

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Российский научно-исследовательский институт  
гематологии и трансфузиологии  
Федерального медико-биологического агентства»**

# **ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ**

**THE BULLETIN OF HEMATOLOGY**

**Том XIV № 1 2018**

Ежеквартальный научно-практический журнал  
Основан в сентябре 2004 года

**Главный редактор**

Доктор медицинских наук  
профессор  
*С. С. Бессмельцев*

Санкт-Петербург  
2018

## **Редакционная коллегия:**

*С. С. Бессмельцев* (главный редактор)  
*А. Н. Богданов; Л. Н. Бубнова; Т. В. Глазанова* (ответственный секретарь);  
*С. А. Гусева; А. Ю. Зарицкий; Н. М. Калинина; Л. П. Папаян; В. Г. Радченко;*  
*В. И. Ругаль; О. А. Рукавицын; В. Н. Чеботкевич, С. В. Грицаев.*

## **Редакционный совет:**

*Б. В. Афанасьев* (Санкт-Петербург); *В. В. Базарный* (Екатеринбург);  
*М. Л. Гершанович* (Санкт-Петербург); *К. Г. Дуткевич* (Санкт-Петербург); *Г. А. Зайцева* (Киров);  
*Ю. М. Захаров* (Челябинск); *Л. Г. Ковалева* (Москва); *А. В. Литвинов* (Смоленск);  
*В. И. Мазуров* (Санкт-Петербург); *И. В. Поддубная* (Москва); *Т. Н. Поспелова* (Новосибирск);  
*А. Г. Румянцев* (Москва); *В. Г. Савченко* (Москва); *Н. Н. Третьяк* (Киев); *Н. П. Шабалов* (Санкт-Петербург).

Зав. редакцией — *Е. Р. Шилова*, тел.: (812) 717-58-57

Ответственный секретарь — *Т. В. Глазанова*, тел.: (812) 717-08-90, факс: (812) 717-20-87

## **Адрес редакции:**

191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16

E-mail: [bloodscience@mail.ru](mailto:bloodscience@mail.ru)

Сайт: [www.bloodscience.ru](http://www.bloodscience.ru)

За содержание рекламных объявлений редакция ответственности не несет.  
При перепечатке материалов ссылка на журнал «Вестник гематологии» обязательна.  
Мнение членов редакционной коллегии не всегда совпадает с мнением авторов статей.

Обложка и художественное оформление *О. С. Дмитриева*  
Компьютерная верстка *О. С. Дмитриева*

---

Журнал зарегистрирован Северо-Западным окружным межрегиональным территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области Министерства Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средствам массовых коммуникаций.

**18 +**

Свидетельство о регистрации ПИ № 2-7271 от 28 мая 2004 г.

Подписано в печать 20.03.2018 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 98.

Издательство РосНИИГТ, 193024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16.

Отпечатано в ООО «Агентство «ВиТ-принт»», Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 23.

## СОДЕРЖАНИЕ

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ:

- Семенова Н. Ю., Бессмельцев С. С., Грицаев С. С., Волошин С. В., Ругаль В. И.**  
СОСТОЯНИЕ СТРУКТУР ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ НИШИ  
ПРИ МАЛИГНИЗИРОВАННОМ В-ЛИМФОПОЭЗЕ.....4
- Сердюк О. Д., Старикова Е. В., Романова М. П., Анисимова Г. В., Напсо Л. И.**  
АНАЛИЗ ОСЛОЖНЕНИЙ ПНГ В КОГОРТЕ ПАЦИЕНТОВ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ.....12
- Николаева А. Е., Папаян Л. П., Капустин С. И., Кутушева Г. Ф.,  
Кутуева Ф. Р., Рухляда Н. Н.**  
РЕТРОХОРИАЛЬНАЯ ГЕМАТОМА КАК ФАКТОР РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ  
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ БЕРЕМЕННОСТИ .....22

### В ПОМОЩЬ ПРАКТИЧЕСКОМУ ВРАЧУ

- Шилова Е. Р.**  
КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПНГ-КЛОНА.  
ПРИНЦИПЫ ВЕДЕНИЯ БОЛЬНЫХ.....28
- Всероссийская научно-практическая конференция  
«АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПАТОЛОГИИ ГЕМОСТАЗА»  
Санкт-Петербург, 22–23 марта 2018 г. ....33**

## CONTENTS

### ORIGINAL ARTICLES

- Semenova N. Yu., Bessmeltsev S. S., Gritsaev S. S., Voloshin S. V., Rugal V. I.**  
THE STATE STRUCTURES OF THE HEMATOPOIETIC NICHE  
IN MALIGNIZATION B-LYMPHOPOIESIS .....4
- Serdyuk O. D., Starikova E. V., Romanova M. P., Anisimova G. V., Napso L. I.**  
ESTIMATION OF PNH COMPLICATION IN PATIENTS' COHORT OF KRASNODAR REGION .....12
- Nikolaeva A. E., Papayan L. P., Kapustin S. I., Kutusheva G. F.,  
Kutueva F. R., Ruhljada N. N.**  
RETROCHORIAL HEMATOMA AS A RISK FACTOR FOR HEMATOLOGICAL  
COMPLICATIONS DURING PREGNANCY .....22

*Семенова Н. Ю., Бессмельцев С. С., Грицаев С. С., Волошин С. В., Ругаль В. И.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург*

**СОСТОЯНИЕ СТРУКТУР ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ НИШИ  
ПРИ МАЛИГНИЗИРОВАННОМ В-ЛИМФОПОЭЗЕ**

*Semenova N. Yu., Bessmeltsev S. S., Gritsaev S. S., Voloshin S. V., Rugal V. I.*

*Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint-Petersburg*

**THE STATE STRUCTURES OF THE HEMATOPOIETIC NICHE  
IN MALIGNIZATION B-LYMPHOPOIESIS**

**Резюме.** Изучена паренхиматозная и стромальная ткань костного мозга в трепанобиоптатах подвздошной кости 96 больных хроническим лимфолейкозом и 30 пациентов с множественной миеломой. Установлены изменения стромального микроокружения при всех типах поражения костного мозга. Наблюдалось увеличение плотности микрососудов, изменение состояния эндостальных стромальных клеток и структуры коллагена костных балок, паратрабекулярный ретикулиновый склероз, что свидетельствует о поражении ниши гемопоэтических стволовых клеток. Дефект ниши сопровождался неопластической трансформацией предшественников В-лимфопоэза, а функция ниши может быть направлена на поддержание лейкозного клона.

**Ключевые слова:** множественная миелома, хронический лимфолейкоз, костный мозг, ниша гемопоэтических стволовых клеток.

**Введение.** Клетки микроокружения костного мозга, формирующие гемопоэтическую нишу, регулируют развитие гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Анализ морфологических изменений ключевых элементов гемопоэтической ниши (эндостальных стромальных клеток и микрососудов) имеет значение для уточнения патогенеза ряда лимфопролиферативных заболеваний, включая хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) и множественную миелому (ММ), которые до настоящего времени неизлечимы, и их генез окончательно не установлен.

Механизмы формирования ХЛЛ и ММ, как и любого другого заболевания, представляют интерес не только с точки зрения выяснения фундаментальных основ их становления

**Abstract.** Studied parenchymal and stromal tissue of the bone marrow in the ilium trepanobiopsy 96 patients with chronic lymphocytic leukemia and 30 patients with multiple myeloma. Changes in stromal microenvironment in all types of bone marrow lesions have been established. There was an increase in the density of microvessels, a change in the state of endosteal stromal cells and the structure of collagen bone beams, paratrabecular reticuline sclerosis, which indicates the defect of the niche of hematopoietic stem cells. The niche defect was accompanied by neoplastic transformation of B-lymphopoiesis predecessors, and the niche function can be aimed at maintaining the leukemia clone.

**Key words:** multiple myeloma, chronic lymphocytic leukemia, bone marrow, hematopoietic stem cell niche.

и развития, но их понимание также необходимо для установления терапевтических мишеней и способов воздействия на устранение лейкозного клона и поддержание нормального гемопоэза, регулируемого нишей. Микроокружение опухолевых клеток является ведущим в развитии и прогрессировании этих заболеваний и усилия последних лет сосредоточены на исследовании взаимодействия опухоль — микроокружение для раскрытия фундаментальных основ заболевания и поиска новых прогностических факторов, которые покажут клинически значимые корреляции [1–5].

В литературных источниках описаны различные клеточные и межклеточные элементы микроокружения, которые напрямую или

опосредованно через сигнальные пути вовлечены в патогенез гемобластозов [2–7]. Для более детального морфологического анализа ранее нами были выбраны элементы эндостально-васкулярных ниш гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Ниша обеспечивает длительное, на протяжении всей жизни организма, самоподдержание стволовых клеток, регулирует их дифференцировочный и пролиферативный потенциал [4, 5]. Понимание гемопоэтической ниши значительно возросло за последние несколько лет, что, по крайней мере, частично связано с развитием новых методов клеточных исследований [8–12].

В формировании ниши принимают участие многие типы клеток, включая остеобласты, клетки эндотелия, обильно экспрессирующие CXCL12 ретикулярные клетки (CAR-клетки), мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК), симпатические нервные волокна [1, 5, 11, 13]. В нишах ГСК могут находиться в состоянии покоя, а могут активно пролиферировать. На сегодняшний день четко выделяют две ниши — эндостальную и васкулярную, не исключено, что в ближайшем будущем появятся новые «ниши» (рис. 1).

## Стромальное микроокружение ГСК костного мозга

- Мезенхимальные стволовые клетки (МСК)
- Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК)
- Хондроциты
- Остеоциты
- Фиброциты
- Ретикулярные клетки
- Миоциты
- Адипоциты
- Структуры соматической нервной системы
- Структуры автономной нервной системы

- Эндостальные клетки
- Эндотелиоциты микрососудов
- Интратрабекулярный и эндостальный матрикс

Формирование ниши гемопоэтических стволовых клеток



- Самоподдержание ГСК на протяжении жизни организма
- Удержание ГСК в фазе покоя
- Коммитирование ГСК в миелоидном и лимфоидном направлении
- Пролиферация ГСК

**Рисунок. 1.** Стромальное микроокружение ГСК костного мозга.

Схематическое изображение эндостальной и васкулярной ниши в костном мозге [рис. с изменениями по <http://raysports.com.br/site/wp-admin/css/hematopoietic-stem-cells-niche>].

Васкулярная ниша образована, главным образом, CAR-клетками, ММСК и эндотелиоцитами синусоидов. ГСК в составе этих ниш, как правило, активно пролиферируют. Компонентами эндостальных ниш являются выстилающие кость клетки (эндост) и ММСК. ГСК в эндостальных нишах в основном находятся в состоянии покоя. Конкретные межклеточные взаимодействия и молекулярные

механизмы, которые обуславливают статус клеточного цикла ГСК в разных костномозговых нишах до сих пор остаются до конца неуточненными.

Совершенно очевидно, что функциональные и структурные изменения элементов микроокружения могут быть причиной нарушений кроветворной функции костного мозга. Многие публикации последних нескольких

лет сосредоточены на защитных эффектах компонентов микроокружения костного мозга в поддержании жизнедеятельности лейкозных клеток. Считается, что микроокружение костного мозга содержит минимальную остаточную болезнь и обеспечивает сигналы выживания для лейкозных клеток.

Регуляторный эффект стромального микроокружения костного мозга 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 [11–18].

Таким образом, изучение морфофункциональных особенностей стромального микроокружения костного мозга имеет принципиальное значение как для теоретической, так и для практической гематологии.

**Цель исследования.** Установить особенности морфофункционального состояния структур, формирующих гемопозитическую нишу костного мозга в условиях злокачественной трансформации В-лимфоцита у больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) и множественной миеломой (ММ).

**Характеристика пациентов и материала исследования.** В настоящей работе проанализирован материал от 96 пациентов с ХЛЛ (с 2000 по 2014 гг.) и от 30 пациентов с ММ (с 2013 по 2017 гг.). Материалом исследований послужили полученные до начала терапии трепанобиоптаты подвздошной кости 96 больных ХЛЛ (56 мужчин и 40 женщин) в возрасте от 49 до 73 лет (средний возраст группы  $59,9 \pm 7,2$  лет, медиана 60). Стадия 0–1 по классификации Rai была установлена у 23 пациентов (24 %), стадия 2 у 48 пациентов (50 %), стадия 3–4 у 25 пациентов (24 %). Материалом исследований служили также полученные до начала терапии трепанобиоптаты подвздошной кости 30 больных ММ (16 мужчин и 14 женщин) в возрасте от 39 до 86 лет (медиана 60). У всех больных была верифицирована ММ. Стадия I по классификации Salmon-Durie была установлена у 2 (6,6 %), II — у 6 (20 %), с III — у 22 (73,4 %); подстадия А — у 26 (86,7 %), подстадия В — у 4 (13,3 %) больных. Распределение больных в группы согласно стадирующей системе ISS представлено сле-

дующим образом: ISS-I — 7 (23,3 %), ISS-II — 11 (36,6 %), ISS-III — 12 (40 %) пациентов.

Контрольную группу при изучении костного мозга составили фрагменты подвздошной кости 30 здоровых лиц 50–75 лет (медиана 58). Контрольная группа пациентов сопоставима по полу, возрасту и национальности с основной группой.

**Методы исследований.** Стромально-паренхиматозные структуры изучены с использованием гистологических, гистохимических и иммуногистохимических методов. При анализе трепанобиоптатов применялись окраски гематоксилин-эозин, азур-II-эозин, импрегнация серебром, по Массону. Иммуногистохимические реакции проводили по стандартной методике, основываясь на рекомендациях фирмы-производителя первичных антител. Проводили общепринятые отрицательные и положительные контрольные процедуры при обработке параллельных срезов.

Морфометрические исследования паренхиматозных и стромальных элементов кроветворной ткани костного мозга осуществлялись с использованием пакета программ «ВидеоТест-Морфология 5.2» (Россия). Анализ гистологических препаратов проводился в 20 полях зрения при увеличении 20х для каждого образца.

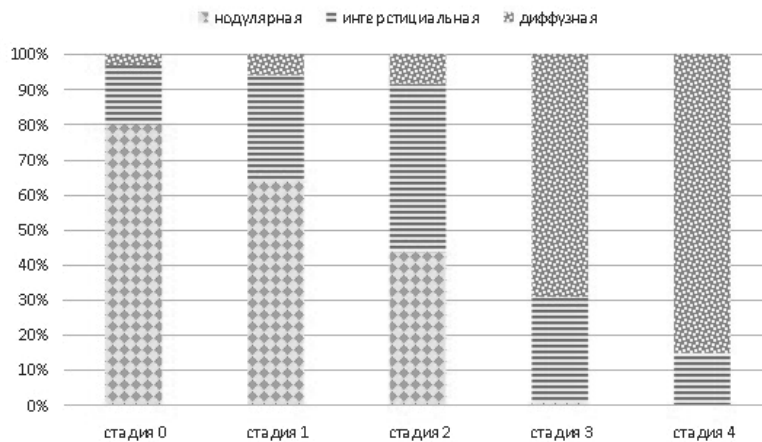
Статистическая обработка полученных данных проводилась методом вариационной статистики с определением средней величины  $M$ , ее средней ошибки  $m$ , стандартного отклонения  $SD$ . Достоверность различий оценивалась с помощью критерия Стьюдента ( $t$ ), критерия Манна-Уитни. Различие между сравниваемыми показателями считалось статистически значимым при  $p \leq 0,05$ . Для выяснения зависимости между показателями применялся корреляционный анализ.

**Результаты и обсуждение. Микроокружение костного мозга пациентов с хроническим лимфолейкозом.** На основании гистологических исследований губчатой кости 96 пациентов с ХЛЛ в паренхиме костного мозга было выделено три типа лимфоидной инфильтрации: нодулярный, интерстициальный, диффузный. Нодулярная инфильтрация отмечалась у 18 пациентов (18,8 %), интерстициальная у 26 пациентов (27 %), диффузная у 52 пациентов (54,2 %).

Распределение типов инфильтрации костного мозга по стадиям Rai показано на рисунке 2. Так, 3–4 стадии характеризовались

преобладанием случаев с диффузной инфильтрацией костного мозга, в то время как 0–1 стадии с преобладанием нодулярной инфильтрации. Интерстициальная инфильтрация отмечалась на всех стадиях Rai — в 3

случаях 0 стадии, в 7 случаях 1 стадии, 16 случаях 2 стадии, 10 случаях 3 стадии и 5 случаях 4 стадии.



**Рисунок 2.** Распределение (в % соотношении) типов инфильтрации костного мозга больных ХЛЛ по стадиям Rai.

**Таблица 1.** Морфометрические показатели структур костного мозга подвздошной кости в зависимости от типа лимфоидной инфильтрации ( $M \pm m$ )

Паренхима и строма костного мозга	Здоровые лица n=30	Больные ХЛЛ		
		Нодулярная инфильтрация n=18	Интерстициальная инфильтрация n=26	Диффузная инфильтрация n=52
Гемопоэтическая ткань (в том числе лимфоидные пролифераты) (площадь, %)	51,2±3,3	52,3±5,1 (15,7±7,5)	57,2±4,1 (25,0±6,2)	70,7±3,9* (51,15±6,92)
Жировая ткань (площадь, %)	28,1±1,0	27,5±0,7	23,8±3,8	13,0±4,2*
Костная ткань (площадь, %)	21,0±2,4	19,6±4,4	18,3±1,0	17,1±1,3
Сосуды МЦР (площадь, %)	9,1±1,2	12,3±2,5	13,1±1,2*	17,9±3,7*
Эндостальные клетки (кол-во на ед. пл.)	1,4±0,2	1,3±0,5	1,8±0,4	2,3±0,4*
Проллиферативная активность Ki-67 (% в инфильтрате)	Не измерялась	2,3±0,4	5,2±0,7*	9,5±1,6*

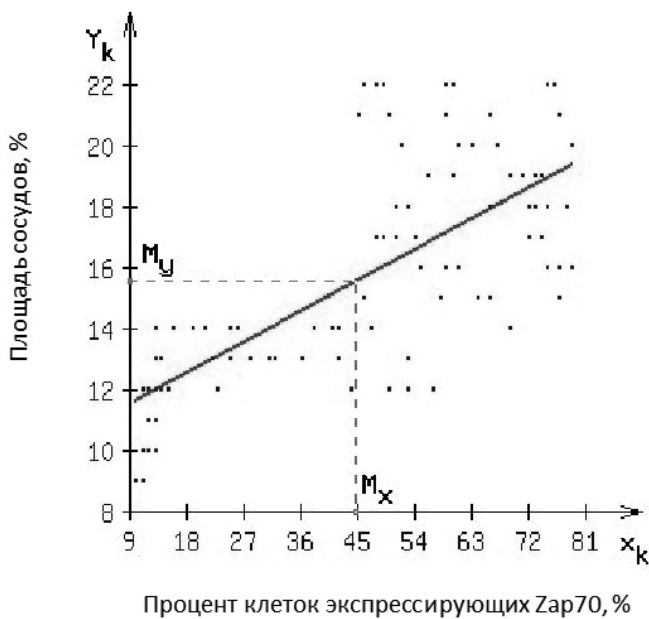
**Примечание:** \* —  $p < 0,05$ , отличия достоверны в сравнении с контролем; + —  $p < 0,05$ , отличия достоверны в сравнении с нодулярной инфильтрацией.

Морфологические признаки реакции стромы костного мозга имелись при всех трех видах опухолевой инфильтрации костномозговой паренхимы. Однако были выражены

неравнозначно в целом и относительно нижеобразующих элементов стромального микроокружения (таблица 1).

Так, было показано, что площадь сосудов при диффузной инфильтрации ( $17,9 \pm 3,7\%$ ) возрастает почти в 2 раза по сравнению с контролем ( $9,1 \pm 1,2\%$ ), при интерстициальной инфильтрации увеличивается почти в 1,5 раза ( $13,1 \pm 1,2\%$ ), при нодулярной инфильтрации статистически значимых изменений не обнаружено ( $12,3 \pm 2,5\%$ ).

Также определялась экспрессия 70-kd дзета-ассоциированного белка (Zap70) и оценивалась зависимость экспрессии этого белка от изменяющейся удельной площади сосудов МЦР костного мозга больных ХЛЛ. Экспрессия Zap70 оценивалась в опухолевых клетках и характеризовалась как отрицательная (менее 20% экспрессирующих клеток), умеренная (20–50%) и сильная (более 50%), внутренним положительным контролем служили Т-клетки. На рисунке 3 представлен график динамики показателей плотности микрососудов и уровня экспрессии Zap70 больных ХЛЛ, была выявлена статистически значимая корреляция между этими показателями ( $R = 0,7, p < 0,05, N = 96$ ).



**Рисунок 3.** Зависимость уровня экспрессии Zap70 и площади сосудов МЦР у больных ХЛЛ.

**Примечание:** Наклонная линия тренда показывает зависимость исследуемых значений,  $R = 0,7, p < 0,05, N = 96$ .

Таким образом, у больных ХЛЛ в костном мозге наблюдаются различные варианты опухолевой инфильтрации — нодулярный, интерстициальный, диффузный. Наряду

с изменениями интрамедуллярной паренхимы развитие ХЛЛ сопровождается структурными перестройками стромальных образований формирующих гемопоэтическую нишу. Нарушения МЦР проявляются ростом числа микрососудов, приводящим к увеличению их плотности в миелоидной ткани. При этом рост числа сосудов также затрагивает эндостальные зоны губчатого вещества подвздошной кости. Одновременно с перестройкой МЦР происходит увеличение количества эндостальных стромальных клеток и наблюдается тенденция к изменению экстрацеллюлярного матрикса эндостальных и периваскулярных зон, что подтверждается ИГХ исследованиями коллагена III и IV типов. Так показано, что более чем на 30% нарастает количество коллагеновых волокон III типа в экстрацеллюлярном матриксе у пациентов с ХЛЛ по сравнению с контролем, что отмечено в 53% при диффузной инфильтрации, и в 34% при интерстициальной инфильтрации костного мозга. В костномозговых пространствах отмечались признаки ретикулинового склероза при всех типах инфильтрации и объеме опухолевых клеток более 10% от площади гемопоэтической ткани. Наиболее ярко выраженный ретикулиновый фиброз МФ1 и МФ2 определялся при диффузной инфильтрации костного мозга. Очевидно, что дефекты структур, формирующих гемопоэтическую нишу, могут быть значимым патогенетическим фактором неопластической трансформации В-лимфоцитов и в таких условиях функция ниши может быть направлена на поддержание лейкозного клона.

**Микроокружение костного мозга пациентов с множественной миеломой.** Оценка объема инфильтрации костного мозга плазматическими клетками является одним из главных критериев диагностики ММ. При гистологическом исследовании трепанобиоптатов подвздошной кости больных ММ с первично установленным диагнозом до начала терапии в костном мозге обнаруживалась неоднородная клеточная инфильтрация кроветворной ткани миеломными клетками. Опухолевые клетки в большинстве случаев имели типичную структуру зрелых плазмочитов, в которых не выявлялись ядрышки. Реже миеломные клетки классифицировались как проплазмочиты, плазмобласты. Среди инфильтрирующих паренхиму плазмочи-



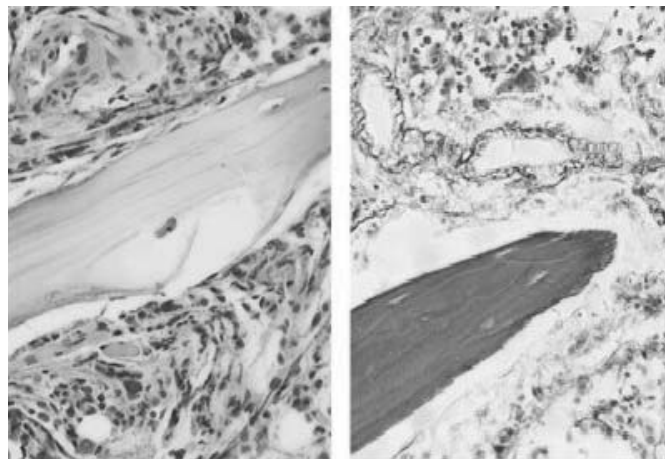
тов обнаруживались клетки с Русселевскими тельцами, двоядерные и многоядерные формы. У исследуемой группы было выделено два типа поражения костного мозга: интерстициальный и диффузный. Интерстициальный тип миеломного поражения характеризовался наличием плазматических клеток, расположенных среди элементов нормального гемопоэза, без изменения соотношения с жировой тканью. Число гемопоэтических клеток снижалось в зависимости от интенсивности насыщения костномозговых лакун миеломными клетками. Диффузный тип поражения диагностировался в случаях массивной инфильтрации миеломными клетками интрамедуллярных пространств, которая сопровождалась редукцией жировой ткани с замещением костномозговых пространств плазматитами и различной степенью угнетения гемопоэза.

При анализе 30 трепанобиоптатов костного мозга интерстициальная инфильтрация наблюдалась у 18 пациентов (60 %) и диффузная у 12 пациентов (40 %). На основе гистоморфологических и клинико-лабораторных данных нами было показано, что тип инфильтрации является одним из факторов для оценки прогноза течения заболевания.

При анализе стадий заболевания по Salmon-Durie была показана тенденция усиления инфильтрации костного мозга при увеличении стадии, так у 18 пациентов из 22 с 3 стадией заболевания определена диффузная инфильтрация костного мозга, у 8 пациентов с 1–2 стадией установлена интерстициальная инфильтрация.

Анализ стромальных структур микроокружения свидетельствовал об изменении состояния стромы при всех типах поражения интрамедуллярной паренхимы. Интерстициальная инфильтрация костного мозга плазматитами сопровождалась увеличением 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. Выраженные изменения стромальной ткани костного мозга регистрировались при диффузной инфильтрации. Обнаруживался ретикулиновый склероз, увеличение плотности микрососудов, нарастание числа эндостальных клеток с уплощенными ядрами, нарушение структуры коллагена трабекул костной ткани (рисунок 4). Площадь костных балок была снижена на 7–12 %, однако уменьшение остеогенной ткани было статистически недостоверно ( $p > 0,05$ ).



**Рисунок 4.** Остеодеструкция и ретикулиновый фиброз в эндостально-васкулярной нишах костного мозга, окраска гематоксилином-эозином и импрегнация серебром, ув. 400х.

Нами был проведен гистоморфометрический анализ нишеобразующих структур микроокружения костного мозга на основании данных гистохимических и иммуногистохимических исследований: сосудов МЦР, эндостальных клеток, белков экстрацеллюлярного и интрамедуллярного матрикса (коллагены I, III, IV).

**Таблица 2.** Морфометрические показатели структур костного мозга подвздошной кости в зависимости от типа лимфоидной инфильтрации ( $M \pm m$ )

Паренхима и строма костного мозга	Здоровые лица n = 30	Больные ММ	
		Интерстициальная инфильтрация n = 18	Диффузная инфильтрация n = 12
Гемопоэтическая ткань (в том числе лимфоидные пролифераты) (площадь, %)	51,2±3,3	45,5±3,9 (21,4±5,4)	68,7±3,4* (45,3±5,7)
Жировая ткань (площадь, %)	28,1±1,0	25,6±2,8	12,0±3,4*
Костная ткань (площадь, %)	21,0±2,4	17,7±1,8	14,6±2,2*
Сосуды МЦР (площадь, %)	9,1±1,2	12,2±2,1	15,9±3,2*
Эндостальные клетки (количество на ед. пл.)	1,4±0,2	1,6±0,7	2,7±0,5

Примечание: \* —  $p < 0,05$ , отличия достоверны в сравнении с контролем.

Данные, полученные на материале трепанобиоптатов пациентов с ММ, повторяют тенденции, выявленные при исследовании стромы костного мозга у пациентов с ХЛЛ. Также при усилении инфильтрации отмечается увеличение количества сосудов, повышение количества и активности клеток в эндостальной зоне, усиление выработки коллагенов клетками стромы.

Остеолизис у пациентов с множественной миеломой встречается двух типов — гладкая костная резорбция и лакунарное рассасывание. В нашей выборке пациентов мы наблюдали оба типа костной резорбции, с преобладанием остеодеструкции по типу гладкой резорбции (61 %). Также нами было отмечено, что остеолизис наблюдается у пациентов со всеми типами инфильтрации костного мозга, и встречаются случаи ярко выраженного остеолизиса при минимальном поражении костного мозга опухолевыми клетками (при нодулярной и интерстициальной инфильтрации менее 10 %).

Культуральные исследования костного мозга и периферической крови после мобилизации для сбора стволовых клеток показали, что пролиферативная активность и потенциал деления статистически не отличается

от контрольной группы доноров костного мозга. Хотя в самой группе пациентов наблюдаются существенные колебания по КОЕ-ГМ от 39 до 300  $\times 10^5$  клеток. Можно предположить, что данные отличия по КОЕ-ГМ связаны не только с режимом мобилизации, предшествующим лечением, но также с особенностями ниши гемопоэтических стволовых клеток, которая влияет на свойства ГСК.

Обнаруженные особенности ключевых стромальных элементов костномозговых ниш ГСК свидетельствуют о серьезном нарушении их морфофункционального статуса.

Прежде всего, это может быть связано с тем, что дефекты ниши могут приводить к нарушению сигнальных путей запуска генетически детерминированной программы пролиферации и дифференцировки нормальных гемопоэтических предшественников, включая клетки-предшественницы В-лимфопоэза. Дальнейшие исследования стромальной ниши гемопоэтических клеток в динамике течения заболеваний (ММ и ХЛЛ) и в условиях применения современных схем терапии позволят получить дополнительные данные о патогенетической роли нишеобразующих структур в регуляции В-лимфопоэза.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Duhrsen U., Hossfeld D. K. Stromal abnormalities in neoplastic bone marrow diseases // *Ann Hematol.*— 1996.— Vol. 73.— P. 53–70.
2. Герасимова Л. П., Дризе Н. И., Лубкова О. Н. и др. Нарушения стромального микроокружения у больных с различными заболеваниями системы крови // *Гематология и трансфузиология.*— 2008.— Т. 53, № 5.— С. 59–62.
3. Raaijmakers M. H.G.P. Niche contributions to oncogenesis: emerging concepts and implications for the hematopoietic system // *Haematologica.*— 2011.— Vol. 96, № 7.— P. 1041–1048.
4. Yin T., Li L. The stem cell niches in bone // *J Clin Invest.*— 2006.— Vol 116, № 5.— P. 1195–1201.
5. Ellis S. L., Grassinger J., Jones A. et al. The relationship between bone, hemopoietic stem cells, and vasculature // *Blood.*— 2011.— Vol. 118, № 6.— P. 1516–1524.
6. Manier S., Sacco A., Leleu X. et al. Bone marrow microenvironment in multiple myeloma progression // *J of biomedicine and biotechnology.*— 2012.— Vol. 2012.— Id. 157496.
7. Raaijmakers M. H.G.P., Mukherjee S., Guo S. et al. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukemia // *Nature.*— 2010.— Vol. 464.— P. 852–857.
8. Ругаль В. И., Семенова Н. Ю., Волошин С. В., Бессмельцев С. С. Нишеобразующие структуры стромы костного мозга и лимфатических узлов при хроническом лимфолейкозе // *Гены и клетки.*— 2014.— Т. IX, № 2.— С. 30–32.
9. Jonathan W. Friedberg. CLL microenvironment: macro important/ Jonathan W. Friedberg // *Blood.*— 2011.— V. 117(2).— P. 377–378.
10. Zhang J., Niu C., Ye L. et al. Identification of haematopoietic stem cell niche and control of the niche size // *Nature.*— 2003.— Vol. 425.— P. 836–841.
11. Oh I. H., Kwon K.— R. Concise review: multiple niches for hematopoietic stem cell regulations // *Stem cells.*— 2010.— Vol. 28.— P. 1243–1249.
12. Lilly A. J., Johnson W. E., Bunce C. M. The haematopoietic stem cell niche: new insights into the mechanisms regulating hematopoietic stem cell behavior // *Stem cells international.*— 2011.— Vol. 2011.— Id. 274564.
13. Huang M.— M., Zhu J. The regulation of normal and hematopoietic stem cells by niches // *Cancer Microenviron.*— 2012.— Vol. 5, № 3.— P. 295–305.
14. Ругаль В. И., Бессмельцев С. С. Оценка опухолевой инфильтрации костного мозга при множественной миеломе по результатам исследования трепанобиоптатов // *Вестник гематологии* — 2009.— Т. 5, № 1.— С. 49–50.
15. Tieu K. S., Tieu R. S., Martinez-Agosto J.A., Sehl M. E. Stem cell niche dynamics: from homeostasis to carcinogenesis // *Stem cells international.*— 2012.— Vol. 2012.— Id. 367567.
16. Scadden D. T. The stem cell niche in health and leukemic disease // *Best Pract Res Clin Haematol.*— 2007.— Vol. 20, № 1.— P. 19–27.
17. Bessmeltsev S., Rugal V. Stromal microenvironment and stem cell niches in multiple myeloma // *Haematologica.*— 2010.— Vol. 95, № 25.— P. 569–570.
18. Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М. Множественная миелома: руководство для врачей // М.: МК, 2016.— 504 с.

**Сердюк О. Д.<sup>1</sup>, Старикова Е. В.<sup>2</sup>, Романова М. П.<sup>3</sup>, Анисимова Г. В.<sup>4</sup>, Нансо Л. И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар,

<sup>2</sup> ГБУЗ «Онкологический диспансер № 2» министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар,

<sup>3</sup> ГБУЗ «Онкологический диспансер № 3» министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар,

<sup>4</sup> ГБУЗ «Армавирский онкологический диспансер» министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар.

## **АНАЛИЗ ОСЛОЖНЕНИЙ ПНГ В КОГОРТЕ ПАЦИЕНТОВ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ**

**Serdyuk O. D.<sup>1</sup>, Starikova E. V.<sup>2</sup>, Romanova M. P.<sup>3</sup>, Anisimova G. V.<sup>4</sup>, Napso L. I.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> «Clinical Oncologic hospital No. 1» of the Ministry of Health of the Krasnodar region, Krasnodar

<sup>2</sup> «Oncologic hospital No 2» of the Ministry of Health of the Krasnodar region, Krasnodar

<sup>3</sup> «Oncologic hospital No 3» of the Ministry of Health of the Krasnodar region, Krasnodar

<sup>4</sup> «Armavir oncologic hospital No 3» of the Ministry of Health of the Krasnodar region, Krasnodar

## **ESTIMATION OF PNH COMPLICATION IN PATIENTS' COHORT OF KRASNODAR REGION**

**Резюме.** Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) — это незлокачественное комплемент-ассоциированное заболевание, связанное с мутацией гена PIG-A в гемопоэтической стволовой клетке. ПНГ — прогрессирующее заболевание, без соответствующего лечения оно приводит к осложнениям и тяжелым поражениям органов. Средний возраст пациентов составляет 30–40 лет. Своевременная диагностика позволяет вовремя начать терапию, остановить прогрессирование заболевания, значимо улучшить качество жизни пациента и предотвратить преждевременную смерть. Проведен анализ осложнений ПНГ, возникших у пациентов до начала таргетной терапии, на серии случаев пациентов, диагностированных и получавших терапию в Краснодарском крае. Длительность наблюдения составила 36 месяцев. В результате 100 % пациентов имели 1 или более осложнений ПНГ даже среди тех, у кого диагноз был установлен 2 месяца назад. Наиболее частыми осложнениями оказались тромбозы и повреждение почек. Тромбозы имели различную локализацию, у некоторых пациентов отмечались повторные эпизоды тромбозов, в том числе 2 эпизода острого нарушения мозгового кровообращения у одного пациента. В 6 случаях течение ПНГ осложнилось развитием хронической болезни почек, и у одного пациента был зарегистрирован эпизод острого повреждения почек. Все пациенты, попавшие в анализ, получали таргетную терапию экулизумабом. В результате терапии уровень ЛДГ после первого введения снизился на 66,9 %. У всех пациентов, чьи дан-

**Abstract.** Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a non-malignant complement-associated disease associated with PIG-A gene mutation in hematopoietic stem cells. PNH is a progressive disease and without appropriate treatment leads to complications and severe organ damage. The average age of patients is 30–40 years. Timely diagnostics allows you to start therapy on time, stop the progression of the disease, improve the patient's quality of life and prevent premature death. We have analyzed PNH complications in the clinical case series in patients who were diagnosed and treated in our hospitals in Krasnodar region. 100 % of patients had one or more PNH complications, even those patients in whom PNH was diagnosed only 2 months ago. Thromboses and kidney damage were the most frequent complications. Thrombosis had different localization and there were repeated thrombotic events. One patient had two acute cerebrovascular events. Chronic kidney disease was diagnosed as a complication of PNH in 6 patients and one patient had an acute renal damage episode. All patients who were in the analysis received targeted therapy with eculizumab. LDH level reduced by 66.9 % after the first administration. All patients whose data were available for analysis at 24 months did not show any sign of hemolysis and the average LDH decrease was 84.9 % from baseline. Change of hemoglobin level was slower and there was an increase by 21.6 % from baseline at 24 months. All patients with a PNH classical form, who received red blood

ные были доступны для анализа на отметке 24 месяца, не наблюдалось признаков гемолиза и среднее снижение уровня ЛДГ составило 84,9 % от исходного. Изменение уровня гемоглобина происходит медленнее и к 24 месяцу отмечено повышение его на 21,6 % от исходного. Все пациенты с классической формой ПНГ, которые до терапии получали трансфузии эритроцитарной массы, в результате проводимой терапии стали независимы от трансфузий. В публикации приведен клинический случай, иллюстрирующий широкую вариабельность осложнений ПНГ.

**Ключевые слова.** Пароксизмальная ночная гемоглобинурия, осложнения ПНГ, тромбозы, повреждение почек, экулизумаб, клинический случай.

**Введение.** Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ), известная ранее как болезнь Маркиафавы-Миккели, является прогрессирующим, жизнеугрожающим заболеванием [1], связанным с приобретенной мутацией PIG гена (чаще — мутацией PIGA гена) в гемопоэтической стволовой клетке [2, 3, 4]. Данная мутация приводит к частичной или полной потере гликозилфосфатидилинозитоловых якорей (GPI-якорей), которые обеспечивают прикрепление к мембране клеток крови ряда белков с различными функциями. CD55 и CD59, ингибиторы системы комплемента, также являются GPI-связанными белками. В результате их утраты происходит неконтролируемый комплемент-опосредованный гемолиз, который и лежит в основе всех клинических и лабораторных проявлений болезни [5, 6].

Истинная заболеваемость ПНГ неизвестна, но оценивается порядка 1–2 чел./млн/год. По данным эпидемиологических исследований распространенность ПНГ составляет около 13–16 человек на млн. населения [7, 8]. Опираясь на указанные результаты эпидемиологических исследований, можно предположить, что Российская когорта пациентов с ПНГ составляет около 2300 человек. Заболевание может развиваться в любом возрасте, но наиболее часто ПНГ диагностируется в возрасте 30 лет [7–10].

ПНГ ассоциирована с хронической анемией, тромбозами, и зачастую сопровождается костномозговой недостаточностью [11, 12]. В литературе встречаются сообщения о случаях тромбозов различных лока-

ций с критическим поражением печени, мозга, легких, селезенки и кишечника. Именно тромбозы являются ведущей причиной смерти пациентов с ПНГ [12–14].

**Key words:** paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH), PNH complications, thrombosis, kidney damage, eculizumab, clinical case.

лизаций с критическим поражением печени, мозга, легких, селезенки и кишечника. Именно тромбозы являются ведущей причиной смерти пациентов с ПНГ [12–14].

В ходе обзора литературы было встречено множество сообщений о различных осложнениях, ассоциированных с ПНГ: острое и хроническое повреждение почек [15–18], тромбозы различной локализации, в том числе тромбозы коронарных артерий с развитием инфаркта миокарда [19], тромбозы почечных артерий с развитием инфаркта почки [20], многочисленные описания тромбозов церебральных вен и синусов с развитием инсультов и транзиторных ишемических атак [20–24]. Также тромбоз у пациентов с ПНГ может локализоваться в мезентериальных и печёночных венах и приводить к развитию синдрома Бадда-Киари [20, 25–27]. И это далеко не весь перечень осложнений ПНГ и симптомокомплексов, под видом которых это тяжелое заболевание может манифестировать. Разнообразие симптомов и осложнений ПНГ приводит к значительной задержке в установлении диагноза.

Мы приводим анализ осложнений ПНГ в когорте пациентов, которые были диагностированы в Краснодарском крае, и представляем клинический случай пациента с осложнениями, ассоциированными с ПНГ.

**Материалы и методы.** С 2012 года по 2015 год 14 пациентов с диагнозом ПНГ находились на лечении в нашем учреждении. У 12 из них диагноз ПНГ был установлен непосредственно в Краснодарском онкологическом диспансере и 2 пациента были

переведены под наше наблюдение с уже установленным диагнозом. Из 14 пациентов, попавших под наше наблюдение, все получали таргетную патогенетическую терапию экулизумабом и 11 пациентов остаются на терапии на настоящий момент. Все пациенты получили поливалентную менингококковую вакцину с профилактической целью за 2 недели до первого введения экулизумаба. В настоящее время достаточная для анализа информация доступна о 10 пациентах. Анализ данных проведен ретроспективно. Период наблюдения на момент написания статьи составил 36 месяцев.

Диагноз ПНГ был установлен на основании клинической картины, лабораторных признаков гемолиза и факта обнаружения клона ПНГ-клеток методом высокочувствительной проточной цитометрии.

В качестве критериев оценки эффективности таргетной терапии экулизумабом были приняты показатели уровня лактатдегидрогеназы (ЛДГ), как маркер гемолиза, и уровень гемоглобина. Потребность в трансфузиях отмытых эритроцитов нами была принята за косвенный признак эффективности препарата, так как сопутствующая аплазия кроветворения могла оказать значимое влияние на данный показатель.

**Результаты.** В нашем наблюдении заболевание встречалось среди мужчин и женщин в соотношении 1:1. Средний возраст пациентов на момент установления диагноза составил 30,6 лет, а средняя продолжительность заболевания от появления первых симптомов до постановки диагноза — 8,6 лет (диапазон от 1,5 мес. до 27 лет). Все пациенты включены в Международный ПНГ регистр.

Преимущественно наблюдается сочетание ПНГ с синдромами недостаточности костного мозга: в 4 случаях с апластической анемией и в 2 — с миелодиспластическим синдромом. Меньшая часть пациентов имеет классическую форму ПНГ: 4 пациента из 10 имели клинические проявления гемолиза и анемии без признаков костномозговой недостаточности.

При проведении высокочувствительной проточной цитометрии медиана размера клона ПНГ на гранулоцитах составила 93,5 % (диапазон 69,09 % — 99,06 %). Следует отметить, что в двух случаях наблюдалось нарастание клона: в одном случае в течение 6 лет клон ПНГ клеток на гранулоцитах увеличился с 87 % до 94,92 %. Во втором случае в течение

двух лет произошло нарастание минорного клона до 89 % с развитием клинической картины ПНГ, которая превалирует на настоящий момент.

При анализе осложнений ПНГ было обнаружено, что все 10 пациентов имеют какое-либо осложнение. В 9 случаях из 10 наблюдалось 2 и более осложнений заболевания.

Ведущее место среди жизнеугрожающих последствий ПНГ в анализируемой когорте пациентов занимают тромбозы. У 6 пациентов было диагностировано 8 случаев тромбозов. Локализация тромбоза распределилась следующим образом: в 5 случаях тромбоз локализовался в сосудах легких, 1 случай тромбоза и 2 случая острого нарушения мозгового кровотока (ОНМК) зарегистрированы у одного пациента.

Поражения почек были обнаружены у 7 пациентов: в 6 случаях диагностирована хроническая болезнь почек и в одном случае был зарегистрирован эпизод острого повреждения почек (ОПП) в послеоперационном периоде.

Потребность в трансфузиях эритроцитарной массы зарегистрирована у 7 пациентов и 3 из них страдали классической формой ПНГ, то есть, трансфузионная зависимость у этих пациентов была обусловлена выраженным гемолизом. У одного пациента с трансфузионной зависимостью выявлен ХВГВ. В 2 случаях пациентам была проведена спленэктомия, которая привела к развитию эпизода ОПН у одного из пациентов. У одной пациентки диагностирован случай невынашивания беременности.

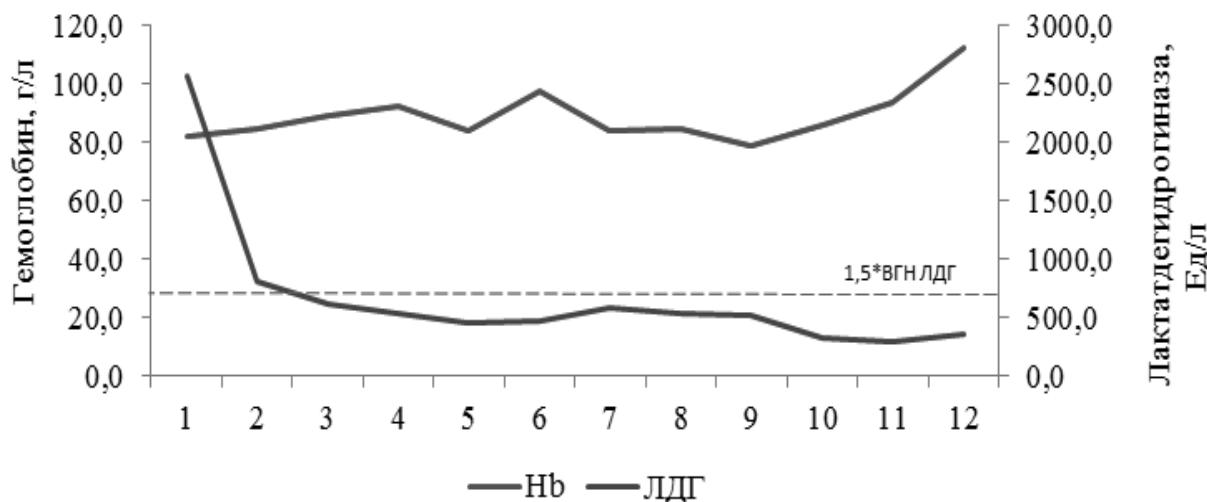
Как уже указывалось, все пациенты с ПНГ, включенные в анализ, получают таргетную терапию.

Оценка эффективности терапии экулизумабом проводилась по изменению уровня ЛДГ и гемоглобина. Косвенным критерием эффективности считалось снижение или устранение потребности в трансфузиях отмытых эритроцитов.

До начала терапии средний уровень ЛДГ составил 2566,1 Ед/л (диапазон 801-5688 Ед/л). В результате проводимой терапии у всех пациентов уровень ЛДГ снизился на 68,2 % после первой инфузии (диапазон снижения составил 25,3 % — 87,7 %) от уровня ЛДГ регистрируемого до введения препарата. У одного пациента уровень ЛДГ уже после первой инфузии опустился ниже верхней границы

нормы (верхняя граница нормы — 351 Ед/л). У 6 пациентов период наблюдения составляет более 21 мес. и данные пригодны для анализа долгосрочных результатов. На данной временной отметке уровень ЛДГ снизился на 84,9 % от исходного (диапазон снижения составил 61,8 % — 94,1 %) и у 5 пациентов

из 6 не превышал или незначительно превышал верхнюю границу нормы. У одного пациента уровень ЛДГ на визите через 21 месяца терапии не превысил полтора значения верхней границы нормы и составлял 417 Ед/л (рисунк 1).



**Рисунок 1.** Динамика уровней гемоглобина и ЛДГ до и после начала терапии экулизумабом (когорта пациентов).

При анализе динамики уровня гемоглобина обнаружено, что его восстановление происходит медленнее в сравнении с нормализацией уровня ЛДГ. К 21 месяцу у 6 пациентов, данные о которых были доступны для анализа, среднее повышение уровня гемоглобина составило 21,6 % (диапазон от -20,7 % до 75,2 %). При этом значимо худшие результаты по данному показателю наблюдались у пациентов с сопутствующей аплазией кроветворения. В том числе, в одном случае наблюдалась выраженная положительная динамика на фоне применения экулизумаба: отмечалось снижение уровня ЛДГ на 87,7 % после первой инфузии и его нормализация через 3 месяца терапии, уменьшение трансфузионной зависимости, пациентка смогла вновь устроиться на работу. Однако манифестировала тяжелая апластическая анемия, что привело к развитию глубокой цитопении, снижению гемоглобина на 20,7 % от исходного уровня. В результате, несмотря на проводимую терапию, пациентка погибла из-за развившихся инфекционных осложнений.

Исходно у 7 пациентов из 10 доступных для анализа наблюдалась потребность в трансфузиях эритроцитарной массы. В результате тера-

пии 3 пациента стали полностью трансфузионно независимы, в трех случаях трансфузионная зависимость сохранилась и в одном случае наблюдается значимое снижение потребности в трансфузиях. Все пациенты, у которых сохраняется потребность в трансфузиях, имеют сопутствующую аплазию кроветворения.

**Описание клинического случая.**

Пациент 17 лет поступил в гематологическое отделение с жалобами на резкую слабость, пожелтение кожных покровов и темный цвет мочи в декабре 2003 года. Жалобы возникли после эпизода ОРВИ. Аналогичные жалобы неоднократно возникали ранее. При обследовании обнаружено снижение уровня гемоглобина до 60–80 г/л, ретикулоцитоз, ацизоцитоз, пойкилоцитоз, тромбоцитопения и лейкопения. На основании проведенного обследования установлен диагноз приобретенной гемолитической анемии с рецидивирующим течением и назначена терапия преднизолоном 60 мг/сут. Курс стероидной терапии составил 11 месяцев, однако положительной динамики не отмечено, в связи с чем было принято решение провести спленэктомию.

Результаты обследования до операции: эритроциты  $2,8 \times 10^{12}/л$ , гемоглобин 85 г/л, частичное восстановление уровня тромбоцитов и лейкоцитов:  $132 \times 10^9/л$  и  $5,8 \times 10^9/л$  соответственно.

В послеоперационном периоде на 5-й день пациент предъявляет жалобы на тошноту и рвоту, в анализах отмечается повышение

мочевины до 46,3 ммоль/л. На 6-й день зарегистрирован пик креатинина крови на уровне 700 мкмоль/л, развивается полиурия. Кроме того, обращает на себя внимание углубление анемии в послеоперационном периоде, что может свидетельствовать о развитии гемолиза (рисунок 2).

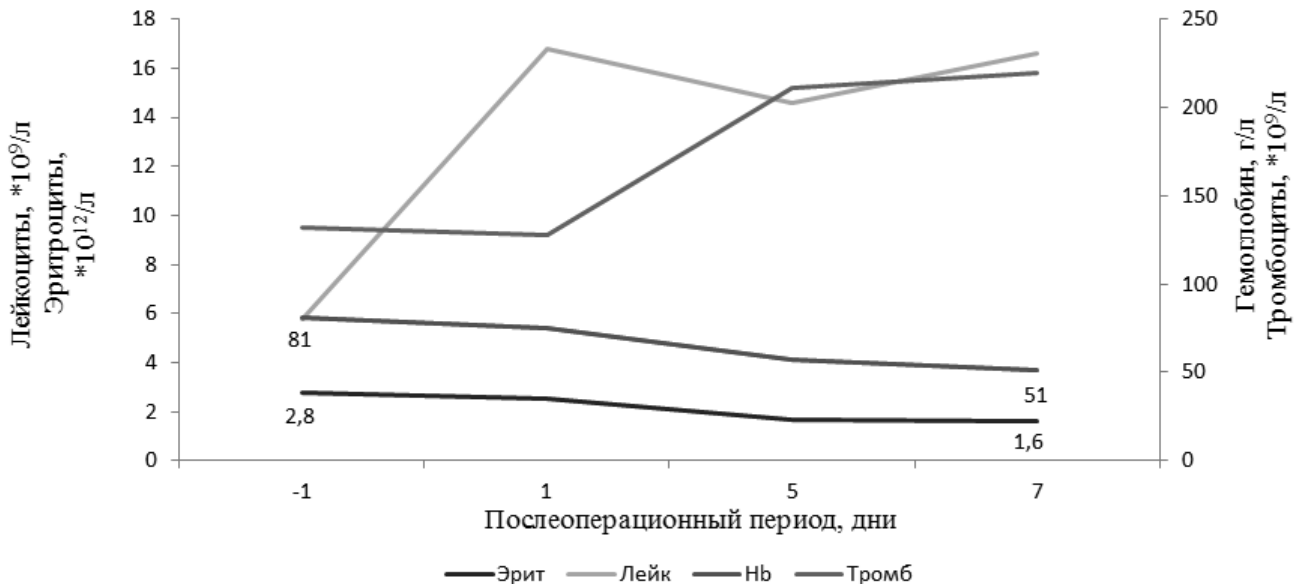


Рисунок 2. Динамика гематологических показателей пациента в послеоперационном периоде.

Пациент переводится в отделение нефрологии для дальнейшего лечения с диагнозом: острый интерстициальный нефрит, ОПН, восстановительный период. Состояние удалось купировать консервативно, пациент выписан с улучшением.

Таким образом, послеоперационный период осложнился развитием острого повреждения почек. Также наблюдалось ухудшение анемии. Это косвенно говорит о том, что у пациента на тот момент имел место внутрисосудистый гемолиз как проявление ПНГ, и оперативное вмешательство спровоцировало гемолитический криз.

В дальнейшем у пациента неоднократно повторялись гемолитические кризы, что привело к тромбозу легочной артерии, осложнившейся инфарктной пневмонией, в сентябре 2005 года.

Спустя 2 месяца после эпизода тромбоза пациент госпитализируется в Гематологический научный центр РАМН для уточнения диагноза и подбора терапии. По-прежнему регистрируется анемический синдром: гемоглобин 72 г/л, эритроциты

$3,57 \times 10^{12}/л$ , 63 % ретикулоцитов, анизоцитоз, тельца Жолли. Уровень тромбоцитов повышен до  $558 \times 10^9/л$ , лейкоциты в пределах нормы ( $8,5 \times 10^9/л$ ). Проба Кумбса отрицательная, гемосидерин в моче, повышение содержания железа в моче, положительные сахарозная проба и тест Хема. Обнаружены гетерозиготные мутации ингибитора активатора плазминогена PAI-1 и MTHFR. По результатам оценки клинических и лабораторных данных был установлен диагноз пароксизмальной ночной гемоглобинурии, комбинированной гематогенной тромбофилии, аспленического тромбоцитоза и рекомендован прием варфарина, поливитаминов и трансфузий отмытых эритроцитов по потребности.

Проводимая терапия не давала положительного эффекта и при очередном обследовании в 2011 году по-прежнему сохраняется выраженная гемолитическая анемия: гемоглобин 64 г/л, эритроциты  $2,52 \times 10^{12}/л$ , ЛДГ 1550 Ед/л (верхняя граница нормы — 450 Ед/л), билирубинемия до 32,1 мкмоль/л. Уровень лейкоцитов в пределах нормы:  $7,2 \times 10^9/л$ , повышение уровня тромбоцитов



до  $594 \times 10^9$ /л. Периодически требуется проведение трансфузий отмытых эритроцитов в связи с тяжестью анемии.

В 2012 году пациент консультирован в клинике ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, где по жизненным показаниям был рекомендован экулизумаб. Пациент был вакцинирован поливалентной менингококковой вакциной с профилактической целью, после чего была начата терапия экулизумабом в стандартной дозе согласно инструкции. При обследовании до начала терапии уровень гемоглобина составил 81 г/л. Через три месяца уровень гемоглобина достиг 101 г/л, через 9 месяцев — 124 г/л.

После первого введения уровень ЛДГ снизился с 2000 Ед/л до 446 Ед/л (верхняя граница нормы — 450 Ед/л). За весь период наблюдения было отмечено 2 случая развития гемолитических криза с повышением ЛДГ до 848 Ед/л и 989 Ед/л и падением уровня гемоглобина до 58 г/л и 69 г/л, соответственно. Оба случая были связаны с нарушением режима введения препарата из-за задержки поставки препарата в регион. В обоих случаях потребовалась госпитализация пациента и проведение трансфузий отмытых эритроцитов.

На контрольном визите в июне 2016 года состояние удовлетворительное, самочувствие хорошее, жалоб нет. Уровень ЛДГ в пределах нормы (550 Ед/л). Гемоглобин 122 г/л, эритроциты  $3,2 \times 10^{12}$ /л, уровень лейкоцитов в пределах нормы:  $5,92 \times 10^9$ /л. Примечательно, что тромбоцитоз купировался и уровень тромбоцитов также нормализовался ( $132 \times 10^9$ /л). Пациент находится под наблюдением на момент написания статьи.

### Обсуждение

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия — это хроническое заболевание, ассоциированное с жизнеугрожающими осложнениями и высокой смертностью пациентов [7].

Наиболее опасными среди осложнений ПНГ являются тромбозы, приводящие к смерти пациентов в 22–67 % случаев [7, 10, 15, 28]. Несмотря на то, что наиболее часто тромбозы у пациентов с ПНГ локализуются в глубоких венах и мезентериальных венах [29], до 6,5 % случаев приходится на тромбозы легочных сосудов. 60 % пациентов, перенесших первый тромбоз, погибают в течение первых 4 лет после тромботического события [30].

По данным проведенного анализа все пациенты имели как минимум одно осложнение ПНГ. У 9 из 10 пациентов было зарегистрировано 2 и более осложнений заболевания. Ведущее место среди последствий ПНГ занимают тромботические осложнения, которые наиболее часто локализовались в сосудах легких.

В 65 % случаев у пациентов с ПНГ диагностируется хроническая болезнь почек [31] и от 8 до 18 % случаев смерти связаны с повреждением почек [11, 32]. Повреждение почек у пациентов с ПНГ может быть как острое, так и хроническое. В основе повреждения почек лежит прямая токсичность гемоглобина, гиповолемия и ишемия ткани почки, закупорка канальцев гемом и кристаллами мочевой кислоты [33]. Внутрисосудистый гемолиз приводит к массивной гемоглобинурии и острому канальцевому некрозу, который является причиной острого повреждения почек у пациентов с ПНГ [34–36]. Хронический гемолиз, характерный для ПНГ, приводит к отложению гемосидерина в проксимальной части канальцев почки и нарушению их функции [37, 38]. По данным литературы, у пациентов с ПНГ эпизоды острого повреждения почек сопровождались лабораторными признаками внутрисосудистого гемолиза: снижение гемоглобина, повышение уровня ЛДГ, гемоглобинурия, гипербилирубинемия [39, 40].

В нашем анализе острое или хроническое повреждение почек было диагностировано у 7 пациентов из 10. В представленном клиническом случае в послеоперационном периоде у пациента наблюдались клинические и лабораторные признаки острого повреждения почек. Кроме того, обратило на себя внимание нарастание анемии. Так как оперативное вмешательство является фактором, активирующим комплемент, можно предположить, что острое поражение почек и нарастание тяжести анемии было вызвано гемолитическим кризом.

Семь пациентов требовали проведения трансфузий эритроцитарной массы. У трех из них потребность в гемотрансфузиях была обусловлена гемолизом, так как эти пациенты страдали классической формой ПНГ без признаков аплазии кроветворения.

Согласно Национальным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии,

в случае обнаружения клона ПНГ  $\geq 0,01$  % пациент подлежит дальнейшему наблюдению и мониторингованию [1]. Данный подход позволяет своевременно распознать дебют ПНГ и предотвратить жизнеугрожающие последствия заболевания. В литературе встречаются описания случаев, в которых клон ПНГ в течение 5 лет увеличивался с 5 % до 67 %, что привело к множественным тромбозам коронарных артерий и гибели пациентки [19].

У 2 пациентов в наблюдаемой когорте обнаружено нарастание клона. В том числе у одного пациента в течение двух лет произошло нарастание минорного клона до 89 % на гранулоцитах с развитием клинической картины ПНГ, потребовавшей терапии. Регулярный мониторинг размера клона позволил своевременно начать терапию в обоих случаях.

В течение десятилетий для лечения пациентов с ПНГ была доступна только поддерживающая терапия, включающая трансфузии отмытых эритроцитов, глюкокортикоиды, препараты железа, анаболические стероиды, препараты для стимуляции эритропоэза, антикоагулянты [29, 41, 42].

Радикальным методом излечения ПНГ являлась и остается на настоящий момент трансплантация костного мозга (ТКМ). Однако ТКМ сопряжена с высоким риском осложнений и смерти, в связи с чем данный метод не является терапией первого выбора при классической форме ПНГ [1, 43].

С 2011 года в России был зарегистрирован и разрешен к применению экулизумаб — препарат патогенетической терапии ПНГ, подавляющий активность комплемента путем блокады C5 компонента. Появление экулизумаба значительно поменяло как подходы, так и результаты терапии ПНГ. Как показал анализ M. Loschi et al., выживаемость пациентов, получавших экулизумаб, составила 92 % против 68 % в группе исторического контроля в течение 6 лет. Значительно снизилась частота тромботических событий у пациентов, получавших экулизумаб: 4 % против 27 % в группе исторического контроля [44].

При проведении анализа когорты пациентов был зарегистрирован один случай смерти, не связанный с ПНГ. В данном случае назначение таргетной терапии ПНГ позволило достигнуть значительного эффекта: купировался гемолиз (снижение уровня ЛДГ с 5503 Ед/л до 673 Ед/л после первой инфузии, нор-

мализация показателя на 3й месяц терапии), снизилась трансфузионная зависимость, пациентка вернулась на работу. Но манифестация тяжелой апластической анемии привела к инфекционным осложнениям и гибели пациентки. Остальные пациенты живы.

Одной из целей проводимого нами анализа была оценка эффективности терапии экулизумабом. За критерии эффективности мы приняли изменение уровня ЛДГ, как маркера гемолиза, и уровня гемоглобина в сравнении с исходным. Снижение или прекращение трансфузионной зависимости также оценивалось, но как косвенный признак эффективности.

Динамика средних показателей ЛДГ и гемоглобина за весь период наблюдения в когорте пациентов отражена на *рисунке 1*.

После первого введения среднее снижение уровня ЛДГ в когорте наблюдаемых пациентов составило 68,2 %, в том числе у одного пациента была достигнута нормализация показателя и еще у трех пациентов уровень ЛДГ не превышал верхнюю границу нормы (ВГН равна 351 Ед/л). Таким образом, применение таргетной терапии экулизумабом позволило быстро купировать внутрисосудистый гемолиз. В одном случае у пациентки с ПНГ на фоне миелодиспластического синдрома сохраняется высокий уровень ЛДГ (689 Ед/л — 1624 Ед/л), что может объясняться как экстравазальным гемолизом, так и самовольным нарушением режима применения препарата. В остальных случаях нормализация уровня ЛДГ и купирование гемолиза были достигнуты через 1–3 месяца применения препарата.

Как можно видеть на *рисунке 1*, восстановление уровня гемоглобина происходит значительно медленнее в сравнении с нормализацией ЛДГ, особенно у пациентов с сопутствующей аплазией кроветворения. Среднее повышение уровня гемоглобина на отметке 21 месяц составило 21,6 % от исходного.

В то же время, из 7 пациентов, которым требовалось проведение трансфузии до начала терапии, 3 пациента стали полностью трансфузионно независимы и в одном случае потребность в трансфузиях значительно сократилась. Все пациенты, у которых сохраняется потребность в трансфузиях, имеют ПНГ в сочетании с аплазией кроветворения.

ПНГ приводит к множеству осложнений, поражающих различные органы и системы. У большинства пациентов в нашем анализе

встречается 2 и более осложнения заболевания одновременно, что значительно ухудшает состояние пациента и может привести к преждевременной смерти.

С 2014 года в России существуют Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии, помогающие практикующим врачам своевременно диагностировать

это жизнеугрожающее состояние и назначить адекватную терапию согласно указанным в документе показаниям. Своевременно назначенная терапия может снизить риск повторных тромбозов и смерти пациентов.

**Конфликт интересов**

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Кулагин А. Д., Лисуков И. А., Птушкин В. В. Шилова Е. Р. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии. // *Онеогематология*. 2012; 3: 49–54
2. Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, Iida Y. et al. Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.// *Cell*. 1993;73:703–711.
3. Bessler M, Mason PJ, Hillmen P, Miyata T et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is caused by somatic mutations in the PIGA gene. // *EMBO J* 1994;13:110–117.
4. Krawitz PM, Hochsmann B, Murakami Y, Teubner B. et al. A case of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria caused by a germline mutation and a somatic mutation in PIGT.// *Blood*2013;122:1312–1315.
5. Dmytrijuk A, Robie-Suh K, Cohen MH, Rieves D. et al. FDA report: eculizumab (Soliris) for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.// *Oncologist*. 2008;13(9):993–1000.
6. Al-Ani F, Chin-Yee I, Lazo-Langner A. Eculizumab in the management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: patient selection and special considerations.// *TherapeuticsandClinicalRiskManagement* 2016; 12: 1161–1170
7. Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L. et al.. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.// *N Engl J Med*. 1995;333(19):1253–1258.
8. Hill A, Platts PJ, Smith A, Richards SJet al.. The incidence and prevalence of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and survival of patients in Yorkshire.//*ASH Annual Meeting*2006.
9. Moyo VM, Mukhina GL, Garrett ES, Brodsky RA. Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays.//*Br J Haematol*. 2004;126(1):133–138.
10. Nishimura J, Kanakura Y, Ware RE, Shichishima Tet al. Clinical course and flow cytometric analysis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the United States and Japan.//*Medicine (Baltimore)*. 2004;83(3):193–207.
11. Ziakas PD, Poulou LS, Pomoni A. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria at a glance: a clinical review.// *CurrVascPharmacol*. 2008;6:347–353.
12. Bi S, Fan J, Dong J, Liu Q. An unusual cause of cerebral venous sinus thrombosis Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.//*Neurosciences*. 2011;16:267–269.
13. Ziakas PD, Poulou LS, Rokas GI, Bartzoudis D et al. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sites, risks, outcome. An overview.// *J ThrombHaemost*. 2007;5:642–645.
14. Ramus J, McPherson GAD. Recurrent bowel infarction in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria.// *J R SocMed*. 2003;96:406–407.
15. Wijewickrama ES, Gooneratne L, De Silva C, Lanarolle RL. Acute Tubular Necrosis in a Patient with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria.//*Saudi J KidneyDisTranspl* 2013;24(1):105–108
16. Zachee P, Henckens M, Van Damme B, Boogaerts MA, et al. Chronic renal failure due to renal hemosiderosis in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.//*ClinNephrol* 1993;39:28–31.
17. Balwani MR, Kute VB, Shah PR, Shah M et al. Manifestation of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria as repeated acute kidney injury.// *J Nephropharmacol*. 2016; 5(2): 116–118.

18. Nair R. K., AmbarKhaira, Alok Sharma, SandeepMahajan, et al. Dinda. Spectrum of renal involvement in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: report of three cases and a brief review of the literature.//*IntUrolNephrol* (2008) 40:471–475
19. Gerber B., Kyburz T., Reinhart W. H., Bonetti P. O. et al. Complement inhibition to treat myocardial infarction?// *BMJ CaseReports* 2011; doi:10.1136/bcr.01.2011.3701
20. Azevedo L, Costa MR, Fonseca AC, Pinho e Melo T. Recurrent cerebral ischaemic events in the setting of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria.//*BMJ CaseRep* 2016. doi:10.1136/bcr-2015-213603
21. Tejada J, Herna´ndez-Echebarri´a L, Sandoval V, MostazaJL. Cerebral ischemia as first manifestation of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Neurologia* 2007;22(7):471–474.
22. al-Samman MB, Cuetter AC, Guerra LG, Ho H. Cerebral arterial thrombosis as a complication of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *South Med J* 1994;87(7):765–767.
23. Granata G, Izzo T, Di Micco P, Bonamassa B et al. Thromboembolic events and hematological diseases: A case of stroke as clinical onset of a paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Thromb J* 2004;2(1):10.
24. Heinrich J, Audebert, Eisenburg M, SchrezenmeierH, et al. Cerebral Ischemic Infarction in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Report of 2 Cases and Updated Review of 7 Previously Published Patients // *J Neurol* (2005) 252: 1379–1386
25. Noji H1, Shichishima T, Okamoto M, Shichishima-Nakamura Aet al. Microvascular thrombosis in the hepatic vein of a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Inter J Hemat.* 2007;86:216–221
26. Torres J, De Vroey B, Noël MP, Notteghem B, et al. Recurrent small bowel ischemia in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Nat Rev GastroenterolHepatol* 2010 Jul;7(7):410–4.
27. Brodsky A, Mazzocchi O, Sánchez F, Khursigara G et al. Eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with Budd-Chiari syndrome progressing despite anticoagulation // *ExpHematolOncol.* 2012;1(1):26
28. Ray, J., Buows, R., Ginsberg, J. and Burows, E. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and the risk of venous thrombosis: review and recommendations of the pregnant and nonpregnant patient // *Haemostasis.* 2000; 30: 103–117
29. Hillmen P, Muus P, Dührsen U, Risitano AM et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Blood* 2007;110:4123–4128.
30. Hill A, Kelly RJ, Hillmen P. Long-term effect of the complement inhibitor eculizumab on kidney function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Blood.* 2013;121:4985–4996.
31. Hillmen P, Elebute M, Kelly R, Urbano-Ispizua A, et al. Long-term effect of the complement inhibitor eculizumab on kidney function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Am J Hematol* 2010;85:553–559
32. Rosse WF, Nishimura J. Clinical manifestations of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: present state and future problems // *Int J Hematol* 2003;77:113–20
33. Zager RA, Burkhart KM, Conrad DS, Gmur DJ. Iron, hemeoxygenase, and glutathione: effects on myohemoglobinuricproximal tubular injury // *Kidney Int* 1995;48:1624–34.
34. Chow KM, Lai FM, Wang AY, Chan YL, et al. Reversible renal failure in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria // *Am J Kidney Dis* 2001;37: E17.
35. Jose MD, Lynn KL. Acute renal failure in a patient with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria // *ClinNephrol* 001;56:172–174.
36. Chen SC, Hung CC, Hsu CP, Chiu YW, et al. Recurrent acute renal failure in a patient with aplastic anaemia-paroxysmal nocturnal haemoglobinuria syndrome: A case report // *Kaohsiung J Med Sci* 2007;23:579–83.
37. Clark DA, Butler SA, Braren V, Hartmann RC et al. The kidneys in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Blood* 1981;57:83–89.
38. Riley AL, Ryan LM, Roth DA. Renal proximal tubular dysfunction and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Am J Med* 1977;62:125–129.

39. Ballarín J, Arce Y, TorraBalcells R, Diaz EncarnaciónM, et.al. Acute renal failure associated to paroxysmal nocturnalhaemoglobinuria leads to intratubularhaemosiderinaccumulation and CD163 expression //Nephrol Dial Transplant (2011) 26: 3408–3411
40. Kirkizlar O, Kendir M, Karaali Z, Ure U, et.al. Acute renal failure in a patient with severe hemolysis // IntUrolNephrol (2007) 39:651–654
41. Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // Blood 2005;106:3699–3709
42. Brodsky RA. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // Blood 2009;113:6522–6527
43. Peffault de Latour R, Schrezenmeier H, Bacigalupo A, et al. Allogeneic stem cell transplantation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria //Haematologica. 2012;97(11):1666–1673.
44. M. Loschi et al. Impact of eculizumab treatment on paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a treatment versus no-treatment study // American Journal of Hematology, Vol. 91, No. 4, April 2016

**Николаева А. Е.<sup>1</sup>, Папаян Л. П.<sup>2</sup>, Капустин С. И.<sup>2</sup>, Кутушева Г. Ф.<sup>3</sup>,  
Кутуева Ф. Р.<sup>1</sup>, Рухляда Н. Н.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Россия, Санкт-Петербург, СПб ГБУЗ «Женская консультация № 22»

<sup>2</sup> Россия, Санкт-Петербург, ФГБУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России

<sup>3</sup> Россия, Санкт-Петербург, Санкт-Петербургский Государственный Педиатрический Медицинский университет Минздрава России

**РЕТРОХОРИАЛЬНАЯ ГЕМАТОМА КАК ФАКТОР РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ  
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ БЕРЕМЕННОСТИ**

***Nikolaeva A. E.<sup>1</sup>, Papayan L. P.<sup>2</sup>, Kapustin S. I.<sup>2</sup>, Kutusheva G. F.<sup>3</sup>, Kutueva F. R.<sup>1</sup>, Ruhljada N. N.<sup>3</sup>***

<sup>1</sup> Russia, Saint-Petersburg, SPb GBUZ «Female consultation № 22»

<sup>2</sup> Russia, Saint-Petersburg, Federal state institution «Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology» of FMBA of Russia

<sup>3</sup> Russia, Saint-Petersburg, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Russian Ministry of health

**RETROCHORIAL HEMATOMA AS A RISK FACTOR FOR HEMATOLOGICAL  
COMPLICATIONS DURING PREGNANCY**

**Резюме.**

**Цель исследования.** Выявление гематологических факторов риска развития ретрохориальной гематомы (РХГ).

**Материал и методы.** Обследовано 157 беременных, 70 из которых имели в анамнезе синдром потери плода (СПП), у 35 были выявлены факторы риска возникновения СПП. У 36 (34,3 %) женщин от общего числа наблюдаемых пациенток была диагностирована ретрохориальная гематома (РХГ). Диагностика проводилась на основании УЗИ органов малого таза. Лабораторное исследование включало определение молекулярно-генетических маркеров тромбофилии и функциональную оценку системы гемостаза.

**Результаты.** Генетический анализ в группе выявил высокую частоту мультигенных форм тромбофилии, которые были обнаружены у 77,8 % беременных. Гетерозиготное носительство мутации фактор V Leiden у пациенток с РХГ встречалось достоверно чаще, чем в здоровой популяции. Среди пациенток с ретрохориальной гематомой по сравнению с контрольной группой (КГ) здоровых беременных уже в I триместре выявились изменения, свидетельствующие о наличии у них гиперкоагуляции.

**Заключение.** Сочетание ретрохориальной гематомы с наследственной тромбофилией повышает риск репродуктивных потерь за счет формирования первичной плацентарной недостаточности. Выявление факторов

**Abstract.**

**Objective.** Identification of the hematological risk factors for the development of a retrochorial hematoma.

**Material and methods.** 157 pregnant women surveyed, 70 of whom had a history of miscarriage, 35 had risk factors for miscarriage. 36 patients (34,3 % of a total number of observed) had a retrochorial hematoma on ultrasound examination. Laboratory tests included determination of molecular-genetic markers of thrombophilia and functional evaluation of the hemostatic system.

**Results.** A multigenic form of thrombophilia was detected in 77,8 % of the pregnant women on a genetic test. Carriers of Leiden mutation were observed more often among patients with retrochorial hematoma than among patients without it. Patients with retrochorial hematoma had changes correlating with the existence of a hypercoagulable state more often than pregnant women without it even in the first trimester of pregnancy.

**Conclusion.** The combination of retrochorial hematoma and hereditary thrombophilia increase the risk of miscarriage due to the formation of primary placental insufficiency. Identification of risk factors for the development of retrochorial hematoma is the key to the timely prevention of reproductive losses.

риска развития РХГ является залогом своевременной профилактики репродуктивных потерь.

**Ключевые слова.** Ретрохориальная гематома, коагулограмма, наследственная тромбофилия.

Одной из наиболее актуальных проблем современного акушерства остается проблема репродуктивных потерь. Актуальность этой задачи обусловлена не только количественным снижением населения РФ, но и тенденцией к уменьшению в популяции общей доли детей и подростков, т. е. снижением резерва репродукции. Связь между репродуктивными потерями и нарушениями в системе гемостаза сегодня привлекает особое внимание акушеров-гинекологов и гематологов. Наиболее широко в этом аспекте обсуждается проблема тромботических нарушений, особенно на стадии формирования хориона. Среди причин самопроизвольного прерывания беременности и возникновения поздних акушерских осложнений в последние годы стали выделять так называемый «маточный фактор», который может быть представлен незрелостью эндометрия и нарушениями в системе гемостаза. [1, 2]. Указанные изменения приводят к неполноценности процессов имплантации и плацентации. Частым признаком патологического развития хориона является образование ретрохориальных гематом. В общей популяции беременных это осложнение встречается в 3 % случаев [10]. Если не произойдет гибель эмбриона, то в дальнейшем возможно развитие плацентарной недостаточности в 24 % случаев, преждевременных родов в 16–19 %, преэклампсии — в 8 %, задержки развития плода — в 7 % случаях [9,10]. Высокая частота акушерских и перинатальных осложнений при патологии хориона на ранних сроках беременности диктует необходимость более глубокого изучения данной проблемы. Значимую роль в развитии тромботических осложнений во время беременности и, соответственно, в нарушении фетоплацентарного кровообращения играют различные врожденные и приобретенные тромбофилии — состояния, предрасполагающие к гиперкоагуляционным изменениям. По разным данным, на долю последних в структуре причин потери плода приходится

**Keywords.** Retrochorial hematoma, coagulation, inherited thrombophilia, hypercoagulation.

The authors have no disclosures.

от 40 до 75 % случаев [3,5]. Среди врожденных тромбофилий мутации генов фактора V (фактор V Лейден) и протромбина (протромбин G20210A) большинством исследователей рассматриваются как независимые факторы риска повторных эпизодов потери плода. Наличие множественных тромбофилических дефектов повышает риск прерывания беременности в 9–14 раз по сравнению с 4-кратным риском в присутствии одного дефекта.

Знания закономерностей формирования эмбриофетальной системы являются приоритетным направлением в современной репродуктологии. Именно в ранние сроки беременности закладываются основы плацентарной недостаточности, которая является первоисточником неблагоприятного исхода во II и III триместре беременности. В современных литературных источниках представлено недостаточное количество данных о патогенезе отслойки хориона и связанным с ней образованием ретрохориальной гематомы, как одного из осложнений раннего периода беременности. В связи с этим выявление факторов риска развития ретрохориальной гематомы является залогом адекватной, а главное, своевременной профилактики репродуктивных потерь.

**Материал и методы.** Основными источниками информации для проведения исследования явились 157 индивидуальных карт беременных, которые наблюдались в СПбГБУЗ «Женская консультация № 22». Среди них, 105 беременных имели в анамнезе СПП или факторы риска его возникновения. У 36 (34,3 %) женщин от общего числа наблюдаемых пациенток была диагностирована ретрохориальная гематома. Диагностика проводилась на основании УЗИ малого таза. Субхориальную гематому, как правило, диагностировали в 7 недель беременности (что соответствует времени регресса желтого тела). При оценке пренатальных факторов риска беременные с ретрохориальной гематомой имели высокий балл — 28,9, соответствующий высоко-

му риску. Наличие высокого пренатального риска отличало их от КГ, где средний балл составил всего 9,9, что по шкале О. Г. Фроловой соответствовало низкой степени риска.

Результаты исследования. Клиническая характеристика беременных с ретрохориальной гематомой несколько отличалась от таковой у женщин, не имеющих данного осложнения. В 47,2 % случаев среди 36 женщин с ретрохориальной гематомой данную патологию имели беременные в возрасте 30–35 лет. У беременных с РХГ в прошлом значительно чаще, в 55,6 % случаев, в основном в I триместре беременности, встречалась неразвивающаяся беременность, что достоверно чаще, чем в КГ ( $p \leq 0,001$ ). В 41,7 % случаев перед наступлением настоящей беременности имело место прерывание беременности по желанию. Обращает на себя внимание тот факт, что среди женщин с РХГ с первой беременностью наблюдались всего 6 пациенток (16,7 %), что значительно реже, чем в КГ. Эти данные позволяют предположить влияние внутриматочных вмешательств на развитие РХГ в течение последующих беременностей. Настоящая беременность у женщин с ретрохориальной гематомой протекала в 94,4 % случаев с рецидивирующей угрозой прерывания в ранние сроки гестации. Такое осложнение беременности, как преэклампсия легкой степени, развилась у половины беременных с РХГ. Синдром задержки развития плода был диагностирован у беременных данной группы в 19,4 % случаев. В процессе сбора анамнеза у беременных с РХГ была выявлена неблагоприятная наследственность по тромботическим осложнениям среди ближайших родственников. Так, среди 36 женщин с указанной патологией 27,8 % (10 беременных) имели родственников с тромбозами и инсультами различной локализации, что значительно чаще, чем в КГ, где данная патология встречалась всего в 5,8 % ( $p \leq 0,01$ ).

Несмотря на отсутствие существенных различий по отдельным показателям между группами, сравнительный анализ позволил выявить статистически значимые сочетания парных клинических признаков, которые были характерны только для беременных с гематомой. Значительно чаще у этих женщин заболевание щитовидной железы (АИТ) сочеталось с бесплодием ( $p = 0,018$ ), избыточной массой тела ( $p = 0,03$ ), хронической анемией ( $p = 0,03$ ), развитием многоводия

( $p = 0,03$ ). У беременных с РХГ к развитию СЗРП чаще приводило наличие хронической анемии и АГ соответственно,  $p = 0,03$  и  $p \leq 0,05$ . Эндометриоз органов малого таза в сочетании с выявленным ГСД встречался только у беременных с гематомой ( $p = 0,03$ ). Кроме того, в группе с РХГ поздняя угроза выкидыша чаще встречалась у беременных, имеющих неблагоприятный тромботический анамнез ( $p = 0,002$ ).

Патогенез формирования РХГ, который, по данным литературы, связан с изменениями гемодинамики в эндометрии [1], а также высокий процент беременных, имеющих в анамнезе СПП и тромботические осложнения у родственников, явились поводом для обследования пациенток с ретрохориальной гематомой на носительство полиморфизма генов, ассоциированных с наследственной тромбофилией [5,6]. Анализ данных по выявлению мутации генов, строго ассоциированных с тромбозом, показал, что гетерозиготное носительство мутации фактора V Leiden у пациенток с ретрохориальной гематомой встречалось достоверно чаще, чем в здоровой популяции (13,89 и 4,40 % соответственно;  $OR = 0,28$ ; 95 % CI 0,89–0,91;  $p < 0,05$ ). Гетерозиготное же носительство мутации 20210A гена протромбина имело лишь тенденцию к повышению у беременных женщин по сравнению с ГПП (5,56 и 2,20 % соответственно). Гомозиготное носительство полиморфизма 677 T/T в гене MTHFR выявлялось достоверно чаще, чем в популяции женщин Северо-Западного региона (27,78 и 10,10 % соответственно;  $OR = 0,29$ ; 95 % CI 0,13–0,68;  $p = 0,003$ ). Гомозиготное носительство полиморфизма C/C гена GpIIIa было обнаружено чаще у пациенток с ретрохориальной гематомой (2,78 %), тогда как в группе популяционного распределения данный полиморфизм имел место в 0,90 % случаев. Однако это не было статистически значимо.

Генетический анализ в целом по группе выявил высокую частоту мультигенных форм тромбофилии, которые были обнаружены у 77,8 % беременных. Сочетание двух различных полиморфизмов встречалось у 47,2 % беременных женщин с ретрохориальной гематомой. Чаще всего это были различные комбинации полиморфизма гена ингибитора активатора плазминогена (PAI-I): PAI-I и MTHFR — 13,9 %; PAI-I и фибриноген — 8,3 %; PAI-I и GpIIIa — 8,3 %; фактор V Leiden



и PAI-I — 5,6 %. Сочетание полиморфизма генов MTHFR и фибриногена установлено в 8,3 % случаев. Сочетание трех генотипов встречалось у 25,0 % беременных с ретрохориальной гематомой в следующих комбинациях: PAI-I, MTHFR, фибриноген — 8,3 %; GrIIIa, MTHFR, фибриноген — 2,8 %; Фактор V Leiden, PAI-I, фибриноген — 2,8 %; Фактор V Leiden, PAI-I, MTHFR — 2,8 %; 20210A ген протромбина, GrIIIa, MTHFR — 2,8 % случаев. У 2 беременных выявлено сочетание 4 различных полиморфизмов.

В данной работе был проведен сравнительный анализ зависимости развития клинического состояния от наличия у беременных носительства определенного полиморфизма генов. Обращало на себя внимание, что образование ретрохориальной гематомы у женщин при первой беременности имело зависимость от наличия у них гетерозиготного носительства мутации фактора V Leiden ( $p = 0,024$ ). Кроме того, сочетание ретрохориальной гематомы и носительства мутации фактора FV Leiden достоверно чаще приводило к развитию ХМПН ( $p = 0,02$ ). Подобная зависимость не выявлялась у пациенток без образования ретрохориальной гематомы. Установлена связь между образованием ретрохориальной гематомы и носительством полиморфизма 677 T/T в гене MTHFR  $p = 0,02$ .

Всем беременным с РХГ была проведена оценка состояния гемостаза. В целом по группе уже в I триместре выявились изменения, свидетельствующие о наличии у них гиперкоагуляции. Статистически достоверно был снижен индекс АПТВ и повышена активность фактора Виллебранда. Выявилась также определенная тенденция и к усилению внутри сосудистой активации тромбоцитов, что выражалось в некотором увеличении суммы активных форм кровяных пластинок и числа тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты. Во II триместре изменение в сторону гиперкоагуляции сохранилось только по показателям АПТВ. При этом обращала на себя внимание более высокая активность антитромбина у женщин с гематомой по сравнению с контролем. Учитывая, что со II триместра часть женщин получала антитромботическую терапию, анализ показателей гемостаза в целом по группе можно было считать недостаточно объективным. В связи с этим, у женщин с ретрохориальной гематомой был проведен индивидуальный анализ параметров гемостаза,

который позволил установить следующее. У 20 женщин параметры гемостаза не выходили за пределы нормальных колебаний, установленных для данного срока нормально протекающей беременности. У 16 (44,4 %) беременных признаки гиперкоагуляции имели место уже в I триместре, что проявлялось достоверным снижением индекса АПТВ до 0,85 по сравнению с контрольной группой — 0,95 ( $p < 0,05$ ). Во II триместре по сравнению с КГ также отмечалось снижение индекса АПТВ до 0,86, что свидетельствовало о нарастающем коагуляционном потенциале крови. Для женщин с изначально выявленными признаками гиперкоагуляции была характерна наибольшая частота встречаемости повышенного уровня D-димера. При этом уровень D-димера в пределах от 2000 и более 3000 нг/мл достоверно чаще выявлялся во II триместре у женщин с признаками гиперкоагуляции по сравнению с беременными, не имеющими патологических сдвигов в I триместре ( $p = 0,035$ ).

Статистическими методами были выявлены корреляционные связи между изменениями показателей гемостаза и клиническими признаками. Среди беременных, у которых были выявлены те или иные признаки гиперкоагуляции (снижение АПТВ, повышение показателей протромбинового теста, повышение концентрации фибриногена), выявлена достоверная зависимость от возраста пациенток (степень тесноты связи —  $r = 0,12$ ,  $p < 0,05$ ). Среди женщин, имеющих признаки гиперкоагуляции, были беременные старшей возрастной группы с выявленным носительством мутации фактора FV Leiden ( $r = 0,124$ ,  $p < 0,05$ ), имеющие варикозное расширение вен нижних конечностей ( $r = 0,04$ ,  $p < 0,05$ ). Среди них чаще встречались женщины, имеющие в анамнезе искусственные аборты ( $r = 0,144$ ,  $p < 0,05$ ) и самопроизвольное прерывание беременности ( $r = 0,106$ ,  $p < 0,05$ ). Как правило, гиперкоагуляция коррелировала с гипертонической болезнью ( $r = 0,1$ ,  $p < 0,05$ ). Отмечена корреляционная зависимость между заболеванием почек у беременных и повышением показателей уровня D-димера во II и III триместре беременности. Сравнительный анализ позволил выявить статистически значимые сочетания парных клинических признаков, которые были характерны только для беременных с гиперкоагуляцией. Носительство мутации фактора FV Leiden

коррелировало у этих женщин с развитием ХМПН ( $p < 0,05$ ), наличие ГБ привело к развитию СЗРП ( $p < 0,05$ ), преждевременные роды чаще встречались у беременных с ВРВНК ( $p < 0,05$ ).

Перечисленные осложнения в сочетании с гиперкоагуляцией расценивались как показания к назначению гепаринотерапии.

В 29 случаях (77,8 %) произошли срочные роды, у 5 беременных (13,9 %) были преждевременные роды на сроках беременности 31–36 недель, что несколько чаще, чем в группе беременных без гематомы (8,7 %), в то время как в КГ преждевременных родов не было ( $p \leq 0,05$ ).

**Обсуждение.** Проведенный анализ показал, что развитию ретрохориальной гематомы способствуют следующие факторы риска: частота внутриматочных вмешательств, наличие эпизодов потери плода во время предшествующей беременности на ранних сроках гестации, искусственное прерывание беременности перед наступлением настоящей беременности, неблагоприятная наследственность по тромботическим осложнениям среди ближайших родственников, высокая частота мультигенных форм тромбофилии. В период беременности, осложненной РХГ, были диагностированы изменения в системе гемостаза, которые характеризовались снижением АПТВ, повышением показателей

протромбинового теста, повышением концентрации фибриногена, повышением показателей уровня D-димера. Признаки гиперкоагуляции были характерны для беременных старшей возрастной группы с выявленным носительством мутации фактора FV Leiden, имеющих варикозное расширение вен нижних конечностей, с гипертонической болезнью в анамнезе или манифестированной в период беременности, при обострении хронической почечной патологии. Перечисленные осложнения в сочетании с гиперкоагуляцией расценивались как показания к назначению гепаринотерапии.

**Заключение.** Появление ретрохориальной гематомы у женщин с признаками угрозы прерывания беременности можно рассматривать как отягчающий фактор нарушений в периоде ранней и поздней стадии имплантации, связанных с изменениями в системе гемостаза. Сочетание ретрохориальной гематомы с наследственной тромбофилией повышает риск репродуктивных потерь за счет формирования первичной плацентарной недостаточности. Выявление факторов риска развития ретрохориальной гематомы является залогом своевременной профилактики репродуктивных потерь.

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кирющенко, П. А. Значение патологии матки и особенности предгестационной подготовки женщин с синдромом привычной потери беременности ранних сроков / П. А. Кирющенко, Д. М. Белоусов и др. // Акуш. и гин. — 2009. — № 5. — С. 15–19.
2. Кирющенко, П. А. Клинико-лабораторная и ультразвуковая оценка, тактика ведения беременности при различных формах патологии хориона / П. А. Кирющенко, Д. М. Белоусов, О. С. Александрина и др. // Акуш. и гин. — 2010. — № 1. — С. 19–23.
3. Макацария, А. Д. Профилактика повторных осложнений беременности в условиях тромбофилии / А. Д. Макацария, В. О. Бицадзе. — М.: Триада — X, 2008. — 152 с.
4. Макацария, А. Д. Синдром системного воспалительного ответа в акушерстве / А. Д. Макацария, В. О. Бицадзе, С. В. Акиншина. — М.: ООМИА, 2008. — 448 с.
5. Мондоева, С. С. Тромбофилия и потери беременности / С. С. Мондоева, Н. М. Суханова, С. А. Подзолкова и др. // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2009. — № 3(39). — С. 21–27.
6. Николаева, А. Е. Наследственная тромбофилия (фактор V Лейден) и привычное невынашивание беременности (случай из практики) / А. Е. Николаева, Ф. Р. Кутуева, Л. П. Папаян и др. // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2010. — № 2(42). — С. 72–76.
7. Папаян, Л. П. Современное представление о механизме регуляции свертывания крови / Л. П. Папаян // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2003. — № 2 (14). — с. 7–11.
8. Радзинский, В. Е. Ранние сроки беременности / В. Е. Радзинский, А. А. Оразмурадова. — М.: StatusPraesens, 2009. — 480 с.

## **ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ**

---

9. Biesiada, L. Subchorionic hematoma as a risk factor of pregnancy and delivery in women with threatening abortion / L. Biesiada, M. Krekora, G. Krasomski // *Ginekol Pol.*— 2010.— Vol. 81, N. 12.— P. 902-906.
10. Nagy, S. Clinical signify — cance of subchorionic and retroplacental haematomas delected in the first trimester of pregnancy / S. Nagy, M. C. Bush, R. Berkowitz et al. // *Obstet. Gynecol.*— 2003.— Vol. 102(1).— P. 94-100.

Шилова Е. Р.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

## КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПНГ-КЛОНА. ПРИНЦИПЫ ВЕДЕНИЯ БОЛЬНЫХ

Термином ПНГ-клон называют клоны клеток со своеобразным нарушением структуры мембраны — сниженной экспрессией или отсутствием на поверхности клеток белковых структур — так называемых якорных протеинов, обеспечивающих защиту собственных клеток от деструктивного воздействия активированного комплемента. Наличие подобного клона лежит в основе развития такого редкого заболевания, как пароксизмальная ночная гемоглинурия (ПНГ), в связи с чем аномальный клон с дефектом якорных протеинов получил своё название. Причиной появления патологических клонов являются соматические мутации PIGA-гена, кодирующего синтез GPI (гликозил-фосфатидил-инозитольных) якорных протеинов в гемопоэтических стволовых клетках (ГСК). В результате появляется аномальная популяция эритроцитов, характеризующихся повышенной чувствительностью клеточной оболочки к комплексу за счёт нарушения присоединения «защитных» белков с GPI-якорями к поверхности клетки. Наиболее значимыми якорными белками являются CD59 (Protectin; MAC-inhibitor), который формирует защитный барьер эритроцитов от лизиса при активации системы комплемента и предотвращает образование мембраноатакующего комплекса (МАК) и CD55 (DAF — decay-accelerating factor), предотвращающий формирование конвертаз C3, что ослабляет каскад реакций комплемента.

Поскольку в основе формирования ПНГ-клона лежат изменения на уровне ГСК, нарушенная экспрессия якорных протеинов может быть обнаружена на различных клеточных линиях. Внедрение в практику метода проточной цитометрии с использованием скрининговой панели с маркерами CD55 и CD59 (для ретикулоцитов и эритроцитов), CD24/FLAER (для гранулоцитов), CD14/FLAER (для моноцитов) позволяет определять популяцию клеток крови с дефицитом GPI-якорных протеинов (ПНГ-клон) с точностью до 0.01 %. В настоящее время сертифицированные лаборатории, проводящие

исследования на наличие ПНГ-клона в целях первичной диагностики и последующего мониторинга, работают в соответствии с международным протоколом ICCS. Протоколом предусмотрена определённая методика проведения исследования, рекомендуемая панель реактивов, форма представления результатов анализа. В получаемом из лаборатории результате указывается наличие клеток ПНГ-клона в процентном отношении ко всем исследованным клеткам данной клеточной линии, а применительно к эритроцитам отмечается процент эритроидных клеток с частичной (тип II) и полной (тип III) утратой GPI-якорных протеинов. Размер ПНГ-клона оценивается по лейкоцитарным показателям (обычно — размеру клона по гранулоцитам), поскольку размеры клона среди эритроцитов весьма вариабельны у одного и того же больного. Это обусловлено потерей части клеток клона за счёт гемолиза, а у трансфузионно-зависимых больных — наличием в циркуляции донорских эритроцитов.

Размер клона менее 1 % обычно клинического значения не имеет и существенными отклонениями в клинико-лабораторных показателях не сопровождается, а проявления заболевания, связанные с наличием ПНГ-клона, начинают выявляться, как правило, при его размерах свыше 10 % общего количества клеток крови. Проведенные исследования показали, что клинико-лабораторные признаки хронического интраваскулярного гемолиза имеются, как правило, при патологическом клоне более 20–25 %. Клинически манифестный гемолиз с изменением цвета кожи и мочи, билирубинемией различной степени выраженности, постоянным превышением нормального уровня ЛДГ сыворотки крови в 3-4-5 раз и более, закономерно сопровождается ПНГ с клоном 70–80 % и выше. При промежуточных размерах клона чаще наблюдается транзиторное повышение ЛДГ в 1,5–2 раза от нормальных значений.

Пароксизмальная ночная гемоглинурия как отдельная нозологическая форма — редкое (точнее — ультраредкое) заболевание,

в основе патогенеза которого лежит появление ПНГ-клона. У страдающих ПНГ данный дефект является самостоятельной патологией и размер клона колеблется в широких пределах. Кроме того, возможны различные варианты соотношения в пределах клона клеток с полным и частичным дефектом экспрессии якорных протеинов на наружной мембране клеток. Хроническая активация альтернативного пути при дефиците GPI-якорных протеинов приводит к развитию ПНГ с такими характерными проявлениями, как гемолитическая анемия с типичным внутрисосудистым гемолизом и тромбозы. Причём тромботические осложнения наблюдаются у 29–44 % больных и 40–67 % случаев летального исхода при тяжёлом течении ПНГ обусловлены именно тромботическими событиями. Исследованиями последних лет показано, что ПНГ является одним из наиболее опасных протромботических состояний, а тромбозы при ПНГ обусловлены сложным патофизиологическим механизмом (с сочетанием повышенной активации тромбоцитов и эндотелия, нарушением фибринолиза, вазоконстрикцией и др.) и характеризуются целым рядом особенностей. Возможны как венозные, так и артериальные тромбозы различной локализации. Причём тромботические события могут иметь место при небольшом размере ПНГ клона и минимальном гемолизе, и обычная антикоагулянтная терапия не контролирует тромбозы при ПНГ, что было показано в ряде исследований. Следует отметить, что ПНГ (код по МКБ10 D59.5) внесена в «Перечень жизнеугрожающих и хронически прогрессирующих редких (орфанных) заболеваний, приводящих к сокращению продолжительности жизни граждан или их инвалидности». Соответственно, при выявлении больных с ПНГ, они включаются по общим правилам в региональный сегмент Федерального регистра лиц, страдающих жизнеугрожающими и хроническими прогрессирующими орфанными заболеваниями.

Наряду с самостоятельным заболеванием, ПНГ-клон различной величины встречается также у определённой части больных апластической анемией (АА) (до 70 % больных) и миелодиспластическим синдромом (МДС) (10–25 % по данным различных авторов), реже при других онкогематологических заболеваниях. В связи с этим, согласно рекомендациям международных руководств и от-

ечественных клинических рекомендаций, классификация ПНГ предусматривает следующие варианты:

- классическая форма, характеризующаяся клинико-лабораторными признаками внутрисосудистого гемолиза без признаков других заболеваний, связанных с недостаточностью костного мозга;
- ПНГ, диагностируемая у пациентов с АА (АА/ПНГ), МДС (МДС/ПНГ) и крайне редко — миелофиброзом (идиопатический миелофиброз/ПНГ), когда при этих заболеваниях имеются клинические и/или лабораторные признаки внутрисосудистого гемолиза, а в периферической крови определяется клон клеток с ПНГ-фенотипом;
- субклиническая форма заболевания (АА/сПНГ, МДС/сПНГ, идиопатический миелофиброз/сПНГ), диагностируемая у пациентов без клинических и лабораторных признаков гемолиза, но при наличии минорного клона клеток с ПНГ-фенотипом (как правило < 1 %). Следует отметить, что субклиническое течение ПНГ может отмечаться и при большем размере клона.

Значение выявления ПНГ-клона обусловлено тем, что при различных вариантах заболевания клон длительно существует латентно и клинически проявляется при развитии тяжёлых осложнений (тромбозы, почечная недостаточность) или заболевание протекает под маской других патологий, а клоны небольших размеров могут прогрессировать, и у части больных с сочетанной патологией наблюдается трансформация в классическую ПНГ.

Кого же обследовать на наличие изменённых клеток? Имеется перечень патологических состояний, основанный на частоте выявления ПНГ-клона у различных групп больных. В этом перечне фигурируют такие заболевания и патологические состояния, как цитопения неясного генеза, анемии с внутрисосудистым гемолизом, тромбозы необычной локализации. Соответственно, показаниями для скрининга на ПНГ являются:

- Внутрисосудистый гемолиз по данным гемоглобинурии или повышению уровня гемоглобина в плазме.
- Необъяснимый гемолиз в комбинации с одним из следующих признаков: дефицит железа, боли в животе, тромбоз, гранулоцитопения и/или тромбоцитопения.

- Пробретенная Кумбс-негативная гемолитическая анемия (без шизоцитов в анализе крови, не связанная с инфекциями).
- Тромбоз с необычными проявлениями, такими как необычная локализация (печеночные и другие внутрибрюшные вены, церебральные синусы, кожные вены), признаками сопутствующей гемолитической анемии, необъяснимыми цитопениями.
  - Признаки недостаточности костного мозга, в том числе при АА, индолентных формах МДС.

При выявлении той или иной формы заболевания с наличием ПНГ-клона тактика ведения пациента зависит как от конкретной нозологической формы, так и от размера и клинической значимости ПНГ-клона. В первую очередь, как при классической ПНГ, так и при сочетанных патологиях, необходимо определить признаки внутрисосудистого гемолиза и оценить степень активности имеющегося гемолиза. Определению показателей, отражающих степень выраженности патологических процессов при ПНГ и риска развития тяжёлых осложнений, включая тромботические осложнения, почечную патологию, повышение лёгочного давления, посвящён целый ряд исследований. Установлено, что уровень гемоглобина, несмотря на закономерное повышенное разрушение эритроцитов с дефектом экспрессии якорных протеинов, служить индикатором активности процесса не может, поскольку при ПНГ отсутствие анемии не говорит об отсутствии клинически значимого гемолиза и не снижает риска развития тромботических событий. Показатели коагулограммы также не отражают глубину изменений в системе свёртывания крови и риск развития тромбозов в данной группе больных. Наиболее информативным показателем — биомаркером гемолиза — оказался уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке крови, поскольку ЛДГ напрямую коррелирует с уровнем свободного гемоглобина, а повышение ЛДГ  $\geq 1.5$  раза выше верхней границы нормы (ВГН) при постановке диагноза почти в 5 раз увеличивает риск смертности у больных ПНГ. Кроме того, было показано, что пороговое значение ЛДГ  $> 1,5$  ВГН — наиболее чувствительный предиктор тромбозов. Пациенты с критическим превышением уровня этого показателя требуют тщательного наблюдения и активной терапии.

Поскольку ПНГ является хроническим, лишающим трудоспособности и опасным для жизни заболеванием, то определение ПНГ-клона, контроль его размера и показателей, характеризующих активность патологического процесса в динамике важны не только с точки зрения диагностики и прогнозирования, но и для определения тактики терапии. Традиционные средства поддерживающей терапии, включая гемоконцентраты, методы экстракорпоральной гемокоррекции, антикоагулянты, как показали многочисленные исследования, существенно не влияют на течение заболевания и не предотвращают тяжёлые жизнеугрожающие осложнения. Проведение трансплантации костного мозга (ТКМ) сопряжено при наличии хронического внутрисосудистого гемолиза с высоким риском осложнений, в связи с чем в лечении ПНГ трансплантация, как самостоятельный метод, не рекомендуется. В то же время, имеются возможности применения таргетной терапии, кардинально меняющей течение и прогноз ПНГ. Назначение такой терапии лимитировано высокой его стоимостью и является, в принципе, пожизненным. В связи с этим особенно важно оценить риски у каждого больного ПНГ и определить показания к назначению пока единственного таргетного препарата — Экулизумаба. Экулизумаб (Солирис) представляет собой моноклональное антитело, блокирующее образование терминального комплекса активации комплемента на этапе активации C5 — компонента и формирования мембраноатакующего комплекса (МАК — C5b-9). Препарат не излечивает заболевание и не уменьшает размер ПНГ-клона, но является единственным эффективным средством патогенетической терапии.

Согласно данным клинических исследований (TRIUMPH, SHEPHERD) Экулизумаб позволяет существенно уменьшить интенсивность гемолиза у больных ПНГ, стабилизировать уровень гемоглобина, снизить потребность в гемотрансфузиях и повысить качество жизни страдающим данным заболеванием. В соответствии с «Национальными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии», Экулизумаб рекомендован для включения в программу лечения пациентов с ПНГ при наличии тромботических осложнений, хроническом гемолизе, сопровождающемся нарушением функции орга-

нов и систем, трансфузионной зависимости вследствие хронического гемолиза и при беременности у пациенток с ПНГ. Беременность является самостоятельным показанием к таргетной терапии, поскольку она сама и послеродовой период, как правило, ассоциированы с более тяжелым течением ПНГ и крайне высоким риском развития жизнеугрожающих осложнений и материнской смертности. Также ПНГ увеличивает вероятность осложнений со стороны плода. Частота случаев гибели плода у женщин с ПНГ составляет от 4 % до 9 %. Процесс планирования беременности и оказания акушерско-гинекологической помощи беременным пациенткам с ПНГ необходимо проводить в рамках мультидисциплинарного подхода с участием акушеров-гинекологов, гематологов и анестезиологов-реаниматологов.

Экулизумаб, как правило, хорошо переносится пациентами. При первых введениях иногда наблюдается преходящая головная боль, реже могут наблюдаться другие побочные действия. Схемы назначения препарата стандартны и включают 4-х недельный этап насыщения с переходом на поддерживающую терапию. У отдельных больных в зависимости от индивидуальных особенностей фармакокинетики или в ситуациях, связанных с активацией системы комплемента (в частности, оперативные вмешательства), схема введения может меняться с увеличением доз или укорочением интервалов между введениями. Механизм действия препарата Экулизумаб может приводить к повышению риска развития менингококковой инфекции (*Neisseria meningitidis*), в связи с чем до начала терапии проводится вакцинация, а во время лечения Экулизумабом необходимо контролировать появление симптомов инфекции со своевременным назначением антибиотикотерапии при необходимости.

При АА/ПНГ, если клон небольшого размера и клинико-лабораторные признаки гемолиза отсутствуют или выражены слабо, то кроме динамического наблюдения за больным с контролем ПНГ-клона 1 раз в 6–12 месяцев, дополнительных мер не требуется. Известно, что согласно мнению большинства исследователей, наличие ПНГ-клона у больных АА является предиктором положительного ответа на иммуносупрессивную терапию. Динамическое наблюдение необходимо в связи с вероятностью нара-

стания клона, особенно на этапе восстановления гемопоэза.

При сочетании АА и гемолитической ПНГ тактика лечения может быть комбинированной и направленной как на лечение аплазии с использованием стандартных методов, так и на коррекцию патологических проявлений, обусловленных ПНГ, включая использование таргетной терапии в отдельных случаях тяжёлого клинически значимого гемолиза. В последние годы появляются публикации, сообщающие об успешном и безопасном применении сочетанной иммуносупрессивной терапии больных АА/ПНГ антитимоцитарным глобулином, циклоспорином и Экулизумабом.

Показания к проведению ТКМ при сочетанных вариантах заболевания определяются тяжестью АА, т.е. общепринятыми стандартными показаниями к трансплантации при тяжёлой АА. Гемолитическая форма ПНГ, как таковая, трансплантации не подлежит в связи с высоким риском осложнений, включая неприживание трансплантата, тромботические осложнения и высокую смертность. Однако в настоящее время успешное проведение ТКМ для больных с подобными вариантами стало возможным при включении в программу терапии таргетных препаратов, позволяющих контролировать внутрисосудистый гемолиз.

Таким образом, подходы к ведению больных с наличием ПНГ-клона зависят от нозологической формы, размера клона, наличия и степени активности внутрисосудистого гемолиза, наличия и/или повышенного риска осложнений, связанных с гемолизом.

Согласно современным рекомендациям необходимо:

- Выявлять ПНГ-клоны, проводя соответствующие исследования в группах риска.
- Мониторировать размер клона ПНГ, а также клинические и лабораторные признаки внутрисосудистого гемолиза у всех больных при наличии клеток с дефицитом GPI-связанных белков.
- Своевременно оценивать риск тяжёлых и жизнеугрожающих осложнений и определять группу больных, которым показана таргетная терапия.
- Таргетная терапия ПНГ, как наиболее эффективный метод контроля заболевания, должна быть частью согласованной стратегии и тактики ведения пациентов с ПНГ высокого риска.

Для обеспечения единого подхода к ведению пациентов данной категории, основанного на современных представлениях о патогенезе заболевания, диагностике и возможностях терапии, целесообразно руководствоваться регулярно обновляемыми клиническими рекомендациями, публикуемыми в медицинских журналах, а также данными, имеющимися на специализированных медицинских сайтах.

#### **ЛИТЕРАТУРА И РЕКОМЕНДУЕМЫЕ ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ:**

1. Кулагин А. Д., Лисуков И. А., Птушкин В. В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии. Клиническая фармакология и терапия//2015. № 1. С. 18–26.
2. Наумова Е. В., Почтарь М. Е., Кисличина Д. Г., Плеханова О. Г. и др. Стандартизация диагностики пароксизмальной ночной гемоглобинурии с помощью проточной цитометрии// Клиническая лабораторная диагностика. 2014. № 7. С. 54–58.
3. Новичкова Г. А., Петрова У. Н., Калинина И. И., Масчан А. А. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия у детей (обзор литературы)// Гематология. 2016. № 5. С15–20.
4. Кулагин А. Д., Климова О. У., Добронравов А. В. и др. Клиническая манифестация и ошибки диагностики классической пароксизмальной ночной гемоглобинурии// Клиническая онкогематология. 2017. № 3. С. 333–341.
5. Приказ МЗ РФ № 950н от 19 ноября 2012 г. «О формах документов для ведения регионального сегмента Федерального регистра лиц, страдающих жизнеугрожающими и хроническими прогрессирующими редкими (орфанными) заболеваниями, приводящими к сокращению продолжительности жизни граждан или их инвалидности, и порядке их представления».
6. <http://medinnova.org/special/> (материалы симпозиумов, информационно-образовательные брошюры для врачей-гематологов и пациентов, материалы экспертных советов)
7. <http://oncohematology.abvpress.ru/ongm/article/viewFile/54/68> (материалы по лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии)



Андожская Ю. С.<sup>1</sup>, Новикова А. С.<sup>1</sup>, Перова М. В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России,

<sup>2</sup> ГБУЗ Поликлиника № 39, Санкт-Петербург

## ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПАРАМЕТРОВ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ УРОВНЯ ГИПОКОАГУЛЯЦИИ В ЛЕЧЕНИИ ТРОМБОЗОВ ГЛУБОКИХ ВЕН

**Введение.** Венозные тромбозы (ВТЭО), к которым относят тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбозомболию легочной артерии (ТЭЛА), признаны одной из основных причин смертности, уступая по частоте фатальных случаев только инфаркту миокарда и инсульту. Очевидно, что приоритетными клиническими задачами в ведении таких пациентов является правильное и своевременное назначение антикоагулянтной (АК) терапии. Ведущее место в современной диагностике ТГВ принадлежит скрининговому ультразвуковому дуплексному сканированию с цветным ангиокартированием, позволяющему получить достоверную информацию о структурных и функциональных изменениях венозного русла. Однако до настоящего времени в периодической литературе нет информации о возможностях исследования микроциркуляции (МЦ) при ТГВ на высоте лечения АК, что с нашей точки зрения могло бы внести дополнительную ясность в определение тактики лечения. Вопрос о методике и схемах лечения больных с ТГВ нижних конечностей стоит сегодня особо остро. Это связано с частым развитием заболевания в активном работоспособном возрасте. Особое беспокойство вызывает инвалидизация большей части больных ТГВ. Очень важно своевременно определиться с выбором дозировки и АК, надежно обеспечивающими достаточный уровень гипокоагуляции. Несмотря на широкое внедрение в клиническую практику оральных АК, выбор клиницистов не всегда связан с их приоритетным назначением, в связи, как с экономическими соображениями, так и сдержанностью в назначении АК в связи с риском развития кровотечений у особых групп больных, особенно больных со сниженным клиренсом креатинина.

**Цель.** Оценить уровень гипокоагуляции в процессе лечения больных ТГВ с нормальным и сниженным клиренсом креатинина (ниже 50 мл/мин) на основании параметров МЦ и сопоставить их с данными лабораторного обследования (АЧТВ) и цветного дуплекс-

ного сканирования (ЦДС). Выявить преимущества такой оценки для выбора последующей тактики лечения.

**Материалы и методы.** В амбулаторных условиях было обследовано 98 пациента с ТГВ нижних конечностей, подтвержденным ЦДС, из них 35 мужчин и 63 женщины в возрасте от 31 до 89 лет. Средний возраст 65 лет. У всех пациентов тромб был плотно фиксирован к стенке, не имел признаков флотации. При первичном обращении производили ЦДС с определением уровня окклюзии. Проверяли клинические симптомы характерные для ТГВ, измеряли показатели МЦ с помощью ультразвукового высокочастотного доплерографа «Минимакс-доплер К» и непрерывного ультразвукового датчика 15 МГц. Локацию производили у ногтевого ложа I пальца верхней конечности. Качественный анализ доплерограмм производили по форме и спектру кривых. Контрольное обследование выполняли после назначения АК терапии через 4 и 8 недель от начала лечения. I группе – 69 больным был назначен ривароксабан в дозе 15 мг 2 раза в день на 3 недели и затем 20 мг 1 раз в день на 3 месяца, а II группе — 29 больным со сниженным клиренсом креатинина был назначен ривароксабан в дозировке 20 мг на 3 недели с последующим переходом на 15 мг 1 раз в сутки на 3 месяца. Полученные данные сопоставлялись с результатами ЦДС вен нижних конечностей и лабораторными данными в динамике.

**Результаты.** В I группе, при контрольном исследовании через 4 недели лечения по данным ЦДС, выявлена реканализация венозного просвета в среднем на 64 %, а во II группе только на 50 %. Через 8 недель от начала лечения, в I группе — на 78 %, а во II на 56 %. Выявлена тенденция к прямой корреляции параметров МЦ с данными ЦДС и сопоставимость результатов с уровнем АЧТВ. Меньший % реканализации венозного просвета у больных II группы, согласно данным исследования, обусловлен недостаточным уровнем гипокоагуляции при сниженной дозировке

ривароксабана, что особенно сказывалось на результатах, контролируемых через 2 месяца лечения.

**Вывод.** Параметры МЦ хорошо коррелируют с данными ЦДС и лабораторными дан-

ными. Контроль состояния МЦ у больных амбулаторного звена позволяет вовремя заподозрить недостаточный уровень гипокоагуляции, что может быть полезным для дальнейшей тактики ведения этих больных.

*Белова Н. И.<sup>1</sup>, Воробьева Н. А.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup> Северный филиал ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,

<sup>2</sup> ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет Минздрава России», Архангельск

### МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ ОБМЕНА ГОМОЦИСТЕИНА У НЕНЦЕВ НЕНЕЦКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА

**Введение.** Ненцы — коренное население арктического региона Российской Федерации. Их образ жизни и генетические особенности адаптации к суровым условиям жизни Крайнего Севера формировались несколько столетий. Скучный традиционный рацион питания и географические детерминанты определяли направление естественного отбора в сторону, где в условиях дефицита незаменимых макро- и микроэлементов, их усвоение было бы максимально эффективным. К таким незаменимым нутриентам относятся фолаты — витамин В9, дефицит которого приводит к дисбалансу фолатного и метионинового цикла и накоплению гомоцистеина. Последний, накапливаясь в крови, является фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Эффективность работы фолатного обмена зависит не только от количества поступающих с пищей фолатов, но и эффективной работы ферментов фолатного цикла — метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR), метионинсинтазы (MTR) и редуктазы метионинсинтазы (MTRR). Нарушение работы данных ферментов чаще всего связано с полиморфизмом генов, их кодирующих. Таким образом, целью исследования явилось изучение особенностей полиморфизма генов ферментов фолатного обмена.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлась популяция ненцев — коренного населения Ненецкого автономного округа, проживающая в поселках Нельмин Нос, Тельвиска, Лабожское, Великовисочное, Искателей, Усть-Кара, ведущая оседлый или полукочевой образ жизни (n = 196). Анкетирование участников основной группы исследования и забор крови для исследования

проводился во время плановых медицинских осмотров, проводимых МУЗ «Центральная районная поликлиника Заполярного района НАО и экспедиций «Красный чум» в период 2011–2012 гг. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом СГМУ (протокол № 6 от 8.06.2011 г.). Критериями включения в основную группу (ненцы) являлись: этническая принадлежность до 4-й степени родства к коренному населению (ненцы) НАО; постоянное проживание на территории НАО; наличие добровольного информированного согласия на участие в исследовании. Лабораторные исследования проведены на базе центральной научной исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО Северного государственного медицинского университета. Определение полиморфизма генов MTHFR C677T и A1298C, MTR A2756G, MTRR A66G проводили в ходе молекулярно-генетического анализа методом полимеразной цепной реакции с использованием аллель-специфичных праймеров с детекцией методом электрофореза в агарозном геле.

**Результаты исследования.** В нашем исследовании была проанализирована распространенность полиморфизма генов основных ферментов фолатного цикла в выборке коренного этноса (n = 196): метилентетрагидрофолат редуктазы MTHFR (C677T, A1298C), метионинсинтазы MTR (A2756G) и редуктазы метионинсинтазы MTRR (A66G). Результаты исследования показали, что в данной выборке ненцев наиболее распространен был так называемый «дикий тип» полиморфизма во всех проанализированных аллельных вариантах генов, за исключением гена редуктазы метионинсинтазы MTRR, где гетерози-

готный вариант А66G встречается чаще (29 [23,0; 36,1]).

**Выводы.** Выявлены особенности распространённости полиморфизма генов ферментов фолатного цикла в популяции коренного этноса. Небольшая встречаемость наиболее значимого в развитии гипергомоцистеинемии полиморфизма гена MTHFR T677T в изучаемой выборке ненцев по сравнению с европейской популяцией, возможно, обусловлена

процессами эволюции данных представителей коренного населения Крайнего Севера. По нашему мнению, значимое давление естественного отбора против носителей генотипов T677T в популяции ненцев может быть обусловлено историческим недостатком фолатов в рационе питания и употреблением большого количества продуктов животного происхождения — основного источника го-моцистеина.

**Белова Н. И.<sup>1</sup>, Воробьева Н. А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Северный филиал ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,

<sup>2</sup> ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет Минздрава России», Архангельск

### **ФОЛАТНЫЙ СТАТУС КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ НЕНЕЦКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА**

**Введение.** Фолаты незаменимы для осуществления основных обменных процессов и поддержания гомеостаза. Как известно, фолаты содержатся в пивных дрожжах, зелени, свежей печени и яйцах. При дисбалансе фолатного обмена нарушается процесс реметилирования гоцистеина с накоплением его в организме. При увеличении уровня гоцистеина в крови повышается риск тромбофилических осложнений. Витамин B9 относится к незаменимым микронутриентам и должен поступать в организм с пищей. Во многих странах на сегодняшний день внедрены программы по фортификации продуктов питания с целью профилактики дефицита фолатов, однако в России такая практика отсутствует. В районах Арктики Российской Федерации источников данного витамина крайне мало в силу социальных и географических условий, поэтому исследования по изучению фолатного обмена для данного региона очень актуальны, особенно для коренного населения — ненцев.

Цель нашего исследования — анализ содержания витаминов фолатного цикла — B9 и B12 в популяции ненцев Ненецкого автономного округа РФ.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлась популяция ненцев — коренного населения Ненецкого автономного округа (n = 87). Сбор эпидемиологических и биологических данных был выполнен по правилам международного стандарта этических норм и качества научных исследований — GCP с по-

лучением информированного согласия участников на исследования. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом СГМУ (протокол № 6 от 8.06.2011 г.). Определение уровня фолиевой кислоты (n = 81) и витамина B12 (n = 87) в сыворотке крови проводилось на базе «Первой городской клинической больницы им. Е. Е. Волосевич» г. Архангельска с помощью иммунологической системы Roche Diagnostics Cobas-e411 с использованием технологии электрохемилюминисценции.

**Результаты.** Концентрация фолатов в крови ненцев (n = 81) составила  $M = 4,43 \pm 1,7$  нг/мл при референсных значениях от 4,6 нг/мл до 18,7 нг/мл. Для женщин (n = 70) показатель концентрации фолатов составил  $Me = 4,27 [3,06; 5,15]$  нг/мл, для мужчин (n = 11) —  $Me = 5,3 [3,86; 6,34]$  нг/мл. В исследуемой выборке коренного этноса НАО 52,68 % (ДИ95 % [37,04;60,43]) (n = 37) женщин 5,5 % (ДИ95 % [19,22;74,86]) (n = 5) мужчин имели дефицит фолатов. Содержание витамина B12 в крови ненцев (n = 87) составило  $Me = 584,3 [353,6; 757,6]$  пг/мл, что укладывалось в физиологические значения. У мужчин-ненцев (n = 12) концентрация витамина B12 составила  $Me = 565,65 [343,68; 697,82]$  пг/мл, у женщин (n = 75) —  $Me = 580,4 [351,6; 721,1]$  пг/мл. Дефицит витамина B12 был отмечен у только трех женщин и одного мужчины.

**Выводы.** По результатам исследования был выявлен дефицит фолатов в выборке коренного этноса Крайнего Севера, что яв-

ляется фактором риска развития гипергомоцистеинемии и протромботических осложнений. В связи с этим, для данного региона

актуальна разработка программы фортификации профилактики дефицита фолатов.

Волыхина Д. С.<sup>1</sup>, Марусий А. А.<sup>1</sup>, Воробьева Н. А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ ВО Северный государственный медицинский университет Минздрава России,

<sup>2</sup> ФГБУ Северный филиал «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Архангельск

## НАСЛЕДСТВЕННАЯ ТРОМБОФИЛИЯ И ТРОМБОТИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ

**Введение.** За последнее время значительно изменились представления об основных причинах развития тромбозов. Изучение молекулярных механизмов тромбообразования и противосвертывающей системы позволяет с уверенностью говорить о том, что существуют как наследуемые, так и приобретенные в процессе жизни дефекты белков, и обуславливающие предрасположенность человека к тромбообразованию, т.е. определяют наличие у него истинной тромбофилии. В отличие от первых двух причин, выдвигавшихся Р.Вирховом (патология сосудистой стенки и нарушение кровотока), эти дефекты являются генетически детерминированными. З.С. Баркаган определял термин тромбофилия как нарушение системы гемостаза и гемореологии, которые характеризуются повышенной склонностью к развитию тромбозов кровеносных сосудов и ишемией органов, в основе которых лежат нарушения в различных звеньях системы гемостаза и гемореологии. Наиболее часто в европейской и американской популяциях выявляются две точечные генетические мутации, приводящие к повышенному тромбообразованию: мутация V фактора свертывания крови и мутация G20210A гена протромбина. Гетерозиготную мутацию (G1691A) в гене фактора V, получившую название лейденской, обнаруживают у 20 % пациентов США и Западной Европы. При данной мутации происходит замена аргинина на глицин в полипептидной цепи нуклеотида фактора V, в связи с чем появляется устойчивость фактора к расщеплению активированным протеином C, с повышением уровня активированного фактора V в плазме и усилением образования тромбина. Мутация (G20210A) в гене протромбина, обнаруживаемая в гетерозиготном состоянии у 6 % пациентов с тромбозами, локализована в 3-конце-

вой некодирующей части гена и не изменяет полипептидной цепи протромбина, но, по-видимому, повышает стабильность его мРНК и, соответственно, уровень белка в плазме. Тем не менее, представленные в современной литературе данные о частоте встречаемости отдельных аллелей, сопряженных с повышенным риском тромбообразования, весьма противоречивы. Кроме того, отсутствует однозначная информация о носительстве отдельных видов тромбофилии и их сочетаний у больных разного пола и возраста.

**Цель.** Анализ влияния наследуемых нарушений системы гемостаза у лиц — носителей мутаций в генах факторов V и II на проявление тромботических осложнений.

**Материалы и методы.** Ретроспективный анализ базы данных 52 пациентов, наблюдающихся в центре гемостаза и атеротромбоза г. Архангельска с тромбоэмболическими осложнениями на фоне наследственно — детерминированной тромбофилии. Критерии включения — наличие мутации (G1691A) в гене фактора V (Leiden), мутации (G20210A) в гене протромбина. В соответствии с рекомендациями ВОЗ, пациенты ранжированы на группы: до 44 лет (n = 46), от 45 до 59 лет (n = 5), старше 60 лет (n = 1). 43 пациента имели «личный» тромботический анамнез, по поводу которого они получали продленную анти тромботическую терапию. Терапия варфарином в среднем проводилась Me = 2 [0,8–2,2] года с момента наблюдения (36,54 % обследуемых), ксарелто в течение Me = 9 [3,1–9,2] месяцев (3,85 % обследуемых), эликвис — Me = 6 [2,3–6,1] месяцев (3,85 % обследуемых).

**Результаты исследования.** Анализ разных возрастных групп показал, что наиболее часто тромботические события, связанные с носительством мутаций II и V факторов, проявлялись у лиц молодого возраста (88,46 %).

При анализе тромботических событий выявлено, что у женщин чаще наблюдался тромбоз глубоких вен ( $n = 18$ ) и синдром потери плода ( $n = 14$  женщин), у мужчин — тромбоз глубоких вен ( $n = 7$ ) и острое нарушение мозгового кровообращения ( $n = 4$ ). Среди обследованных одиночные мутации по V фактору выявлены у 25 пациентов (48,08%), среди них гетерозиготное носительство встречалось в 24 (96%) случаях, где наиболее частым осложнением являлся тромбоз глубоких вен (у 62,5% носителей,  $n = 15$ ) и отягощенный акушерский анамнез (20,83% носителей,  $n = 5$ ). Гомозиготное носительство мутации Лейдена — в 1 случае (4%), которое ослож-

нялось тромбозом глубоких вен. Одиночные мутации по II фактору выявлены в 43,40% случаев ( $n = 23$ ), среди них гетерозиготное носительство отмечалось у 91,30% ( $n = 21$ ), наиболее частые осложнения: тромбоз глубоких вен (33,33%,  $n = 7$ ), отягощенный акушерский анамнез (28,57%,  $n = 6$ ). Гомозиготное носительство в 13,04% случаев ( $n = 3$ ). Сочетанное носительство встречалось у 7,69% обследуемых ( $n = 4$ ) и осложнялось в 100% случаев тромбозом глубоких вен.

**Выводы.** Анализ показал существенный вклад мажорных мутаций в формирование тромботических осложнений.

**Воробьева Н. А.<sup>1,2</sup>, Воробьева А. И.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Северный филиал ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,

<sup>2</sup> ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет Минздрава России», Архангельск

## **К ВОПРОСУ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОНЦЕНТРАТА АНТИТРОМБИНА ПРИ ДВС-СИНДРОМЕ**

**Введение.** По мнению большинства авторов, наиболее важным тестом для диагностики и оценки тяжести ДВС-синдрома является мониторинг активности антитромбина (АТ) III. Важно отметить, что в 2016 г. японские авторы включили обязательную лабораторную оценку функциональной активности АТ III в обновленную шкалу диагностики ДВС-синдрома.

**Цель.** Анализ эффективности использования концентрата АТ III у пациентов с острым ДВС-синдромом на фоне низкой активности АТ III (ниже 50%) в реальной клинической практике.

**Материалы и методы.** Выполнено рандомизированное клиническое исследование сравнительной эффективности интенсивной терапии острого ДВС-синдрома с использованием концентрата АТ III и свежезамороженной плазмы. Критерии включения в исследование — DIC JAAM. В проспективное исследование включено 28 пациентов с острым ДВС-синдром и низкой активностью АТ III.

**Результаты.** Исследование показало, что у пациентов с ДВС-синдромом, имевших уровень АТ III  $52,6 \pm 9,7\%$  от нормы, введение концентрата АТ III до восстановления нор-

мального уровня ингибитора было значительно более клинически эффективным, чем лечение свежезамороженной плазмой (по показателям маркеров полиорганной недостаточности, показателям коагуляции и кислородного обмена).

Показана более высокая эффективность введения небольших доз препарата АТ III (500 Ед) несколько раз в сутки перед однократным введением всей суточной дозы (1500 Ед). При наличии ДВС-синдрома концентрат АТ III в сравнении со свежезамороженной плазмой достоверно снижал летальность на 14,6% ( $p = 0,02$ ).

Показана обратная корреляция между активностью АТ III и уровнем креатинина ( $r = -0,6$ ,  $p = 0,06$ ), количеством баллов по шкале SOFA ( $r = -0,48$ ,  $p = 0,16$ ), уровнем мочевины (моль/л) ( $r = -0,56$ ,  $p = 0,05$ ) положительная корреляция с уровнем фибрин-мономера ( $r = 0,52$ ,  $p = 0,12$ ), уровнем фибриногена ( $r = 0,56$ ,  $p = 0,058$ ).

**Выводы.** В реальной клинической практике продемонстрирована клиническая и лабораторная эффективность использования концентрата антитромбина при остром ДВС-синдроме.

Воробьева Н. А.<sup>1,2</sup>, Воробьева А. И.<sup>2</sup>, Карпунов А. А.<sup>2</sup>, Щапков А. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Северный филиал ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,

<sup>2</sup> ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет Минздрава России», Архангельск

## ЦЕНТРАЛИЗОВАННАЯ СИСТЕМА МОНИТОРИНГА АНТИТРОМБОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

**Введение.** По мнению экспертов, более 88 % пациентов с фибрилляцией имеют абсолютные показания к продленной антикоагулянтной терапии, и только 23 % пациентов получают ее в реальной клинической практике. Одним из факторов, ограничивающих долгосрочное использование антикоагулянтов (в частности антагонистов витамина К) в амбулаторной практике, является необходимость обеспечения непрерывного мониторинга безопасности и эффективности терапии антагонистами витамина К (АВК) с использованием лабораторного показателя международного нормализованного отношения (МНО). Реальная клиническая практика показывает, что только треть пациентов на фоне терапии антагонистами витамина К находятся в целевом терапевтическом диапазоне МНО.

**Цель.** Анализ работы системы централизованного мониторинга показателя МНО на фоне фармакотерапии варфарином в Архангельской области.

**Материалы и методы.** В 2015 году на территории Архангельской области был реализован пилотный проект — система централизованного мониторинга безопасности и эффективности продленной анти тромботической терапии. В 28-ти медицинских организациях области были организованы анти тромботические кабинеты, где проводится клинический и лабораторный контроль за привер-

женностью пациентов к варфаринотерапии. Все пациенты, получающие варфарин, включены в региональный регистр (n = 5407). Определение лабораторного показателя МНО выполняется на базе анти тромботических кабинетов с использованием портативных приборов CoaguChek XS Plus, подключенных к централизованному анти тромботическому центру области на базе WEB-сервера, локализованного в г. Архангельске. Все пациенты, получающие варфарин, помимо лабораторного контроля, проходят обучение, нацеленное на повышение приверженности к терапии антикоагулянтами.

**Результаты.** Результаты работы в централизованной сети анти тромботической терапии продемонстрировали повышение приверженности пациентов к данному виду терапии, так показатель TTR у данных пациентов достигал 64–66 %. Кровотечения на фоне продленной терапии АВК за 2017 год составили 1,8 % от всех наблюдающихся пациентов, тромботических осложнений не отмечено.

**Выводы.** Первый опыт централизации наблюдения и лабораторного контроля эффективности и безопасности продленной антикоагулянтной терапии антагонистами витамина К в реальной клинической практике в отдельном регионе РФ показал свою целесообразность и перспективность дальнейшего развития.

Гамыркина Д. Р.<sup>2</sup>, Воробьева Н. А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Северный филиал ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,

<sup>2</sup> ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет Минздрава России», Архангельск

## ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ НА СИСТЕМУ ФИБРИНОЛИЗА НА ФОНЕ ПРИЕМА КОМБИНИРОВАННЫХ ОРАЛЬНЫХ КОНТРАЦЕПТИВОВ

**Введение.** Фибринолиз является неотъемлемой частью системы гемостаза и всегда сопровождает процесс свертывания крови. Активация фибринолиза (укорочение време-

ни растворения сгустка) встречается редко и связана, как правило, со снижением уровня фибриногена или увеличением содержания плазминогена и его активаторов.

Комбинированные оральные контрацептивы (КОК) — одни из наиболее эффективных и часто используемых методов предохранения от нежелательной беременности. По данным одних авторов, фибринолитическая активность крови на фоне приема гормональных препаратов возрастает, что часто объясняют компенсаторным усилением активности фибринолиза на фоне развития гиперкоагуляции. По другим данным, на фоне приема КОК наоборот происходит угнетение фибринолитической системы за счет снижения синтеза тканевого активатора плазминогена эндотелиальными клетками и повышения уровня PAI-1 гепатоцитами. Также в последнее время многие исследователи уделяют большое внимание наследственным факторам, предрасполагающим к возникновению нарушений в системе гемостаза и тромботическим осложнениям на фоне приема КОК.

**Цель.** Изучить влияние генетических полиморфизмов на систему фибринолиза при использовании комбинированных оральных контрацептивов.

**Материалы и методы.** Нами проведено поперечное клинико-лабораторное исследование, в котором приняли участие 100 женщин в возрасте 29,0 (23,3–35,0) лет. В зависимости от приема КОК женщины были разделены

на две группы ( $n = 50$  в каждой группе). В ходе исследования была определена фибринолитическая активность плазмы крови методом лизиса эуглобулиновой фракции плазмы при стимуляции стрептокиназой.

Были проанализированы данные молекулярно-генетического исследования шести полиморфизмов, обуславливающих склонность к состоянию гиперкоагуляции: фактор I –455 G/A, фактор II 20210 G/A, фактор V 1691 G/A, PAI-1–675 4G/5G, гены, тромбоцитарных рецепторов — GpIIb/IIIa 1565 T/C; гены метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR) 677 C/T. Для выявления влияния генетических полиморфизмов на эуглобулиновый фибринолиз был использован метод линейной регрессии.

**Результаты.** Наличие гомозиготной формы полиморфизма фибриногена (–455 A/A) статистически значимо приводило к угнетению фибринолиза в однофакторном анализе ( $p = 0,045$ ). В многофакторном анализе уровень значимости был несколько ниже статистически значимого ( $p = 0,054$ ).

**Выводы.** На наш взгляд, повышенная экспрессия гена фибриногена у носителей аллеля –455 A/A и, как следствие, увеличение концентрации фибриногена, может являться одной из причин угнетения фибринолиза.

**Гарифуллин А. Д., Волошин С. В., Кувшинов А. Ю., Бессмельцев С. С.**

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург*

## **ТРОМБОТИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ**

**Введение.** Повышение риска развития тромботических осложнений характерно для всех пациентов с онкологическими заболеваниями вследствие субклинической гиперкоагуляции, а частота их (осложнений) развития зависит от типа опухоли, стадии опухолевого процесса и применяемого варианта лечения. Развитие венозных тромбозов и тромбоэмболии при множественной миеломе (ММ) варьирует от 3 % до 10 %, что приводит к ухудшению качества жизни и удлинению интервалов приостановки терапии и, в конечном счете, увеличению количества инвалидизации и смертности больных. Использование иммуномодуляторов, высоких доз дексаме-

тазона, эритропоетинов при ММ сопряжено с развитием тромботических и тромбоэмболических осложнений.

**Цель.** Оценить частоту развития тромботических осложнений у больных ММ при использовании иммуномодулятор-содержащих программ лечения и эритропоетинов.

**Материалы и методы.** Обследовано 52 пациента с ММ (медиана возраста 57 лет, диапазон 40–73; соотношение мужчины/женщины — 1:1,62). Терапия рецидива/прогрессирования включала использование талидомида 200 мг ( $n = 1$ ), леналидомида 25 мг ( $n = 30$ ), помалидомида 4 мг ( $n = 2$ ); леналидомида (поддерживающая терапия после

аутологичной трансплантации костного мозга) 10–15 мг ( $n = 19$ ). Все пациенты получали иммуномодуляторы в комбинации с ежедневным приемом дексаметазона в дозе 10–40 мг. В качестве профилактики тромботических осложнений у всех пациентов использовалась ацетилсалициловая кислота (кардиомагнил, аспирин-кардио, тромбо-асс) 75–100 мг, ежедневно. Уровень тромбоцитов не превышал  $400 \times 10^9/\text{л}$ . Для оценки системы гемостаза использовалась коагулограмма (фибриноген, протромбиновый индекс, МНО, АЧТВ, тромбиновое время, Д-димер). У 12 пациентов применялись эритропоэтины с целью коррекции анемии.

**Результаты.** Отклонений в коагулограмме перед началом терапии иммуномодулятор-содержащими программами у больных ММ выявлено не было. Тромботические осложнения были выявлены у 3,8% (2/52) пациентов: тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и тромбоз глубоких вен (ТГВ) голени. При сравнении групп пациентов с различными режимами терапии достоверных отличий в частоте наступления тромботических осложнений не выявлено ( $p > 0,05$ ). При ис-

пользовании «леналидомид 10–15 мг», «помалидомид 4 мг» данные осложнения не выявлены, при терапии «леналидомид 25 мг» выявлена ТЭЛА, подтвержденная данными компьютерной томографии; при терапии «талидомид 200 мг» констатировано развитие ТГВ, подтвержденное ультразвуковым исследованием вен нижних конечностей. Развитие ТЭЛА и ТГВ потребовало отмены иммуномодуляторов. В группе пациентов, получающих эритропоэтин на фоне терапии иммуномодуляторами и дексаметазоном, отмечено увеличение частоты тромботических осложнений по сравнению с группой пациентов «без терапии эритропоэтином» ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Частота развития тромботических осложнений у пациентов с множественной миеломой не зависит от варианта иммуномодулятор-содержащей программы лечения. Применение ацетилсалициловой кислоты не исключает вероятность развития тромбозов и тромбоэмболий. Эритропоэтин должен использоваться с осторожностью у больных, получающих иммуномодуляторы в комбинации с дексаметазоном.

*Гельцер И. В., Смирнова О. А., Матвиенко О. Ю., Головина О. Г., Папаян Л. П.*

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург*

### АНАЛИЗ ПАРАМЕТРОВ ТЕСТА ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА У ПАЦИЕНТОВ, ПРИНИМАЮЩИХ РИВАРОКСАБАН

**Введение.** В настоящее время новые оральные антикоагулянты (НОАК) нашли широкое применение в лечении и профилактике тромбоэмболических заболеваний (ТЭЗ) как альтернатива терапии антагонистами витамина К. Оценка антикоагулянтного действия НОАК затруднена в связи с отсутствием специфических тестов. Среди рутинных тестов для оценки действия прямого обратимого ингибитора фактора Ха, в частности ривароксабана, наиболее чувствительным является протромбиновое время. Ривароксабан пролонгирует его концентрационнозависимо. Однако это не позволяет оценить уровень антикоагуляции. Используемый глобальный интегральный тест — тест генерации тромбина (ТГТ), отражающий динамику генерации тромбина в целом с учетом взаимодействия коагуляци-

онных и антикоагулянтных факторов, учитывает изменение общего гемостатического потенциала крови под воздействием ингибитора фХа. Проведенные ранее исследования показали, что не у всех пациентов, получающих ривароксабан, отмечалось выраженное снижение всех количественных показателей ТГТ: значение ЕТР могло оставаться в пределах нормальных колебаний.

**Цель.** Провести анализ количественных параметров генерации тромбина у пациентов, у которых на фоне приема ривароксабана показатель ЕТР не выходил за границы нормальных значений.

**Материалы и методы.** Обследовано 29 пациентов (16 женщин и 13 мужчин) с ТЭЗ. Все обследованные были разделены на 2 группы в зависимости от времени, прошедшего



от приема препарата до момента взятия крови. Первую группу составили 13 пациентов в возрасте от 16 до 67 лет (Me – 48,0, 95 % ДИ: 17,2–65,5), у которых взятие крови осуществлялось через 1,5–4 часа после приема ривароксабана (на максимальной концентрации препарата в крови); вторую группу — 16 пациентов в возрасте от 19 до 80 лет (Me — 55,0, 95 % ДИ: 22,2–79,2), обследованных через 11–15 часов после приема ривароксабана. Контрольную группу составили 28 практически здоровых лиц.

С помощью ТГТ оценивали влияние ривароксабана на общий гемостатический потенциал крови методом калиброванной автоматизированной тромбинографии в бедной тромбоцитами плазме крови. Определяли количественные показатели: эндогенный потенциал тромбина (ЕТР, нМ\*мин) и максимальный уровень генерации тромбина (Peak thrombin, нМ). Полученные результаты обработаны с помощью STATISTICA 6,0. Определяли значения медианы (Me) и 95 % доверительный интервал (ДИ). Оценку достоверности различий между двумя независимыми выборками проводили с использованием критерия Манна-Уитни, различия считались достоверными при уровне  $p < 0,05$ .

**Результаты.** У каждого из пациентов рассматриваемых групп индивидуальные показатели ЕТР укладывались в пределы нормальных колебаний, но при этом значения этого параметра в 1-й группе (Me — 1362,59, ДИ: 1233,04–1880,22 против Me — 1756,00, ДИ: 1220,55–2159,85,  $p < 0,01$ ) также, как и во 2-й группе (Me — 1451,36, ДИ: 1247,99–1767,70 против Me — 1756,00, ДИ: 1220,55–2159,85,  $p < 0,01$ ) были достоверно ниже, чем в группе здоровых лиц. Наряду с этим, показатели Peak thrombin оставались значительно сниженными относительно значений здоровых лиц в обеих обследуемых группах в равной степени ( $p < 0,000001$ ). Так, если Peak thrombin здоровых лиц составил Me — 293,00, ДИ: 198,70–376,17, то этот показатель в 1-й и во 2-й группах составил Me — 78,20, ДИ: 65,68–122,40, Me — 87,95, ДИ: 67,58–158,47, соответственно.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о выраженной ингибции генерации тромбина на фоне терапии ривароксабаном и указывают на большую чувствительность параметра Peak thrombin для количественной характеристики генерации тромбина.

**Гербут К. А., Гришина Г. В., Шмелева В. М., Ремизова М. И.**

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург*

## **ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМОЗАМЕНИТЕЛЯ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИЭТИЛКРАХМАЛА НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**Введение.** Одно из центральных мест в лечении геморрагического шока занимают объемозамещающие растворы и различные инфузионные среды. Кровезаменители, созданные на основе гидроксиэтилкрахмала (ГЭК), могут длительно оставаться в сосудистом русле, обеспечивая коррекцию гемодинамики, и тем самым улучшать доставку кислорода к тканям. Специального внимания заслуживает проблема воздействия коллоидных плазмозаменителей на систему свертывания крови, так как гиповолемия и нарушения в системе гемостаза находятся в причинно-следственных взаимоотношениях. Экспериментальные исследования показывают, что гидроксиэтилкрахмалы могут связываться с поверхностными рецепторами эндотелия

и влиять на скорость адгезии, возможно, вследствие инактивации ими свободных радикалов и снижения выброса цитокинов. Нарушения в системе гемостаза не должны возникнуть при соблюдении рекомендуемых доз для переливания плазмозаменителя. Данные о влиянии ГЭК на систему гемостаза в определенной мере противоречивы.

**Цель.** Изучение влияния плазмозаменителя Волекам ГЭК-200 (Voleodicramen) на систему гемостаза в эксперименте.

**Материалы и методы.** На первом этапе исследований в исходном состоянии, через 2 и 24 часа наблюдения, в опытах на интактных кроликах (I серия, контрольная,  $n = 5$ ) изучали влияние условий эксперимента на показатели гемостаза в те же сроки, что и в опы-

тах с введением препарата Волекам ГЭК-200. Во II серии (n = 4) исследовали влияние инфузии препарата ГЭК-200 на состояние гемостаза у кроликов. Препарат вводили в объеме 10 мл/кг веса животного в краевую вену ушной раковины в течение 20 мин. Для максимального исключения возможного влияния условий эксперимента на показатели гемостаза забор крови для анализов и введение кровезаменителя осуществлялось без фиксации кролика к операционному станку (положение сидя).

На следующем этапе изучали влияние введения препарата ГЭК на гемостаз после кровопотери (10 мл/кг). Животных наркотизировали внутривенным введением 5% раствора тиопентала натрия в дозе 35–40 мг/кг. Кровоопускание осуществляли из бедренной артерии. Контрольным животным (1 группа, n = 4) через 15–20 мин после кровопотери вводили изотонический раствор натрия хлорида (ФР, 10 мл/кг). В опытной группе (2 группа, n = 5) кроликам через 15–20 мин после такой же кровопотери вводили ГЭК в той же дозе, что и ФР в первой группе. Плазменно-коагуляционное звено гемостаза оценивали по АПТВ, активности фактора VIII, протромбиновому индексу, концентрации фибриногена, а также по числу тромбоцитов в периферической крови. Показатели гемостаза определяли в исходном состоянии, через 2 и 24 часа после введения препарата ГЭК-200 (в I и II-ой сериях в те же сроки, что и в 1 и 2-й группе).

**Результаты.** В исходном состоянии количество тромбоцитов в контрольной (I серия) и опытной (II) серии существенно различались (соответственно  $720$  и  $555 \times 10^9$  клеток/л). В связи с этим произведен подсчет

изменений числа клеток в % к исходным величинам. При такой оценке различия между сериями по изменениям числа тромбоцитов оказываются статистически незначимыми. Индекс АПТВ, активность фактора VIII, протромбиновый индекс и концентрация фибриногена через 2 часа и 24 часа наблюдения в I и II сериях были практически одинаковыми. Исключение составила разница между подопытными и контрольными кроликами по числу тромбоцитов через сутки (соответственно  $66,7 \pm 15$  и  $88,7 \pm 3,4$  %,  $p = 0,01$ ). Исходя из полученных результатов по плазменно-коагуляционному звену, можно сделать заключение об отсутствии значимого воздействия ГЭК-200 на систему гемостаза в ранние сроки после инфузии у интактных животных.

После кровопотери изменение показателей гемостаза в сравнении с исходными данными в 1-й (контроль, ФР) и 2-й (Волекам ГЭК-200) группах не были значимыми. Индекс АПТВ, протромбиновый индекс (от 92 до 118 %) и концентрация фибриногена (от 2,5 до 3,5 г/л) через 2 и 24 часа наблюдения были почти одинаковыми в 1 и 2-й группах. Однако в одной группе активность фактора VIII и число тромбоцитов при введении ГЭК-200 были несколько повышены (на 16 %) к 24 часам наблюдения. Тем не менее, не выявлено статистически значимых различий между опытной и контрольной группами по влиянию ГЭК-200 на систему гемостаза.

**Выводы.** Эксперименты показали, что внутривенное введение раствора Волекам ГЭК-200 в дозе 10 мл/кг не вызывает значимых изменений в системе гемостаза через 2 часа и 24 часа наблюдения как при инфузии его интактным животным, так и при введении кроликам после кровопотери.

**Груздева О. В.<sup>1</sup>, Фанаскова Е. В.<sup>1</sup>, Учасова Е. Г.<sup>1</sup>, Акбашева О. Е.<sup>3</sup>, Пенская Т. Ю.<sup>1</sup>,  
Плотников Г. П.<sup>1</sup>, Барбараш О. Л.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБНУ НИИ «Комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация, г. Кемерово

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово

<sup>3</sup> ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Томск

## **ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕСТА ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА В ОЦЕНКЕ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРИ ОПЕРАЦИЯХ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ**

**Цель.** Оценить параметры теста генерации тромбина у пациентов с ишемической болезнью сердца при аортокоронарном шунтировании в условиях искусственно-

го кровообращения (ИК) после трансфузии донорского тромбоцитарного концентрата на фоне длительной терапии аспирином.

**Материалы и методы.** В исследование включено 148 человек с ИБС, которым была выполнена плановая первичная операция КШ в условиях ИК без отмены антитромбоцитарной терапии (кардиомагнил 75 мг/сутки, аспирин-кардио 100 мг/сутки или аспирин 125 мг/сутки). В качестве контрольных точек были выбраны следующие этапы: дооперационный, интраоперационный (после протаминизации до введения тромбоцитного концентрата) и ранний послеоперационный (в среднем через 1 час после поступления пациентов в отделение реанимации) периоды. В зависимости от трансфузии донорского тромбоцитарного концентрата (ТК) пациентов разделили на 2 группы: 76 пациентов с трансфузией донорских тромбоцитов и 72 пациента без трансфузии тромбоцитов. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц.

**Результаты.** На фоне длительной аспириротерапии у пациентов в до- и интраоперационном периодах было выявлено состояние активации эндогенного тромбоинового потенциала, о чем свидетельствовали высокая пиковая концентрация тромбина, увеличение скорости его образования, при этом время активации протромбиназного комплекса и время образования тромбина были удлинены

по сравнению с контролем. В раннем послеоперационном периоде в группе пациентов, не получивших трансфузию ТК, на фоне дальнейшего увеличения временных показателей, гемостатический потенциал крови уменьшался, достигая уровня контроля, тогда как трансфузия ТК стимулировала генерацию эндогенного тромбина: сокращалось время инициации свертывания, время достижения пика, при этом скорость и концентрация тромбина увеличивались, но дооперационного уровня не достигали.

**Заключение.** На фоне длительной аспириротерапии у пациентов сохраняется гемостатический потенциал. Учитывая, что тромбоциты пациента сохраняют свою способность участвовать в генерации тромбина, а донорские дополнительно стимулируют эндогенный тромбоиновый потенциал крови, трансфузия тромбоцитного концентрата в этих условиях может увеличивать риск тромбоишемических событий. К целесообразности трансфузии донорских тромбоцитов необходимо подходить строго индивидуально с учетом показателей теста генерации тромбина, минимизировав риск периоперационных ишемических и геморрагических осложнений у каждого конкретного пациента.

**Жернякова А. А., Мартынкевич И. С., Шуваев В. А., Полушкина Л. Б.,  
Волошин С. В., Бессмельцев С. С., Четкин А. В.**

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

## **ТРОМБОТИЧЕСКИЕ И ГЕМОРРАГИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ТРОМБОЦИТЕМИИ**

**Введение.** Эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) — миелопролиферативное заболевание с повышенной продукцией мегакариоцитов в костном мозге и тромбоцитозом в периферической крови. Относится к группе миелопролиферативных новообразований (МПН), является редким (орфанным) заболеванием с частотой выявляемости от 1,5 до 2,5 случаев на 100 000 населения в год.

Ключевым звеном патогенеза ЭТ является неконтролируемая активация клеточного сигнального пути JAK-STAT. Достоверно установлена центральная роль соматических точечных мутаций генов *JAK2* (*JAK2V617F*), *MPL*

и *CALR* в активации JAK-STAT-пути. Молекулярно-генетический фенотип (носителем одной из мутаций: *JAK2V617F* (*JAK2+*), *MPL* (*MPL+*), *CALR* (*CALR1+* — тип 1, *CALR2+* — тип 2), их отсутствие — тройной-негативный статус (ТН)) при ЭТ рассматривается в качестве фактора, влияющего на развитие тромбоишемических и/или геморрагических осложнений.

**Цель.** Оценить наличие и характер взаимосвязей между молекулярно-генетическими нарушениями, клинико-лабораторными параметрами и развитием осложнений, прогнозом течения ЭТ.

**Материалы и методы.** Данные 240 пациентов с ЭТ (критерии ВОЗ 2008 г.). Оценивались показатели гемограммы, результаты молекулярно-генетических методов: полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) для определения *JAK2V617F*, ПЦР-ПДРФ (выявление мутаций *MPL*) и прямого секвенирования (выявление *CALR*). Регистрировались тромботические и/или геморрагические осложнения (артериальные/венозные тромбозы, острый инфаркт миокарда (ОИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) и кровотечения). Произведен анализ общей выживаемости (ОВ) у пациентов с наличием/отсутствием осложнений. Выполнен анализ и последующая статистическая обработка полученных данных.

**Результаты.** Среди 240 пациентов: 183 (76,3 %) — без осложнений (БО), у 57 (23,7 %) осложнения: 49/57 (85,9 %) — артериальные/венозные тромбозы, ОНМК и ОИМ (тромбозы+); 11/57 (19,3 %) — кровотечения (геморрагии+). Тромботические осложнения в *JAK2+* — 50/182 (27,4 %), ТН — 8/26 (30,7 %), *CALR1+* — 2/11 (18,2 %); в *CALR2+* и *MPL+* не отмечено тромбозов ( $p < 0,001$ ). Выявлено наличие статистически значимых различий по уровню тромбоцитов между тромбозы+ и геморрагии+ ( $p = 0,003$ ), раз-

личий по уровню гемоглобина и лейкоцитов не отмечено ( $p = 0,75$  и  $p = 0,47$ ). Пациенты старше 60 лет — более половины в БО (51 %) и тромбозы+ (59 %), в геморрагии+ — 36 % ( $p < 0,001$ ). По наличию сердечно-сосудистых факторов риска (БО — 24 %, тромбозы+ — 69 % и геморрагии+ — 36 %) ( $p < 0,001$ ). Различий по гипертромбоцитозу более  $1000 \times 10^9/\text{л}$  и лейкоцитозу более  $11 \times 10^9/\text{л}$  не получено ( $p = 0,85$  и  $p = 0,72$  соответственно). При анализе ОВ не выявлено статистически значимых различий между подгруппами с/без осложнений ( $p = 0,21$ ).

**Выводы.** Мутация *JAK2V617F* ассоциирована с увеличением риска и частоты тромбозов. Статусы *CALR1+* и *CALR2+* — наиболее благоприятные с позиции риска развития тромботических осложнений; частота тромботических осложнений у таких пациентов была статистически значимо ниже в сравнении с пациентами других групп ( $p = 0,01$ ). Вместе с тем, при *CALR+*, вне зависимости от типа мутации, частота возникновения геморрагических осложнений достоверно выше ( $p = 0,01$ ) в сравнении с носительством иных мутаций. Влияние носительства мутации *MPL* и ТН-статуса требуют проведения дальнейших исследований.

Карпич С. А., Шмелева В. М., Головина О. Г., Капустин С. И., Смирнова О. А., Папаян Л. П.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

## ОЦЕНКА ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА У ЛИЦ С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ТРОМБОФИЛИЕЙ

**Введение.** К числу безусловных наследственных детерминант тромбофилии относятся мутации в генах факторов II (G20210A) и V (G1691A). Однако вопрос о необходимости и продолжительности первичной и вторичной профилактики венозного тромбоза (ВТЭ) у носителей наследственной тромбофилии остается дискуссионным. Рекомендаций по продолжительности антикоагулянтной терапии после перенесенного ВТЭ у пациентов с наследственной тромбофилией в настоящее время не существует.

В последнее время нарастает интерес к интегральному тесту — тесту генерации тромбина (ТГТ), который позволяет оценить

динамику генерации тромбина, что дает возможность эффективно выявлять признаки гиперкоагуляции.

**Цель.** Оценить изменения показателей ТГТ у асимптомных носителей и у пациентов носителей мутаций в генах фактора V (G1691A) и/или протромбина (G20210A) после антикоагулянтной терапии, проводимой в связи с ВТЭ.

**Материалы и методы.** Обследовано 34 пациента — носителя мутации в генах FV G1691A и/или FII G20210A (15 мужчин, 19 женщин, возраст 24–67 лет, Ме возраста — 37 лет), с эпизодом ВТЭ в анамнезе. Все пациенты проходили курс антикоагулянтной те-

рапии, который к моменту обследования был завершен. Кроме того, было обследовано 25 асимптомных носителей мутации FV G1691A или/и FII G20210A, которые являлись родственниками первой линии пациентов с проявлениями ВТЭ (11 мужчин и 14 женщин, возраст 19–67, Me возраста — 30 лет). Контрольную группу составили 34 здоровых человека.

Постановка ТГТ выполнялась по методике Н. Hemker в бедной тромбоцитами плазме с использованием реактива «PPP Reagent+/-TM». В тромбинограмме оценивали следующие показатели: РТ (Peak thrombin — максимальное количество тромбина, образующегося в образце), ЕТР (endogenous thrombin potential — эндогенный тромбиновый потенциал) и V (скорость образования тромбина). По проценту падения ЕТР и РТ после добавления в реакционную смесь тромбомодулина (ТМ) оценивали эффективность работы системы протеина С. Для анализа полученных данных определяли значение медианы (Me) и 95 % доверительный интервал (ДИ). Статистический анализ результатов выполняли с помощью непараметрических методов (программное обеспечение STATISTICA 6.1.). Оценку достоверности различий между двумя независимыми выборками проводили с использованием критерия Манна-Уитни, различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Анализ полученных данных показал, что как асимптомные носители наследственной тромбофилии, так и пациенты с мутациями в генах факторов II и V и с эпизодом ВТЭ в анамнезе после окончания антикоагулянтной терапии обладают протромботическим статусом. Так, значения ЕТР у асимптомных носителей и у пациентов после завершения антикоагулянтной терапии достоверно превышали соответствующие значения в контрольной группе и составляли (Me, 95 % ДИ): 2132,5, 946,5–2703,5 и 1811,5, 1126,5–3209,0 соответственно, против 1642,3, 1221,6–2137,0,  $p < 0,05$ . Показатель РТ в контрольной группе (Me, 95 % ДИ: 285,8, 205,0–345,2) были значимо ниже, чем у носителей наследственной тромбофилии (Me, 95 % ДИ: 372,9, 189,5–517,6 и 367,4, 178,0–561,6 у асим-

птомных носителей и пациентов, прошедших курс антикоагулянтной терапии соответственно). Такие же особенности характерны для показателя V, значения которого составили (Me, 95 % ДИ): 95,4, 48,9–128,4 против 136,2, 26,3–249,5 и 146,5, 41,2–244,3 в контрольной группе, у асимптомных носителей наследственной тромбофилии и пациентов, закончивших курс антикоагулянтной терапии, соответственно. Все перечисленные количественные показатели, характеризующие процесс генерации тромбина у носителей наследственной тромбофилии превышали контрольные значения. В то же время между показателями ЕТР, РТ и V асимптомных носителей и пациентов, прошедших курс антикоагулянтной терапии различий не обнаружено. Эффективность работы системы протеина С у носителей наследственной тромбофилии, как и следовало ожидать, значительно отличается от группы здоровых людей. Процент падения ЕТР после добавления ТМ составил (Me, 95 % ДИ): 52,9, 38,7–67,5 в контрольной группе и 37,5, 17,0–60,0 ( $p < 0,05$ ) и 29,0, 6,0–72,0 ( $p < 0,05$ ) у асимптомных носителей и пациентов, закончивших терапию соответственно. Процент падения РТ после добавления ТМ составил (Me, 95 % ДИ): 42,1, 28,0–57,2 в контрольной группе и 28,0, 9,0–47,0 ( $p < 0,05$ ) и 18,0, 0,3–53,0 ( $p < 0,05$ ) у асимптомных носителей и пациентов, закончивших терапию соответственно. Значимая разница по данному показателю отмечена как между здоровыми людьми и носителями наследственной тромбофилии, так и между теми, кто прошел антикоагулянтную терапию, и асимптомными носителями, у которых работа системы протеина С оказалась эффективнее.

**Заключение.** Люди с наследственной тромбофилией, как асимптомные носители, так и пациенты после антикоагулянтной терапии, связанной с эпизодом ВТЭ, имеют протромботический статус. Недостаточность действия системы протеина С более выражена у пациентов с эпизодом ВТЭ в анамнезе. ТГТ является перспективным методом в плане создания индивидуального профиля риска для таких пациентов.

Киселева Е. А., Касьянов А. Д., Данильченко В. В., Четчин А. В.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

## КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРОМБОЦИТНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ И ПЛАЗМЫ ПРИ СОЧЕТАННОМ АФЕРЕЗЕ У ДОНОРОВ

**Введение.** Для коррекции нарушений гемостаза в клинической практике широко используются трансфузии тромбоцитного концентрата (ТК) и свежезамороженной плазмы. Известно, что метод получения этих компонентов крови может влиять на их гемостатический потенциал. Технические возможности современных аппаратов для афереза позволяют сепарировать любые компоненты крови в условиях минимального экстракорпорального объема. Процедура проведения афереза нацелена на сбор большого количества тромбоцитов, что позволяет получить более качественный продукт при использовании меньшего количества доноров. Однако в нормативных документах организация сочетанного вида донорства и заготовки компонентов крови методом афереза не регламентированы; качество полученных сочетанным аферезом плазмы и тромбоцитов не изучено.

**Цель.** Исследование качества аферезных тромбоцитных концентратов и плазмы, полученных методом сочетанного афереза.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлись тромбоцитные концентраты и плазма, полученные методом афереза у активных (кадровых) доноров (мужчин) с использованием аппаратов для цитафереза Haemonetics MCS+ и Trima Accel. Исходное содержание тромбоцитов в периферической крови у доноров было не ниже  $200 \times 10^9$ /л. Показатели качества ТК и плазмы исследовали в соответствии с требованиями нормативных документов.

**Результаты и обсуждение.** Все полученные ТК имели объем, соответствующий требованиям российских стандартов (не менее 40 мл на  $60 \times 10^9$  тромбоцитов), и содержали надлежащее количество клеток. Разница в количестве заготовленных тромбоцитов  $316,7 \pm 6,9 \times 10^9$  клеток на аппарате Haemonetics MCS+ и  $362,2 \pm 2,6 \times 10^9$  клеток на Trima Accel обусловлена заданными параметрами и продиктована исходным содержанием тромбоцитов у донора. Отмечено отсут-

ствие значимых различий параметров качества между ТК, заготовленных методом сочетанного донорства независимо от используемого фракционатора. В России определено содержание лейкоцитов в единице ТК не более  $1 \times 10^6$  клеток. Фильтры, удаляющие лейкоциты, встроены в современные системы аппаратного афереза. В нашем исследовании содержание остаточных лейкоцитов значительно не различалось при сочетанном и однокомпонентном способе заготовки. При использовании Haemonetics MCS+ в единице продукции выявлено  $0,36 \pm 0,22 \times 10^6$  и  $0,37 \pm 0,15 \times 10^6$  лейкоцитов, а при применении Trima Accel —  $0,34 \pm 0,05 \times 10^6$  и  $0,32 \pm 0,15 \times 10^6$  клеток, соответственно. Ранняя лейкодеплегия уменьшает аллоиммунизацию, поскольку предотвращает переливание растворимых антигенов донорских лейкоцитов.

Согласно техническому регламенту, в контейнере с аферезными тромбоцитами должно быть не менее  $200 \times 10^9$  клеток. В связи с особенностями терапии онкогематологических пациентов, находящихся в состоянии тромбоцитопении, мы заготавливали не менее  $300 \times 10^9$  клеток на единицу продукции. При клиническом использовании ТК, полученных методом сочетанного донорства, не было отмечено посттрансфузионных осложнений и реакций. Качественные характеристики плазмы, заготовленной с помощью Haemonetics MCS+ и Trima Accel методом сочетанного афереза (объем, фактор VIII, содержание остаточных клеток), значимых отличий не имели.

**Заключение.** Показатели качества ТК и плазмы, полученных аферезом с помощью фракционаторов Haemonetics MCS+ и Trima Accel методом сочетанного донорства, соответствовали требованиям национальных и международных стандартов. Сочетанное получение двух компонентов крови от одного донора методом афереза не снижает качества тромбоцитного концентрата и плазмы. Внедрение в деятельность учреждений службы

крови современных трансфузиологических технологий имеет важное значение, так как позволяет повысить доступность и эффек-

тивность обеспечения пациентов компонентами крови гемостатического действия.

**Кобилянская В. А.**

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург*

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОЛЧАНОЧНОГО АНТИКОАГУЛЯНТА У ПАЦИЕНТОВ НА ФОНЕ ПРИЕМА РИВАРОКСАБАНА**

**Введение.** Согласно эпидемиологическим исследованиям, годовая частота возникновения венозных тромбозов в общей популяции составляет 160:100 000. Большая распространенность этой патологии и ее тяжесть свидетельствуют о необходимости решения определенных проблем в понимании диагностики тромбозов. К наиболее значимым приобретенным тромбофилиям относится антифосфолипидный синдром (АФС). Важность диагностики АФС определяется тем, что по частоте он занимает одно из первых мест при тромбозных заболеваниях человека, а тромботический синдром, связанный с наличием волчаночного антикоагулянта (ВА), встречается в несколько раз чаще, чем при других видах АФС. В последние несколько лет при лечении венозных тромбозов получил широкое распространение антикоагулянт прямого действия ривароксабан — ингибитор активного фактора Ха. Известно, что данный антикоагулянт увеличивает временные параметры коагулологических тестов, в том числе и при определении ВА. В некоторых рекомендациях предлагается отменить прием пациентом ривароксабана на 12 часов или на сутки для исключения ложноположительного результата. Однако влияние данного препарата на результат исследования ВА изучен крайне мало.

**Цель.** Оценить остаточное влияние ривароксабана на результат определения ВА при его отмене в различные временные промежутки.

**Материалы и методы.** В процессе выполнения настоящей работы было обследовано 252 пациента с установленными диагнозами тромбоз глубоких вен и/или тромбоз легочной артерии, принимающих в связи с этим ривароксабан в дозе 20 мг однократно в сутки, а также в дозе 15 мг дважды в сутки. Препарат отменялся за 12 часов и за сут-

ки до исследования. Наличие ВА оценивали по нормализованному отношению скринингового и подтверждающего тестов LA1/LA2 фирмы Instrumentation Laboratory на приборе ACL ELIT PRO.

**Результаты.** Обследование через сутки после отмены ривароксабана показало следующее. У подавляющего большинства пациентов (215 чел.) тест на ВА был отрицательным. У 6 человек выявлено увеличение отношения LA1/LA2 в так называемой «серой зоне» (от 1,29 до 1,37). Проведенный, согласно методике, микс-тест с контрольной плазмой в соотношении 1:1 не дал уменьшения значения нормализованного отношения, что дало возможность предположить присутствие ВА. Согласно Международным рекомендациям, эти пациенты были вызваны на повторное исследование через 12 недель, которое подтвердило у них наличие ингибитора. Выявленное у 30 пациентов увеличение времени LA1 и LA2 было полностью компенсировано в микс-тесте, нормализованное отношение колебалось от 0,91 до 1,04. У 4 пациентов удлинение времени не компенсировалось микс-тестом, а значения нормализованного отношения находилось в пределах от 1,19 до 1,23. При повторном обследовании эти данные не подтвердились, что дало возможность предположить наличие на момент первичного обследования волчаночного ингибитора в транзитной фазе. При отмене ривароксабана за 12 часов у 7 пациентов, принимающих препарат по 15 мг дважды, определение ВА вызывало определенные трудности. Скрининговый и подтверждающий тесты были значительно удлиненны. При определении микс-теста, показатели уменьшались на 2–3 секунды, не влияя при этом на результат нормализованного отношения, значения которого было больше нормы (от 1,36 до 1,45).

**Выводы.** Исследование ВА при отмене ингибитора активного Ха за 12 часов не обеспечивает оптимальных условий при его определении, поскольку остается вероятность ложноположительного теста. Прекращение приема антикоагулянта за сутки снижает ве-

роятность ложноположительного результата. Можно предположить, что при исследовании на наличие волчаночного антикоагулянта оптимальным вариантом является отмена ривароксабана за 2 суток по согласованию с лечащим врачом.

*Корсакова Н. Е., Матвиенко О. Ю., Силина Н. Н., Головина О. Г., Папаян Л. П.,  
Ефремова Е. В., Фоминых М. С., Шуваев В. А., Волошин С. В.*

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург*

### ОЦЕНКА ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО СТАТУСА И ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ У JAK2V617F-ПОЗИТИВНЫХ ПАЦИЕНТОВ С МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

**Введение.** Миелопролиферативные новообразования (МПН), такие как истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) и миелофиброз (МФ), представляют собой группу заболеваний клональной природы, для которых характерна аномальная пролиферация миелоидного ростка кроветворения и соединительнотканых структур костного мозга. Частым общим для них клиническим проявлением является развитие тромбозов. Одним из факторов, повышающих риск развития тромботических осложнений у больных МПН, является наличие точечной мутации JAK2V617F (JAK-2). Дисфункция сосудистого эндотелия как ранний неспецифический маркер сосудистой патологии представляет собой начальное патогенетическое звено в развитии тромбоза. Также ключевую роль в патогенезе тромботических состояний играет нарушение гемостатического баланса крови со сдвигом в сторону гиперкоагуляции.

**Целью** исследования была оценка гемостатического статуса и функционального состояния сосудистого эндотелия у JAK-2-позитивных пациентов с МПН.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 16 пациентов с МПН: 5 (31 %) с ИП, 6 (37,5 %) с ЭТ, 3 (19 %) с МФ, 2 пациента (12,5 %) имели диагноз миелопролиферативное новообразование неуточненное. Все пациенты имели позитивный статус по мутации JAK-2. Контрольная группа состояла из 36 здоровых лиц.

Определение функции эндотелия проводили с помощью неинвазивной методики на аппарате EndoPAT, который по изменению

периферического артериального тонуса в ответ на окклюзионную пробу позволяет определить индекс реактивной гиперемии (RHI). Снижение RHI ниже 1,67 указывает на наличие эндотелиальной дисфункции (ЭД), значения RHI от 1,67 до 2,0 лежат в зоне риска, значения RHI больше 2,0 свидетельствуют о нормальном функционировании эндотелия сосудов.

Состояние системы гемостаза оценивали с помощью интегрального теста генерации тромбина (ТГТ), выполняемого параллельно с добавлением и без добавления рекомбинантного человеческого тромбомодулина (ТМ). Оценивали следующие показатели тромбограммы: эндогенный потенциал тромбина (ЕТР), нМ\*мин, наибольшую концентрацию тромбина (Peak thrombin), нМ, скорость генерации тромбина (V), нМ/мин. Определяли чувствительность к ТМ по проценту падения ЕТР или Peak thrombin после добавления ТМ.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программ Microsoft Excel 2007 и STATISTICA 6.0. Результаты представляли в виде: медиана (95 % доверительный интервал). Определение достоверности различий между сравниваемыми группами проводили с помощью критерия Манна-Уитни. Различия между группами считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты.** По данным определения функции эндотелия у 6 (37,5 %) пациентов с МПН была обнаружена ЭД, 3 (18,75 %) находились в зоне риска и 7 (43,75 %) имели нор-



мальную функцию эндотелия. Взаимосвязи значений RNI с различными нозологическими формами МПН не наблюдалось.

При оценке параметров ТГТ у пациентов с МПН было выявлено достоверное снижение V (38,5 (18,6–114,6) против 95,4 (48,9–128,4) нМ/мин), ЕТР (1269,6 (998,3–2104,9) против 1642,3 (1221,6–2136,9) нМ\*мин) и Peak thrombin (171,8 (115,4–249,3) против 285,6 (205,0–345,2) нМ), а также % падения ЕТР (34,1 (19,0–68,0) против 52,9 (38,7–67,5) %) и % падения Peak thrombin (19,1 (1,9–44,1) против 42,1 (28,0–57,2) %) по сравнению с контрольной группой.

**Выводы.** Снижение скорости и количественных характеристик тромбинообразо-

вания, наблюдаемое у JAK-2-позитивных пациентов с МПН, свидетельствует о снижении коагуляционного потенциала крови. В то же время, существенное снижение чувствительности к ТМ может указывать на угнетение работы антикоагулянтной системы протеина С, что, в свою очередь, может приводить к гиперкоагуляции и повышению риска развития тромбозов. ЭД, обнаруженная у части обследованных JAK-2-позитивных пациентов с МПН, также свидетельствует об их предрасположенности к тромботическим осложнениям. Полученные результаты требуют дополнительных исследований, в том числе обследования пациентов в динамике.

**Кузник Б. И., Давыдов С. О., Гусева Е. С., Степанов А. В., Смоляков Ю. Н., Цыбиков Н. Н.**

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, Чита

<sup>2</sup> Инновационная клиника Академия здоровья, Чита

### **НОВЫЕ ДАННЫЕ О РОЛИ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ В РАЗВИТИИ ГИПЕРКОАГУЛЯЦИИ ПРИ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ**

**Введение.** Неоспоримо доказано, что все форменные элементы крови — эритроциты, лейкоциты и тромбоциты — принимают участие в сосудисто-тромбоцитарном и коагуляционном гемостазе, а также процессе стабилизации и растворения фибринового сгустка. Вместе с тем, за последние годы появились сведения о том, что форменным элементам крови (ФЭК) принадлежит существенная роль в развитии заболеваний сердечно-сосудистой системы. В частности, установлено, что при гипертонической болезни (ГБ) существуют тесные связи между эритроцитами, тромбоцитами, лейкоцитами и их популяциями, и уровнем кровяного давления. Однако до сих пор не ясно, какую роль играют ФЭК в развитии гиперкоагуляции при ГБ. Отсюда вытекает основная цель нашей работы — выяснение роли ФЭК в развитии гиперкоагуляции при ГБ.

**Материалы и методы.** Исследования проведены на 102 женщинах. Контрольную группу составили 30 относительно здоровых женщин в возрасте  $55,2 \pm 2,9$  года с индексом массы тела (ИМТ)  $24,4 \pm 2,3$ . Больные гипертонической болезнью были разделены на 2 подгруппы. В первую подгруппу (ГБ-1) вош-

ли 37 женщин, страдающих артериальной гипертензией II стадии и имеющих высокий дополнительный риск развития сердечно-сосудистых осложнений. Во вторую группу (ГБ-2) были выделены 35 женщин, также страдающих артериальной гипертензией II стадии, регулярно проходящих на протяжении 2–3 лет по 3–4 полуторамесячных курса кинезитерапии (КТ). Нами изучались следующие показатели, характеризующие состояние свёртывающей активности крови: число тромбоцитов, АЧТВ, протромбиновое (ПВ) и тромбиновое время (ТВ), концентрация фибриногена. Кроме того, с помощью прибора «Регистратор Тромбодинамики Т-2» исследовалось время задержки роста сгустка, начальная и стационарная скорость его роста, плотность и размер. Подсчет форменных элементов крови производился на гемоанализаторе PENTRA-80, Horiba ABX Diagnostics (USA).

**Результаты.** Наши наблюдения показали, что у больных ГБ, как занимающихся (ГБ-2), так и не занимающихся (ГБ-) КТ, по сравнению с относительно здоровыми женщинами общее содержание эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов не изменено. Вместе с тем, у больных ГБ-1 в сравнении с контролем

увеличено общее число лимфоцитов и эозинофилов. У больных ГБ-2 возрастание числа лимфоцитов проявляет лишь тенденцию, тогда как сохраняется явное увеличение числа эозинофилов.

У больных ГБ, независимо от методов терапии, АЧТВ, ПВ и ТВ, а также концентрация фибриногена существенно не отличаются от нормы. Одновременно у страдающих ГБ-1, уменьшается время задержки роста сгустка, но значительно увеличиваются начальная и стационарная скорость образования фибринового сгустка, а также его размеры, что свидетельствует о явном усилении процесса тромбообразования. Кроме того, у больных ГБ-1 по сравнению со здоровыми сгусток в 4,5 раза чаще начинал расти не только от субстрата (тканевого фактора), но и центра кюветы (спонтанный рост сгустка).

У здоровых женщин обнаружены существенные прямые корреляции между числом моноцитов АЧТВ и ТВ. Между количеством лимфоцитов и АЧТВ выявляются отрицательные корреляционные взаимосвязи. Число эозинофилов положительно коррелирует с ПВ и плотностью сгустка. При ГБ-1 не обнаружено значимых и вероятных связей между общим числом эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов и исследуемыми показателями системы гемостаза. Вместе с тем, у таких больных отмечается негативная связь средней степени силы между числом нейтрофилов, начальной и стационарной скоростью образования фибринового сгустка. Кроме того, выявляются положительная связь средней степени силы между числом моноцитов, стационарной скоростью и размером

образуемого сгустка а также между числом базофилов и ТВ. У больных ГБ-2 число эритроцитов отрицательно коррелирует с АЧТВ, общее содержание тромбоцитов проявляет положительную взаимосвязь с ТВ, начальной скоростью и размерами сгустка, а общее число лейкоцитов — с ПВ и стационарной скоростью образования сгустка. Содержание нейтрофилов положительно коррелирует с ПВ и отрицательно со стационарной скоростью образования сгустка. Количество лимфоцитов отрицательно коррелирует со стационарной скоростью образования фибринового сгустка, тогда как число эозинофилов оказывает негативное воздействие на скорость образования фибринового сгустка (связь вероятная). Наконец, содержание базофилов отрицательно влияет на уровень фибриногена (связь вероятная) и стационарной скоростью образования сгустка.

**Выводы.** У больных ГБ по данным тромбодинамики выявляется усиленная готовность к тромбообразованию. У больных ГБ, регулярно занимающихся КТ (ГБ-2), эти сдвиги выявлены в значительно меньшей степени. Все без исключения форменные элементы крови оказывают воздействие на состояние системы гемостаза как у здоровых, так и больных ГБ женщин. В то же время эти воздействия у здоровых и больных ГБ-1 и ГБ-2, могут носить как однонаправленный, так и прямо противоположный характер. У больных ГБ-2 корреляционные отношения между отдельными форменными элементами и показателями системы гемостаза приближаются к результатам, полученным на здоровых людях.

*Малышкина Н. А.<sup>1</sup>, Воробьева Н. А.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup> Северный филиал ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,

<sup>2</sup> ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет Минздрава России», Архангельск

## ФИБРИНОЛИЗ ПРИ ЗАНЯТИЯХ РАЗЛИЧНЫМИ ВИДАМИ СПОРТА

**Введение.** Физическая нагрузка, являющаяся стрессовым фактором, действуя на организм, приводит к изменению состояния системы гемостаза, и в частности — системы фибринолиза. Данные изменения тем активнее приводят к состоянию дисбаланса сред и систем организма, чем слабее его адаптационный потенциал.

**Цель.** Оценка состояния фибринолиза у спортсменов Архангельской области.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 98 спортсменов, наблюдающихся в областном спортивном диспансере г. Архангельска. Представлено несколько видов спорта: спортивная борьба — 8 % спортсменов, гимнастика и акробатика — 12 %

спортсменов, теннис — 5 % спортсменов, конькобежный спорт — 9 % спортсменов, легкая атлетика — 8 % спортсменов; лыжные гонки, биатлон и полиатлон — 27 % спортсменов, плавание — 8 % спортсменов, силовые виды спорта — 7 % спортсменов, хоккей — 15 % спортсменов. Оценивались параметры системы фибринолиза: определение тканевого активатора плазминогена, урокиназного активатора плазминогена и комплекса плазмин — антиплазмин, ингибитора активатора плазминогена 1 типа (РАI-1).

**Результаты.** При сравнении групп спортсменов, разделенных по видам спорта, среднее значение по медиане уровня тканевого активатора плазминогена для сложно-координационных видов спорта было статистически значимо выше, чем для циклических видов спорта ( $p = 0,005$ ). В уровне урокиназного активатора плазминогена статистически значимых различий среди групп разных видов спорта обнаружено не было ( $p = 0,16$ ). Статистически значимые различия в уровне комплекса плазмин-антиплазмин обнаружены между группой единоборств, многоборья и скоростно-силовых видов спорта. Уровень плазмин-антиплазминового комплекса был статистически значимо выше в группе много-

борья, по сравнению с группой единоборств и скоростно-силовых видов спорта ( $p = 0,008$ ). Статистически значимые различия в уровне РАI-1 обнаружены между циклическими и скоростно-силовыми видами спорта. Уровень РАI-1 был статистически значимо ниже в группе циклических видов спорта, по сравнению с группой скоростно-силовых видов спорта ( $p = 0,005$ ).

**Выводы.** Выявлено значимое снижение уровня тканевого активатора плазминогена у спортсменов ( $M = 0,73$  нг/мл (95 % ДИ: 0,61; 0,88)), повышение уровня ингибитора активатора плазминогена первого типа ( $Me = 29,89$  нг/мл [22,3; 47,3]), что свидетельствует об угнетении системы фибринолиза и является фактором риска активации прокоагулянтных свойств крови у спортсменов. Кроме того, снижение уровня тканевого активатора плазминогена может быть обусловлено развитием эндотелиальной дисфункции, так как синтез данного фактора осуществляется преимущественно эндотелиоцитами. При сравнении фибринолитической активности крови представителей различных видов спорта наибольшему риску оказались подвержены скоростно-силовые виды спорта.

**Малышкина Н. А.<sup>1</sup>, Воробьева Н. А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, Архангельск,

<sup>2</sup> Северный филиал ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Архангельск

## **О НЕОБХОДИМОСТИ КОНТРОЛЯ УРОВНЯ ГОМОЦИСТЕИНЕМИИ И ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ У СПОРТСМЕНОВ**

**Введение.** Физическая нагрузка, как стрессовый фактор, действуя на организм, приводит к изменению состояния системы гемостаза, и в том числе — фибринолитической активности. Наблюдаемое при зустрессе повышение фибринолитической активности сопровождается возрастанием активности плазмينا, усилением действия активаторов плазминогена и угнетением антиплазминов. В ходе реакции дистресса при несоответствии стрессового фактора адаптивным возможностям организма наблюдается смещение баланса в реакциях свёртывающей и фибринолитической систем в сторону нарастания гиперкоагуляции, снижения антикоагулянтной и фибринолитической активности, вплоть

до появления в кровотоке признаков тромбоза и угрозы развития внутрисосудистого свёртывания.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 98 спортсменов, из которых 64 % ( $n = 63$ ) составили юноши и 36 % ( $n = 35$ ) — девушки. Средний возраст по медиане составил 19,5 (16; 25) лет. В работе представлено несколько видов спорта. Спортивная борьба была представлена 8 % спортсменов, гимнастика и акробатика — 12 % спортсменов, теннис — 5 % спортсменов, конькобежный спорт — 9 % спортсменов, легкая атлетика — 8 % спортсменов; лыжные гонки, биатлон и полиатлон — 27 % спортсменов, плавание — 8 % спортсменов, силовые виды

спорта — 7 % спортсменов, хоккей — 15 % спортсменов. В соответствии с Олимпийской классификацией были сформированы группы: единоборства, циклические, сложно-координационные, спортивные игры, скоростно-силовые виды спорта, многоборье. По уровню спортивного мастерства большинство исследуемых составили мастера спорта — 44 % (95 % ДИ: 34;54), 32 % (95 % ДИ: 24;42) составляли кандидаты в мастера спорта, первый спортивный разряд имели 14 % (95 % ДИ: 7,8;21,5) опрошенных спортсменов, 1 % (95 % ДИ: 0,2;5,6) — мастера спорта международного класса, не имели спортивного разряда 9 % (95 % ДИ: 4,7;16,7) спортсменов. Оценивались параметры системы фибринолиза: количественное определение тканевого активатора плазминогена, количественное определение урокиназного активатора плазминогена и количественное определение комплекса плазмин — антиплазмин, количественное определение ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1). Также определялся уровень гомоцистеинемии. Материалом для исследования фибринолитической активности являлась цитратная плазма, уровень гомоцистеина определялся в сыворотке крови. Метод, использовавшийся для количественной оценки параметров — иммуноферментный анализ. Статистическая обработка проводилась в пакете прикладных программ Excel и SPSS17 с учетом распределения признаков в группах.

**Результаты и обсуждение.** В пределах референсных значений находилась лишь концентрация плазмин-антиплазминового комплекса. Уровень тканевого активатора плазминогена в 88,5 % случаев находился ниже референсного интервала. Уровень урокиназного активатора плазминогена почти в половине случаев был определен в пределах физиологической нормы, в трети случаев — повышен. У трети обследованных спортсменов концентрация ингибитора активатора плазминогена 1 типа превышала референсные значения.

При сравнении групп спортсменов, разделенных по видам спорта, статистически значимые различия в уровне тканевого активатора плазминогена обнаружены между циклическими и сложно-координационными видами спорта. Среднее значение по медиане уровня тканевого активатора плазминогена для сложно-координационных видов спорта

было статистически значимо выше, чем для циклических видов спорта ( $p = 0,005$ ). В уровне урокиназного активатора плазминогена статистически значимых различий среди групп разных видов спорта и групп, разделенных по уровню спортивного мастерства, обнаружено не было. Использовался критерий Краскела-Уоллиса, достигнутый уровень значимости различий  $p = 0,16$ . Статистически значимые различия в уровне комплекса плазмин-антиплазмин обнаружены между группой единоборств, многоборья и скоростно-силовых видов спорта. Уровень плазмин-антиплазминового комплекса был статистически значимо выше в группе многоборья, по сравнению с группой единоборств и скоростно-силовых видов спорта ( $p = 0,008$ ). Статистически значимые различия в уровне PAI-1 обнаружены между циклическими и скоростно-силовыми видами спорта. Уровень PAI-1 был статистически значимо ниже в группе циклических видов спорта, по сравнению с группой скоростно-силовых видов спорта ( $p = 0,005$ ).

Уровень гомоцистеина варьировал в пределах от 3,33 до 50,0 ( $Me = 15,84$ ) мкмоль/л. Уровень гомоцистеина у 50 % спортсменов находился в границах 10,7–19,4 мкмоль/л. При сравнении групп спортсменов, разделенных по видам спорта, и по уровню спортивного мастерства статистически значимых различий в уровне гомоцистеина обнаружено не было.

**Выводы.** Результатом анализа состояния фибринолитической системы у людей с регулярной высокой физической активностью явилось выявление снижения показателей ее активации. По результатам ранее проведенных исследований другими авторами тканевой активатор плазминогена признан маркером, изменяющимся прямо пропорционально интенсивности и длительности физической нагрузки. Вследствие чего наблюдается разбалансированность в работе свертывающей и фибринолитической систем, несущая опасность тромбообразования. Увеличение уровня гомоцистеина среди спортсменов позволяет судить о повышенном риске эндотелиальной дисфункции, что на фоне снижения активности системы фибринолиза представляет опасность развития тромботических осложнений при дальнейшем развитии состояния дистресса. При сравнении фибринолитической актив-

ности крови представителей различных видов спорта наибольшему риску оказа-

лись подвержены скоростно-силовые виды спорта.

**Марусий А. А.<sup>2</sup>, Воробьева Н. А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Северный филиал ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,

<sup>2</sup> ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет Минздрава России», Архангельск

### **ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРИЕМА КОМБИНИРОВАННЫХ ОРАЛЬНЫХ КОНТРАЦЕПТИВОВ И ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ**

**Введение.** Тромбоэмболические осложнения (ТЭО) и образование тромболитического состояния в настоящее время является актуальным вопросом. Тромбоз глубоких вен, ОНМК, ИБС, ТЭЛА — это причины инвалидизации и смертности среди населения. В настоящее время уже много говорят о взаимосвязи приема комбинированных оральных контрацептивов (КОК) и заместительной гормональной терапии (ЗГТ) с повышенной частотой развития ТЭО. Это в первую очередь затрагивает молодых женщин фертильного возраста.

**Цель:** анализ связи приема гормональных контрацептивов с тромботическими событиями.

**Материалы и методы исследования:** Ретроспективный анализ 49 историй болезней. В исследование были включены пациентки, перенесшие ТЭО — ТГВ (n = 21), ТЭЛА (n = 9), ОНМК (n = 5), тромбоз синусов ГМ (n = 4), ТИА (n = 3), ОИМ (n = 1), головная боль напряжения (n = 1) на фоне приема КОК. У 9 женщин было более одного ТЭО одновременно. Оценивались такие показатели как возраст, ИМТ, наличие вредных привычек, генетический профиль.

**Результаты исследований:** В анализ было включено 49 женщин, средний возраст которых составил  $35 \pm 7,4$  года. Средний ИМТ у этих женщин составил  $24,9 \pm 5,8$  кг/м<sup>2</sup>. Наиболее часто встречаемым ТЭО являлся ТГВ — 61,2 % (n = 30) пациенток, локализация слева у 60 % (n = 18), справа — 33,3 % (n = 10), дву-

сторонняя локализация — 6,7 % (n = 2). Анализ показал наличие табакокурения в 14,3 % (n = 7), 10,2 % (n = 5) указывали на наличие авиаперелета накануне развития заболевания.

Из анамнеза отягощенный семейный анамнез имели 55,1 % (n = 27). В полученных результатах генетического исследования у 64,7 % (n = 22) пациенток не было выявлено мутаций по II и V факторам. Гетерозиготная мутация V фактора была обнаружена у 17,6 % (n = 6) пациенток, гетерозиготная мутация II — 11,8 (n = 4), и в 1 случае (2,9 %) была выявлена гомозиготная мутация V фактора. Полиморфизм генов был обнаружен у 70,6 % (n = 24) исследованных женщин, из которых у 38,2 % (n = 13) была выявлен полиморфизм в фолатном обмене. Из 49 пациентов КОК принимали 46 женщин, ЗГТ — 3. Из анализируемых КОК принимали препарат медиана 6 женщин, везантра — 1, джес -2, логест — 4, ярина — 4, жанин — 2, силуэт — 1, белара — 1, диане — 2, линдинет -1, новинет -3, клайра -1, и 27 женщин не смогли вспомнить название препарата. ЗГТ: прогинова -2, климонорм -1. Средний срок приема препаратов составил  $18,7 \pm 25,8$  мес, Мо 12 мес. Примечательно, что 13 женщин не смогли вспомнить как долго они принимали КОК. При этом КОК принимали  $19,2 \pm 28$  мес, Мо 9 мес. ЗГТ принимали  $14 \pm 3,5$  мес, Мо 12 мес.

**Выводы.** Перед назначением приема КОК целесообразно учитывать личный и семейный тромботический анамнез.

**Матвиенко О. Ю., Корсакова Н. Е., Силина Н. Н., Головина О. Г.,  
Ефремова Е. В., Фоминых М. С., Шуваев В. А., Волошин С. В., Папаян Л. П.**

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

## СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПАЦИЕНТОВ С Rh-НЕГАТИВНЫМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

**Введение.** Rh-негативные миелопролиферативные новообразования (МПН), к которым относится истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) и первичный миелофиброз (МФ), представляют собой группу клональных гематологических заболеваний, сопровождающихся опухолевой трансформацией с последующей пролиферацией миелоидных клеток, длительно сохраняющих способность к дифференцировке. МПН имеют общие патогенетические механизмы, связанные с нарушением JAK-STAT сигнального пути. ИП и ЭТ объединяют общие свойства, такие как относительно нормальное созревание клеток и сходство клинических симптомов, при МФ наблюдаются специфические признаки, вызванные фиброзом костного мозга. Вследствие дисбаланса системы гемостаза частыми осложнениями у пациентов с МПН являются как тромбозы, так и кровотечения. Однако стандартные коагуляционные тесты, широко распространенные в клинической практике, зачастую показывают лишь небольшие отклонения от нормы или разнонаправленные изменения. В связи с этим большой интерес представляет использование, у пациентов с различными формами МПН, интегрального теста генерации тромбина (ТГТ), который позволяет оценить баланс про- и антикоагулянтов и получить более полную информацию о наличии риска развития геморрагических и тромботических осложнений.

**Цель.** Исследование состояния системы гемостаза у пациентов с МПН с использованием ТГТ.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 25 пациентов с МПН от 25 до 70 лет, медиана возраста составила 51 год. Все обследованные лица были разделены на 2 группы. В группу № 1 вошли 14 пациентов с ИП и ЭТ, группу № 2 составили 11 пациентов с МФ. Показатели генерации тромбина определяли методом калиброванной автоматизированной тромбографии. По-

становка и анализ результатов ТГТ выполнялись согласно методике, предложенной Nemker H. Исследования проводились в бедной тромбоцитами плазме с добавлением в реакционную смесь тромбомодулина (ТМ) и без такового (ТМ +/-). Добавление в реакционную смесь ТМ позволяет определить чувствительность к ТМ, которая характеризует эффективность работы антикоагулянтной системы протеина С. Определяли следующие показатели: ЕТР (эндогенный тромбиновый потенциал, нМоль\*мин), Реак (пиковое количество тромбина в образце, нМоль), Lag (время инициации свертывания, мин), ТТР (время достижения пика тромбина, мин). Чувствительность к ТМ рассчитывали, как % падения ЕТР и Реак при добавлении ТМ. Для оценки показателей использовали медиану и 95 %<sup>ый</sup> доверительный интервал (Ме; 95 % ДИ). Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . Использовался пакет STATISTIKA 6.

**Результаты.** При оценке параметров ТГТ было выявлено, что у пациентов первой группы эндогенный потенциал тромбина был достоверно выше, чем у пациентов группы № 2 (Ме-1333,67, ДИ: 1135,76–1776,12 против Ме-1107,86, ДИ: 781,6–1626,6, соответственно). Также в первой группе отмечалось значимое укорочение временных параметров, в сравнении с пациентами второй группы: Lag (Ме-3, 55, ДИ: 2, 0–5, 17 против Ме-5, 24, ДИ: 3, 09–7, 59, соответственно) и ТТР (Ме -6, 58, ДИ: 4, 0–9, 1 против Ме-8, 32, ДИ: 5, 67–11, 5, соответственно). Чувствительность к тромбомодулину не имела достоверных различий при сравнении между группами обследованных лиц.

**Выводы.** Полученные результаты могут говорить о том, что у пациентов с ИП и ЭТ, в сравнении с пациентами с МФ, быстрее проходит инициация генерации тромбина, а также выше ее интенсивность, что может быть связано с частотой тромботических осложнений. Полученные результаты требуют дополнительных исследований.

Михалева М. А., Кувшинов А. Ю., Гарифуллин А. Д., Волошин С. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

## ГЕМОРРАГИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С В-КЛЕТОЧНЫМИ ХРОНИЧЕСКИМИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, ПРИНИМАЮЩИХ ИБРУТИНИБ

**Введение.** Появление нового класса таргетных лекарственных препаратов в лечении В-клеточных хронических лимфопролиферативных заболеваний (В-ХЛПЗ) привело к повышению эффективности проводимой терапии и увеличению длительности беспрогрессивной выживаемости у пациентов с данной патологией. Первым из таких препаратов стал ибрутиниб. Ибрутиниб — это низкомолекулярный ингибитор тирозинкиназы Брутона (ТКБ), являющейся компонентом сигнальных путей, начинающихся с пре-В-клеточного и В-клеточного рецепторов. Сигнальный путь В-клеточного рецептора, акцептором которого служит ТКБ, занимает ключевое место в патогенезе В-ХЛПЗ и необходим для миграции В-клеток, их хемотаксиса и адгезии. Также ТКБ участвует в сигнальных путях рецепторов ростовых факторов, рецепторов врожденной иммунной системы, рецепторов коллагена и фактора фон Виллебранда (vWF) в тромбоцитах. Терапия ибрутинибом является высокоэффективной, но связана с побочными эффектами, включая повышенный риск развития серьезных кровотечений. По данным различных авторов частота развития геморрагических осложнений при терапии ибрутинибом достигает до 55%. Недавно появились сообщения о механизмах, задействованных в развитии геморрагических осложнений у данных пациентов: 1) ингибирование молекул сигнального пути трансмембранных рецепторов тромбоцитов (коллагенового рецептора к гликопротеину VI, лектиноподобного рецептора 2 типа С (CLEC-2)); 2) ингибирование связи гликопротеина Ib с vWF; 3) нарушение адгезии тромбоцитов к фибриногену посредством блокировки интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  наружного сигнального пути. Кроме того, развитие геморрагических осложнений связано с ингибированием других киназ: киназы семейства SRC (критическая роль в адгезии тромбоцитов к коллагену), киназы тромбоцитов SFK (происходит ингибирование стабильного образования тромбов).

**Цель.** Оценить частоту встречаемости геморрагических осложнений у пациентов с В-ХЛПЗ, получающих ибрутиниб.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 25 пациентов с В-ХЛПЗ (хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) — 21, мантийноклеточная лимфома (МКЛ) — 4). Период наблюдения 2013–2018 гг. Медиана возраста — 67,4 года (диапазон 47–87). Соотношение мужчины/женщины 1:2,12. Пациенты с ХЛЛ принимали ибрутиниб в дозе 420 мг, а с МКЛ — 560 мг, ежедневно. В монорежиме ибрутиниб получали 15 (60%) пациентов, в составе химиоиммунотерапии — 5 (20%), в комбинации с моноклональными антителами — 5 (20%). До инициации терапии всем пациентам была выполнена скрининговая коагулограмма: индекс АПТВ, протромбиновый тест по Квику, % (ПТТ), МНО, концентрация фибриногена, г/л (КФ), тромбиновое время, сек. (ТВ).

**Результаты.** Длительность приема ибрутиниба — медиана 21 месяц (диапазон 6–56). Семи пациентам (28%) терапия ибрутинибом была прервана в связи с прогрессированием заболевания или смертью от сопутствующей патологии. Показатели коагулограммы перед началом терапии ибрутинибом у всей выборки находились в пределах референсных интервалов: индекс АПТВ — 0,97 (0,79–1,5), ПТТ — 100% (86–117), МНО — 1,0 (0,88–1,99), КФ — 2,11 г/л (1,18–4,27), ТВ — 18,7 сек. (10,6–23,1). Пять пациентов (20%) получали антиагрегантную терапию в связи с необходимостью профилактики тромбоцических осложнений на фоне сердечно-сосудистой патологии. За весь период наблюдения ибрутиниб-ассоциированные геморрагические осложнения зарегистрированы у одной пациентки (4%) в виде петехиально-пятнистых кожных высыпаний I степени. Развитие данного осложнения было отмечено на 2 цикле терапии ибрутинибом после применения нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) по поводу артроза тазобедренных суставов. Геморрагический синдром

появился на 2-е сутки лечения вышеуказанной группой препаратов. Терапия НПВП была отменена, геморрагический синдром постепенно регрессировал и больше не рецидивировал. При этом показатели стандартной коагулограммы находились в пределах нормальных значений.

**Выводы.** Вследствие повышенного риска возникновения геморрагических осложне-

ний у пациентов, получающих ибрутиниб, требуется особый контроль за данной категорией больных. Возможно, более глубокий анализ системы гемостаза позволит определять группы риска развития геморрагических осложнений. Кроме того, данная проблема требует поиска новых высокоселективных ингибиторов В-клеточного сигнального пути с целью минимизации риска кровотечений.

**Момот А. П., Вдовин В. М., Шахматов И. И., Толстокоров И. Г., Орехов Д. А., Шевченко В. О., Лычева Н. А., Красюкова В. О.**

Алтайский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии», г. Барнаул  
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, г. Барнаул

### НЕТРОМБИНОВЫЙ МЕХАНИЗМ ОСТАНОВКИ КРОВОТЕЧЕНИЯ. ДАННЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ «IN VIVO»

**Введение.** Неотложные и экстремальные состояния у человека часто сопровождаются угрожающими для жизни кровотечениями, что ставит задачу совершенствования их профилактики и лечения. Клинической практике доступен широкий спектр лекарственных средств системного гемостатического действия, эффективность которых связана с усилением коагуляционного потенциала крови. Однако их применение сопряжено с риском развития тромботических событий. Учитывая риск таких осложнений, остается актуальным поиск новых системных гемостатиков, более безопасных для пациента, но и не менее эффективных.

**Цель.** Изучить системные гемостатические эффекты фибрин-мономера (ФМ) при его профилактическом внутривенном введении перед дозированной травмой печени в эксперименте, в том числе на фоне гепаринемии.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось на кроликах-самцах породы Шиншилла массой 3–4 кг. В экспериментах использовали ФМ, произведенный фирмой «Технология-Стандарт» (Барнаул) по ранее разработанному способу (патент РФ № 2522237). Принадлежность изучаемого препарата к производным фибриногена устанавливалась по оценке молекулярной массы  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -цепей (методом денатурирующего электрофореза по Laemmli) и методом иммуноблоттинга.

В качестве плацебо применялся 15 % раствор мочевины, соответствующий ее концентрации в растворе ФМ. Для определения лечебной и токсической дозы ФМ раствор ФМ вводили в краевую вену уха в дозах: 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 2,5 и 5,0 мг/кг массы тела, соответствующий объем раствора плацебо, за 1 час до нанесения дозированной травмы печени. Учитывали показатели кровоточивости (температура — в мг/с и объем кровопотери — в % от объема циркулирующей крови) и ряд параметров системы гемостаза, включая оценку уровня D-димера, а также данные гистологических исследований.

Во второй части работы аналогичные исследования проводились у животных при использовании ФМ в дозе 0,25 мг/кг через 20 минут после внутривенного введения нефракционированного гепарина (1,5 мг/кг). В группе сравнения ФМ заменялся на препарат протамина сульфата в дозе, позволяющей связать предварительно введенный гепарин.

**Результаты.** Применение ФМ в дозах 0,25, 2,5 и 5,0 мг/кг на фоне дозированной травмы печени приводило к выраженному снижению кровопотери в 6,3, 7,8 и 2,7 раза, соответственно, в сравнении с плацебо. В то же время у животных, получивших ФМ в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг, концентрация D-димера увеличивалась в 7,0 и 8,0 раз (в сравнении с данными до введения препарата ФМ), что сопутствовало формированию тромбов в паренхиматозных органах и фиксации ги-



бели части животных. У экспериментальных животных, получивших ФМ в дозе 0,25 мг/кг, этот показатель не увеличивался в сравнении с применением плацебо. Эти данные позволили определить терапевтическую дозу ФМ, составившую 0,25 мг/кг, которая и была использована в дальнейших исследованиях. Введение ФМ и протамина сульфата при гепаринемии оказалось примерно одинаково эффективным в плане уменьшения кровопотери. В частности, объем кровопотери снижался при использовании данных гемостатических препаратов в 5,1 и 4,0 раза при применении ФМ и протамина сульфата, соответственно, а темп кровопотери снижался в 1,7 и 1,9 раза. Интересно, что гемостатические эффекты ФМ наблюдались на фоне гепарин-зависимых лабораторных эффектов гемокоагуляции (значительном удлинении активированного парциального тромбопла-

стинового времени — АПТВ и протромбинового времени свертывания).

**Выводы.** Полученный по оригинальной методике ФМ при системном введении в дозе 0,25 мг/кг массы тела продемонстрировал ранее не описанный в литературе гемостатический эффект, как при фоновом гемостатическом потенциале, так и при гипокоагуляции, связанной с введением нефракционированного гепарина. Данный эффект не сопровождался проявлениями внутрисосудистого свертывания крови. Отдельно можно отметить, что гемостатический эффект ФМ имеет место на фоне блокады основного фермента коагуляционного каскада — тромбина, что может предполагать наличие неизвестного ранее не тромбинового механизма свертывания крови, обусловленного действием ФМ, что требует дальнейших исследований в данной области знаний.

**Пешкова А. Д.<sup>1</sup>, Литвинов Р. И.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия;

<sup>2</sup> Пенсильванский университет, г. Филадельфия, США

## **КОНТРАКЦИЯ (РЕТРАКЦИЯ) СГУСТКОВ КРОВИ КАК ЛАБОРАТОРНЫЙ ТЕСТ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР ТРОМБОЗА**

**Введение.** Одной из наименее изученных реакций свертывания крови и тромбообразования является процесс сжатия сгустка крови под действием активированных тромбоцитов, называемый контракцией или ретракцией. До сих пор точно не известно, происходит ли контракция *in vivo* и, если происходит, какое значение имеет контракция сгустков крови и ее нарушения для течения и исходов тромботических состояний.

**Цель.** Определение возможной патогенетической роли нарушений контракции сгустка крови при венозных тромбоэмболических осложнениях (ВТЭО) и остром ишемическом инсульте (ИИ).

**Материалы и методы.** В работе изучена контракция сгустков, образованных *in vitro* в крови 85 пациентов с ИИ и 55 пациентов с ВТЭО, включая 23 пациента с тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА). Контрольную группу составили 60 здоровых доноров. Венозную кровь брали при поступлении пациентов в стационар при условии исключения приема препаратов, влияющих на свертыва-

ние крови и активность тромбоцитов. Параметры контракции сгустков определяли оригинальным методом с использованием «Регистратора Тромбодинамики» компании «Гема-Кор» (Москва). Свертывание цитратной крови и активацию тромбоцитов инициировали добавлением тромбина (1 ЕД/мл) и хлорида кальция (2 мМ) с последующей динамической фоторегистрацией сгустка и программной обработкой изображений. Рассчитывали конечную степень контракции (размер сгустка через 20 мин. в процентах от исходного), среднюю скорость контракции (сжатие сгустка в процентах на единицу времени), лаг-период (время уменьшения сгустка до 95 % от исходного) и площадь над кинетической кривой, которая отражает механическую работу тромбоцитов по деформации сгустка. Функциональное состояние тромбоцитов, изолированных из крови 11 пациентов и 11 доноров, определяли с помощью сканирующей электронной микроскопии (образование филоподий и агрегатов) и проточной цитометрии (экспрессия Р-селектина и активного

интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta 3$  по способности связывать фибриноген) до и после активации тромбиновым рецепторным гексапептидом (TRAP).

**Результаты.** По сравнению с кровью здоровых доноров, способность к контракции сгустков в крови пациентов с ВТЭО и ИИ оказалась достоверно снижена по всем исследованным параметрам. Об этом свидетельствуют снижение средней степени контракции у пациентов с ВТЭО до 32 % ( $p < 0,0001$ ) и у ИИ до 23 % ( $p < 0,0001$ ) при норме 51 %, а также уменьшение средней скорости контракции у пациентов с ВТЭО до 0,026 %/сек. ( $p < 0,0001$ ) и у пациентов с ИИ до 0,019 %/сек. ( $p < 0,0001$ ) при норме 0,041 %/сек. Помимо этого, наблюдалось удлинение среднего лаг-периода при ВТЭО до 194 сек. ( $p < 0,0001$ ), а при ИИ — до 243 сек. ( $p < 0,0001$ ) при норме 74 сек., а также снижение средней площади над кинетической кривой у пациентов с ВТЭО до 228 отн. ед. ( $p < 0,0001$ ), а при ИИ до 162 отн. ед. ( $p < 0,0001$ ) при норме 420 отн. ед. У пациентов с ТЭЛА контракция была достоверно угнетена по сравнению с изолированным венозным тромбозом. Наиболее вероятным механизмом снижения контракции при ВТЭО и ИИ является дисфункция тромбоцитов, вызванная их хронической гиперактивацией. Действительно, доля тромбоцитов с морфологическими признаками «спонтанной» активации была достоверно больше у пациентов с ВТЭО (75 %,  $p < 0,0001$ ) и с ИИ (34 %,  $p < 0,0001$ ) по сравнению со здоровыми донорами (9 %). Кроме того, у пациентов с ИИ доля «спонтанно» активированных тромбо-

цитов по уровню экспрессии Р-селектина была также выше 10 % по сравнению с донорами (3 %,  $p < 0,05$ ). На фоне естественной преактивации, реакция тромбоцитов из крови больных с ВТЭО и ИИ на стимуляцию под действием TRAP была ослаблена. После обработки TRAP у пациентов средняя доля тромбоцитов, экспрессирующих Р-селектин, при ВТЭО составляла 30 % ( $p < 0,05$ ), а при ИИ — 71 % ( $p < 0,01$ ), что достоверно меньше по сравнению с тромбоцитами здоровых доноров (84 %). Активация интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta 3$  в ответ на стимуляцию тромбоцитов также была существенно снижена при ИИ и ВТЭО [43 % ( $p < 0,001$ ) и 41 % ( $p < 0,05$ ) фибриноген-связывающих клеток, соответственно] по сравнению с TRAP-активированными клетками в контроле (60 %).

**Выводы.** Нарушение контракции сгустков крови у пациентов с ВТЭО и с ИИ обусловлено рефрактерностью тромбоцитов вследствие хронической гиперактивации. Контракция сгустков и тромбов при ВТЭО и ИИ может иметь патогенетическое значение как модулятор тромботической окклюзии сосудов и нарушения кровотока. Кроме того, снижение контракции коррелирует с эмбологенностью тромбов. Полученные данные позволяют рассматривать контракцию сгустков как лабораторный тест для оценки сократительной функции тромбоцитов, а нарушение контракции — как диагностический и/или прогностический критерий тромбоза и тромбоземболии.

*Сергеева Л. Г., Игнатъев С. В., Лянгузов А. В., Калинина С. Л.,  
Максимов О. Д., Тимофеева М. А., Целоусова О. М.*

*ФГБУ «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», Киров*

## РЕЗУЛЬТАТЫ МОНИТОРИНГА КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫХ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

**Введение.** По данным литературы, идиопатические венозные тромбозы у детей встречаются с частотой 0,07–0,14 случаев на 10 000 детей в год или 5,3 — на 10000 госпитализаций. Венозные тромбоземболические осложнения (ВТЭО) развиваются при вторичных окклюзиях вен, возникающих на фоне травм, при обширных хирургиче-

ских вмешательствах, септических состояниях, злокачественных новообразованиях и заместительной гормональной терапии. Риск ВТЭО значительно возрастает при ожирении, при постельном режиме более 72 часов, при отеке нижних конечностей и при наличии центрального венозного катетера (ЦВК).

При гемобластозах симптоматические венозные тромбозы встречаются у 1,1–36,5 % пациентов, асимптоматические — у 16–70 %. Чаще всего ВТЭО возникают в первые 3 мес. от момента постановки диагноза и начала терапии. В этот период пациенты получают агрессивную химиотерапию: глюкокортикоиды, аспарагиназу, антракциклины и другие химиопрепараты, которые приводят к снижению естественных антикоагулянтов. Одновременно происходит распад опухолевых клеток с выделением различных прокоагулянтных субстанций, что сопровождается гиперкоагуляцией и развитием протромботического состояния, которое при наличии пускового фактора, например, ЦВК, может реализоваться в ВТЭО, что подтверждается данными литературы — у больных злокачественными новообразованиями тромбозы, ассоциированные с ЦВК, возникают в 10 раз чаще, чем у пациентов с другой нозологией.

**Цель исследования.** Установить частоту встречаемости тромботических осложнений у детей больных гемобластозами после катетеризации центральных вен.

**Материалы и методы.** В детском отделении гематологии и химиотерапии ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России за 2017 г. комплексную полихимиотерапию получили 64 пациента с гемобластозами в возрасте от 6 мес. до 18 лет, медиана возраста — 6 лет. Всем больным для проведения полихимиотерапии был установлен ЦВК либо имплантирована порт-система. Всего за год проведено 160 катетеризаций, из них 150 — ЦВК и 10 — порт-систем. 105 (65,6 %) катетеризаций центральной вены выполнено у больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), 13 (8,1 %) — острым миелобластным лейкозом (ОМЛ), 2 (1,3 %) — хроническим миеломоноцитарным лейкозом (ХММЛ), 23 (14,4 %) — лимфомой Ходжкина (ЛХ), 8 (5 %) — лимфомой Беркитта и 9 (5,6 %) — неходжкинскими лимфомами (НХЛ).

Всем пациентам через неделю после постановки катетера провели ультразвуковое дуплексное сканирование центральных вен.

Продолжительность катетеризации до удаления ЦВК — от 7 до 290 дней, медиана 27 дней. Диагностика ВТЭО проводилась на основании клинической симптоматики — отека, болезненности в области катетера и по ходу сосудистого пучка, усиления сосудистого рисунка поверхностных вен, нарушения функции катетера и результатов дуплексного сканирования вен.

**Результаты.** При дуплексном сканировании через 7 суток после установки ЦВК ни у одного пациента не выявлено нарушения проходимости центральных вен. В 2 (1,3 %) случаях установлено развитие катетер-ассоциированных тромботических осложнений, которые не сопровождались клиническими признаками. ВТЭО диагностированы при удалении катетера вследствие нарушения его функций, обнаружения в просвете и на стенке ЦВК наложений тромботических масс. В первом — у пациентки С. 13 лет, диагноз НХЛ, после 11 введений аспарагиназы по программе NHL-BFM-90, тромботическое осложнение развилось через 1,5 мес. после установки ЦВК. Во втором — у пациентки М., 4-х лет, диагноз ОЛЛ, после лечения по протоколу UKALL 2011 Trial венозный тромбоз диагностирован через год после катетеризации внутренней яремной вены многопросветным катетером типа Broviac.

**Выводы.** В течение первых 7 суток после катетеризации центральной вены у детей с гемобластозами, получающих химиотерапию, тромботических осложнений не выявлено. В 2 (1,3 %) случаях ВТЭО возникло в поздние сроки. Отсутствие клинической симптоматики при ВТЭО свидетельствует о локальности процесса без нарушения проходимости и сужения просвета вены. Развитие жизнеугрожающих состояний, например, тромбоэмболии легочной артерии или синдрома верхней полой вены, у пациентов с ЦВК больных гемобластозами свидетельствует об актуальности проблемы и необходимости поиска новых подходов к диагностике и тактике ведения данных пациентов.

Силина Н. Н., Матвиенко О. Ю., Головина О. Г., Папаян Л. П.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

## ТЕСТ ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА У ПАЦИЕНТОВ С ДЕФИЦИТОМ ФАКТОРА XII

**Введение.** Как известно, у пациентов с тромботическими проявлениями значительно повышается не только коагуляционный потенциал плазмы крови, но и изменяются показатели, характеризующие систему фибринолиза. Время Хагеман-зависимого лизиса эуглобулиновой фракции плазмы, как правило, увеличивается, отражая недостаточность фибринолиза относительно реакций коагуляции в сторону последних. Известно, что одна из основных биологических функций фактора XII состоит в активации калликреин-кининовой системы. Результатом этого является образование калликреина и брадикинина, способствующих, соответственно, превращению проурокиназы в урокиназу, а также выбросу тканевого активатора пламиногена клетками эндотелия. В связи с этим дефицит фактора XII может отражаться на активации калликреин-кининовой системы, что может усугубить дисбаланс коагуляции и фибринолиза и оказать непосредственное влияние на уровень генерации тромбина. Таким образом, у данной категории пациентов может быть перспективным использование интегрального теста генерации тромбина для оценки состояния системы гемостаза.

**Цель.** Оценить особенности состояния системы гемостаза у пациентов с дефицитом фактора XII с использованием теста генерации тромбина (ТГТ).

**Материалы и методы.** Было обследовано 14 пациентов с дефицитом фактора XII, имеющих тромботические осложнения в возрасте от 24 до 72 лет (Медиана — 37,5). В группу контроля вошел 21 здоровый человек в возрасте от 20 до 61 года (Медиана — 31,5). Активность фактора XII (%) определяли на коагулометре «ACL TOP 300», Instrumentation Laboratory, USA, время Хагеман-зависимого

лизиса эуглобулиновой фракции плазмы (XIIa-ЗЭЛ, мин) с реагентами фирмы «РЕНАМ», Москва. Постановка ТГТ выполнялись согласно методике, предложенной Hemker H. в 2003 году. Рассчитывались такие показатели как ЕТР (эндогенный тромбиновый потенциал, нМоль\*мин), Peak thrombin (пиковое количество тромбина в образце, Peak, нМоль), lag-time (LT, min) и время достижения пика (ТТР, min). Для оценки показателей использовали такие статистические параметры как медиана и 95 % доверительный интервал (Me; 95 % ДИ). Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . Использовался пакет STATISTICA 6.

**Результаты.** Активность фактора XII у исследуемых пациентов была достоверно ниже, чем в контрольной группе (30,65 % (0,36–74,2 %) против 110,00 % (75,70–151,50 %) соответственно), а время XIIa-ЗЭЛ значимо удлинено (11,00 мин (5,30–31,00 мин) против 5,33 мин (4,15–7,33 мин) соответственно). При сравнении результатов ТГТ у пациентов с дефицитом фактора XII и контрольной группой выявлены следующие изменения: показатели LT и ТТР были выше в исследуемой группе (3,42 min (2,31–7,36 min) и 6,93 min (4,78–14,5 min) соответственно) по сравнению с контролем (3,00 min (2,00–4,00 min) и 6,00 min (4,16–8,00 min) соответственно);  $p < 0,05$ , а ЕТР и Peak не претерпевали статистически значимых изменений.

**Выводы.** У пациентов с дефицитом фактора XII выявлено значительное увеличение времени XIIa-ЗЭЛ и временных параметров ТГТ, таких как LT и ТТР. Полученные результаты могут свидетельствовать о замедленной инициации генерации тромбина вследствие нарушений в системе контактной активации.

**Шелковникова Т. В.<sup>1</sup>, Кацадзе Ю. Л.<sup>2</sup>, Вавин Г. В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Кемеровская областная клиническая офтальмологическая больница, Кемерово

<sup>2</sup> ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Кемеровский государственный медицинский университет, Кемерово

## **ВОЛЧАНОЧНЫЙ АНТИКОАГУЛЯНТ, ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С МАКУЛЯРНЫМ ОТЕКОМ НА ФОНЕ ОККЛЮЗИИ ВЕН СЕТЧАТКИ**

**Введение.** Наибольшее значение в патогенезе окклюзии вен сетчатки (ОВС) имеет эндотелиальная дисфункция, приводящая к локальному или общему нарушению физиологической функции эндотелия, лежащей в основе повышенной проницаемости сосудистой стенки. Макулярный отек (МО) является основным и практически постоянным клиническим признаком ОВС. По данным литературы у 18 % — 41 % пациентов с окклюзией ветви центральной вены сетчатки (ЦВС) в течение первых трех месяцев происходит полная резорбция МО, но примерно в 15 % случаев он сохраняется более года. Длительное существование отека сетчатки способствует повреждению капилляров, поддержанию высокого уровня ретинальной ишемии, что способствует выработке васкулярного эндотелиального фактора роста (ВЭФР) и воспалительных цитокинов. Кроме того, получены доказательства участия антифосфолипидных антител (АФА) и патологического эндогенного ингибитора тромбиногенеза волчаночного антикоагулянта (ВА). Приводятся данные об обнаружении АФА у 13,5 % пациентов с тромбозом ЦВС (Adamczuk Y. P., 2002 г.). Однако, патогенез развития ОВС ассоциированных с АФА, уточняется, а данных об уровне ВЭФР в сочетании с ВА в доступной литературе найти не удалось. Недостаточно изучены особенности клинико-лабораторных проявлений нарушений в системе гемостаза при сосудистой патологии сетчатки, соответственно отсутствуют четкие указания для проведения профилактики и лечения таких больных.

**Цель.** Изучить некоторые лабораторные маркеры нарушений в системе гемостаза и эндотелиальной дисфункции (АТ III, фВ, фVIII, ПС, ВЭФР), а также динамику морфометрических параметров макулярного отека у пациентов с ОВС на фоне диагностированного ВА.

**Материалы и методы.** Исследовано 127 пациентов (132 глаза) с окклюзией вен сетчатки (ОВС). Мужчины — 51 чел., женщины —

76 чел., среди них 5 пациентов с поражением двух глаз. Из них у 74 человек (60 %) окклюзия ветвей ЦВС и у 53 человек (40 %) — тромбоз ЦВС. Все пациенты разделены на 2 группы с ВА (30 чел.) и без ВА (97 чел.). Контрольная группа здоровых 30 чел. В динамике заболевания проводилось офтальмологическое инструментальное обследование и лечение по авторскому патенту.

Исследования системы гемостаза проводились методами автоматизированной коагулометрии, определение активности фВ, антитромбина III (АТIII), АПС, фVIII, фВ в цитратной плазме пациентов 2-х групп и контрольной. Выявление ВА проводилось с использованием ядовитых тестов, а также подтверждающими тестами с плазмой донора и корригирующими фосфолипидами, повторное исследование ВА, через 6 недель. Исследование сыворотки крови пациентов на ВЭФР — методом иммуноферментного анализа (ИФА).

**Результаты.** ВА нами выявлен у 30 пациентов (в 23,6 % случаев). У всех больных с ВА и МО отмечается повышение активности компонентов системы гемостаза по сравнению с нормой и толщины сетчатки в макуле, соответственно: фВ — на 17,6 %, VIII ф — на 43,5 %, ПС — на 20 %, ВЭФР на 78,1 %; толщина сетчатки увеличена в среднем в 4,1 раза. Присутствие ВА является результатом системного аутоиммунного процесса, который клинически проявляется воспалением в сосудистой стенке с локальными тромбозами, с геморрагиями, ватообразными очагами в сетчатке на фоне повышения уровня фибриногена на 31,2 %; и снижением активности ПС (по сравнению с больными с ОВС без ВА), возможно, вследствие потребления ПС. Тромбогеморрагический синдром сопровождается диффузным персистирующим кистозным макулярным отеком (средняя толщина сетчатки в фовеа  $670 \pm 19$  мкм), с субфовеальной отслойкой нейроэпителлия сетчатки (ОНЭС) и ЭРМ (эпиретинальная мембрана) встречались в 50 % случаев.

**Выводы.** Присутствие ВА в крови в 23,6 % случаев у пациентов с ОВС, усиливает тромбогенную опасность и способствует локальному тромбогеморрагическому синдрому с персистирующим высоким кистозным МО и ОНЭС в 50 % случаев. ОВС с ВА и без ВА протекают с повышением уровня цитокина ВЭФР, что свидетельствует об ишемическом и вос-

палительном компоненте в сосудистой стенке у всех исследуемых пациентов. Пациенты с ОВС нуждаются в офтальмологическом и в лабораторном мониторинге с применением комплексной патогенетической терапии, включающей антикоагулянты, дезагреганты, НПВС, дискретный плазмаферез.

Щапков А. А.<sup>2</sup>, Мельничук Е. Ю.<sup>2</sup>, Воробьева Н. А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Северный филиал ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,

<sup>2</sup> ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет Минздрава России», Архангельск

## К ВОПРОСУ ИЗБЫТОЧНОЙ ГИПОКОАГУЛЯЦИИ АНТАГОНИСТАМИ ВИТАМИНА К

**Введение.** Продленная терапия антагонистами витамина К часто приводит к развитию чрезмерной гипокоагуляции (повышению показателя международного нормализованного отношения более 3,0). Целью нашего исследования явился анализ случаев передозировки варфарина у пациентов, наблюдающихся в антикоагулянтном кабинете ГБУЗ АО «Первая городская клиническая больница им. Е. Е. Волосевич» г. Архангельска в период 2011–2014 гг.

**Материалы и методы.** Ретроспективное исследование. Проанализированы данные регистра пациентов, принимающих и контролируемых варфарин в антитромботическом кабинете ГБУЗ АО «Первая городская клиническая больница им. Е. Е. Волосевич» г. Архангельска (n = 2230). Было зарегистрировано 177 случаев передозировки варфарина в период с 2011 г. по 2014 г. Средний возраст пациентов составил  $69,3 \pm 12,0$  года, женщины составили 55,0 % [47,5–62,1], n = 95, мужчины — 44,5 % [37,3–52,0], n = 78.

Для статистической обработки данных использовались программа SPSS20,0 версия и калькулятор MedCalc. Большинство данных были номинальными и представлены в виде доли с 95 % доверительным интервалом (ДИ). Для анализа качественных данных использовался тест  $\chi^2$  Пирсона, рассчитывалось отношение шансов и 95 % ДИ для сопутствующей терапии.

**Результаты исследования.** Кровотечения на фоне терапии варфарином развились у 4,2 % [3,5–5,1], n = 94 пациентов. Большинство пациентов с чрезмерной гипокоагуляцией принимали варфарин по поводу наличия фибрилляции предсердий — 38,4 % [31,6–46,0], n = 68, протезированных клапанов сердца — 36,7 % [30,0–44,0], n = 65, тромбоза глубоких вен — 24,3 % [18,6–31,1], n = 43. Сопутствующее нарушение функции печени отмечено у 3,0 % пациентов [1,2–6,4], n = 5, нарушение функции почек у 4,1 % [1,9–8,0], n = 7, что по общепринятым представлениям также повышает риск кровотечений и передозировок варфарина.

Нами была оценена сопутствующая терапия и её влияние на риск развития передозировок варфарина. Пациентам назначались  $\beta$ -блокаторы (13,3 % [9,0–19,2], n = 23,  $\chi^2 = 0,1$ , p = 0,745; ОШ 0,88 [0,3–3,0]), ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента — 9,3 % [5,8–14,5], n = 16,  $\chi^2 = 1,8$ , p = 0,178; ОШ 1,095 [0,3–1,2]) и статины — 7,0 % [4,0–11,7], n = 12,  $\chi^2 = 1,4$ , p = 0,240; ОШ 0,7 [0,3 1,3]).

**Выводы.** Кровотечения на фоне чрезмерной гипокоагуляции возникали в 4,2 % случаях, преобладали пациенты с фибрилляцией предсердий (38,4 %) и протезированными клапанами сердца (36,7 %). Однако мы не выявили статистически значимого влияния сопутствующей терапии на риск развития передозировок варфарина.

Щапков А. А.<sup>1</sup>, Мельничук Е. Ю.<sup>1</sup>, Воробьёва Н. А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Северный филиал ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,

<sup>2</sup> ФГБУ ВО «Северный государственный медицинский университет Минздрава России», Архангельск

## ОЦЕНКА ПРИЧИН ГЕМОРРАГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ НА ФОНЕ ПРОДЛЕННОЙ АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ ТЕРАПИИ

**Введение.** В настоящее время для профилактики тромбоземболических состояний в клинической практике широко используются антагонисты витамина К (АВК), в частности варфарин, и «новые» прямые пероральные антикоагулянты (НОАК). Продленная антикоагулянтная терапия (АКТ) повышает риск возникновения геморрагических осложнений. Развитие серьезного кровотечения у пациентов, принимающих пероральные антикоагулянты (ОАК), может вызвать не только их передозировка, но и сопутствующие заболевания.

**Цель исследования:** анализ причин развития геморрагических осложнений на фоне продленной антитромботической терапии у пациентов, принимающих пероральные антикоагулянты.

**Материалы и методы.** В ретроспективное исследование включен анализ историй болезни 33 пациентов с геморрагическими неврологическими осложнениями на фоне терапии ОАК, госпитализированных в ГБУЗ АО «Первая городская клиническая больница им. Е. Е. Волосевич» г. Архангельска в период июнь-декабрь 2016 года. Изучалось наличие факторов, приводящих к осложнениям, исходы осложнений и их частота, проводился сбор и анализ данных о препарате, показаниях для назначения АКТ, сопутствующих заболеваниях, уровне МНО и АД при госпитализации.

**Результаты.** В окончательный анализ вошли 33 пациента (15 женщин и 18 мужчин), в возрасте Me = 66 [49; 83] лет, госпитализированных с диагнозом «геморрагический инсульт/внутричерепное кровотечение» на фоне продленной антикоагулянтной терапии. Диагноз был подтвержден клинически и по данным компьютерной томографии. Летальный исход отмечен у 45,45 % (n = 15) пациентов. Варфарин принимали 30 пациентов (90,9 %), НОАК — 3 пациента (9,1 %), из них 2 пациента принимали Эликвис (Апиксабан), один пациент — Ксарелто (Ривароксбан).

Показаниями для назначения ОАК в исследуемой группе являлись: фибрилляция

предсердий (ФП) — 69,7 % (n = 23), протез клапанов сердца — 15,15 % (n = 5), тромбоз глубоких вен или посттромбофлебитический синдром (ТГВ/ ПТФС) — 9,1 % (n = 3), тромбоземболия лёгочной артерии (ТЭЛА) — 3,0 % (n = 1), тромбоз артерий — 3,0 % (n = 1).

Анализ показал, что большая часть пациентов не посещала школу Варфаринотерапии и у них отсутствовала приверженность к данному виду терапии — 63,6 % (n = 21). Сопутствующие заболевания, такие как: анемия, патология щитовидной железы, нарушения функции почек или печени, влияющие на эффекты ОАК, были обнаружены у 48,5 % пациентов (n = 16). Так, нарушение функции почек было выявлено у 33,3 % (n = 11) от общего числа пациентов, но, важно заметить, только у 2-х пациентов данная патология была учтена при назначении ОАК. Нарушение функции печени отмечено в 21,2 % (n = 7), которая была учтена только у одного пациента, анемия — в 21,2 % (n = 7); патология щитовидной железы — 9,1 % (n = 3) пациентов. Важно отметить, что 93,9 % пациентов имели артериальную гипертензию (АГ), (у 90,9 % диагностирована АГ 3 степени), которая является основной причиной геморрагического инсульта. На момент госпитализации значение МНО 3,5–4,0 было зарегистрировано у 9,8 % (n = 3) пациентов, МНО больше 4,0 — у 18,8 % (n = 6), что свидетельствовало о чрезмерном уровне медикаментозной гипокоагуляции.

**Выводы.** На основании литературных данных, причинами, способствующими развитию геморрагического осложнения на фоне антикоагулянтной терапии, являются превышение показателя МНО более 3,5, сопутствующая патология печени, почек, щитовидной железы и неконтролируемая артериальная гипертензия. Данные факторы имели место в анамнезе изученной группы пациентов, с развившимся серьезным геморрагическим осложнением — кровотечением при продлении антикоагулянтной терапии.

Шилова Е. Р., Морозова Т. В., Кобилянская В. А.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

## ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ В ТРОМБОЦИТАРНОМ ЗВЕНЕ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ

**Введение.** Одним из основных клинических проявлений при апластической анемии (АА) является геморрагический синдром, обусловленный депрессией кроветворения и закономерно сопровождающей его тромбоцитопенией. Изменения в системе свёртывания у таких больных обычно носят компенсаторный характер, что позволяет даже при глубокой тромбоцитопении предотвращать тяжёлые геморрагические осложнения у значительной части пациентов. У отдельных больных АА при умеренно выраженной тромбоцитопении может наблюдаться склонность к тромбозам и тромбозамболиям и описания таких случаев встречаются в научной литературе. Причём сама по себе группа больных АА неоднородна не только по тяжести течения, но и по особенностям патогенеза заболевания. Так, более чем у половины больных данной группы при использовании современных методов диагностики может выявляться АА, ассоциированная с пароксизмальной ночной гемоглобинурией — фенотипом клеток, для которого характерны нарушения в системе свёртывания, способствующие повышенному тромбообразованию. В связи с этим исследование особенностей изменений в системе гемостаза, в частности его тромбоцитарного звена, представляет интерес.

**Цель.** Оценить индуцированную агрегацию тромбоцитов с различными агрегирующими агентами у пациентов, страдающих АА.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служила венозная кровь 12 пациентов (7 женщин и 5 мужчин, средний возраст составил  $38 \pm 0,5$ ), с установленным диагнозом апластическая анемия. Индуцированная агрегация тромбоцитов исследова-

лась на оптическом агрегометре Solar и AT-02 в богатой тромбоцитами цитратной плазме (соотношение 4:1). В качестве индукторов использовались: раствор АДФ в концентрации 1мкМ, вызывающий обратимую агрегацию; АДФ в концентрации 5мкМ для характеристики реакции высвобождения; раствор коллагена в концентрации 2мкг/мл; раствор ристомидина в концентрации 1мг/мл. Оценка агрегации проводилась по максимальной амплитуде (МА) первичной и вторичной волн агрегации (Одесская Т. А., 1974; Шитикова А. С., 1984). Контрольную группу составили 40 клинически здоровых женщин и мужчин.

**Результаты.** Исследования проведены в основном однократно и на фоне сниженного числа тромбоцитов в плазме. Колебания составляли от  $90$  до  $170 \times 10^9$ /л, лишь у 4 из 12 обследованных число тромбоцитов достигало нормальных значений ( $180$ – $235 \times 10^9$ /л). Показатели функциональной активности тромбоцитов были снижены у 5 пациентов при исследовании с коллагеном, у 3 при записи с АДФ в дозе 5мкМ и ристомидином. Однако у 4 больных, обследованных в динамике (3 раза), агрегация с коллагеном, АДФ и ристомидином была повышена.

**Выводы.** Выявлены разнонаправленные изменения при исследовании тромбоцитарного звена гемостаза, направленные как в сторону гипо-, так и в сторону гиперагрегации тромбоцитов. Немногочисленность исследованной группы не позволяет в настоящее время сделать определенные выводы, но показывает неоднородность изменений агрегационной функции тромбоцитов при АА, что диктует необходимость дальнейших исследований в этом направлении.