical Blood Center  
630054, Novosibirsk, Serafimovich str., 2/1

<sup>2</sup>Novosibirsk State Medical University  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

<sup>3</sup>Ministry of Health of Novosibirsk region  
630007, Novosibirsk, Krasny av., 18

---

**Objective** was to assess the possibility of optimizing the process of medical examination of blood donors and its components based on the principles of lean health care, to reduce the average working time of the sites involved in the procedure of medical examination of donors. **Material and methods.** The analysis of the general timing of procedures of medical examination of registration of donors, primary clinical and laboratory research, medical examination in two non-conjugated groups of donors in the amount of 200 people, the results of a sociological survey of donors of the blood Center in the amount of 1137 people has been carried out. **Results and discussion.** In order to reduce the time spent by donors at the donor center, the organization of donor flows during registration and medical examination has been changed in the blood center, for which various administrative decisions have been taken and implemented. The areas of work were: the creation of the necessary infrastructure, the introduction of an open registry, electronic document management, reducing queues, waiting time for a transfusiologist and clinical and laboratory studies, the formation of a comfortable environment for donors in the Novosibirsk clinical blood center. The activities carried out allowed to optimize the processes of interaction with blood and its components donors, to improve the quality of donor service and to reduce the total time of medical examination: the average time of medical examination for donors was reduced by 2.2 times – from (51.9 ± 0.8) minutes to (23.6 ± 0.5) minutes, the capacity of the registry was increased by 1.6 times, the area of recruitment of donor personnel and the laboratory was reduced by 1.8 times, the satisfaction of donors with the conditions provided in the blood Center was increased by 23.1 %. **Conclusion.** The introduction of the principles of lean health care into the routine practice of donor admission allowed the Novosibirsk clinical blood center to improve the work of medical personnel, optimize the process of medical examination, accelerate the execution of tests, simplify the registration for donation and, as a result, increase donor satisfaction with the conditions of donation provided in the Novosibirsk clinical blood center.

---

**Key words:** Novosibirsk Clinical Blood Center, donors, optimization, medical examination, lean health care.

*Moor Yu.V. – acting chief physician, e-mail: nbb@nso.ru*

*Khalzov K.V. – candidate of medical sciences, minister of health of the Novosibirsk region, chief transfusiologist, e-mail: zdrav@nso.ru*

*Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, vice-rector for research, head of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post\_gem@mail.ru*