

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

# **ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ**

**THE BULLETIN OF HEMATOLOGY**

**Том XVI № 1 2020**

Ежеквартальный научно-практический журнал  
Основан в сентябре 2004 года

**Главный редактор**

Доктор медицинских наук  
профессор  
*С. С. Бессмельцев*

Санкт-Петербург  
2020

## 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;*  
*О. А. Рукавицын; В. Н. Чеботкевич, С. В. Грицаев.*

## Редакционный совет:

*Б. В. Афанасьев* (Санкт-Петербург); *В. В. Базарный* (Екатеринбург);  
*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*

18 +

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.  
Свидетельство о регистрации ПИ № 2-7271 от 28 мая 2004 г.  
Подписано в печать 20.03.2020 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.  
Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 89.

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

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

© Вестник гематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, 2020

## СОДЕРЖАНИЕ

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ:

<i>Голенков А. К., Бессмельцев С. С.</i> КОНЦЕПЦИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ГЕМАТОЛОГИИ, ИНТЕГРИРОВАННЫХ В РЕАЛЬНУЮ ПРАКТИКУ .....	6
<i>Семенова Н. Ю., Чубарь А. В., Енукашвили Н. И., Кострома И. И., Жернякова А. А., Артюхина З. Е., Ругаль В. И., Иволгин Д. А., Грицаев С. В., Чететкин А. В., Бессмельцев С. С.</i> ПЕРЕСТРОЙКА КЛЮЧЕВЫХ ЭЛЕМЕНТОВ СТРОМАЛЬНОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ .....	15
<i>Чубукина Ж. В., Глазанова Т. В., Кострома И. И., Жернякова А. А., Грицаев С. В., Бессмельцев С. С.</i> ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА В ПРОЦЕССЕ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ .....	22
<i>Булдаков И. А., Полушкина Л. Б., Шуваев В. А., Самородова А. П., Фоминых М. С., Бессмельцев С. С., Чететкин А. В., Волошин С. В., Мартынкевич И. С.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ (NGS) ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С МИЕЛОИДНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ .....	28
<i>Игнатъева Е. В., Чернецов В. А., Рукавицын О. А.</i> КОМОРБИДНОСТЬ У БОЛЬНЫХ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ .....	33
<i>Шилова Е. Р., Романенко Н. А., Жигулева Л. Ю.</i> ПРИЧИНЫ И УСЛОВИЯ ОБРАЩАЕМОСТИ К ВРАЧУ-ГЕМАТОЛОГУ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ ЧАСТНОЙ СИСТЕМЫ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ .....	38
Памяти товарища .....	44

### ORIGINAL:

<i>Golenkov A. K., Bessmeltsev S. S.</i> THE CONCEPT OF CLINICAL TRIALS IN HEMATOLOGY INTEGRATED INTO REAL PRACTICE .....	6
<i>Semenova N. Yu., Chubar A. V., Enukashvili N. I., Kostroma I. I., Zhernyakova A. A., Artyukhina Z. E., Rugal V. I., Ivolgin D. A., Gritsaev S. V., Chechetkin A. V., Bessmeltsev S. S.</i> RECONSTRUCTION OF KEY ELEMENTS OF THE STROMAL MICROENVIRONMENT OF THE BONE MARROW IN MULTIPLE MYELOMA .....	15
<i>Chubukina Zh. V., Glazanova T. V., Kostroma I. I., Zhernyakova A. A., Gritsaev S. V., Bessmeltsev S. S.</i> DYNAMICS OF CELLULAR IMMUNITY PARAMETERS DURING AUTOLOGOUS HEMOPOETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA .....	22
<i>Buldakov I. A., Polushkina L. B., Shuvaev V. A., Samorodova A. P., Fominykh M. S., Bessmeltsev S. S., Chechetkin A. V., Voloshin S. V., Martinkevich I. S.</i> USE OF THE NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) FOR THE DIAGNOSTICS OF PATIENTS WITH MYELOID NEOPLASMS .....	28
<i>Ignatyeva E. V., Tchernetsov V. A., Rukavitsyn O. A.</i> CO-MORBIDITY IN PATIENTS WITH LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS: OVERVIEW AND OWN DATA .....	33
<i>Shilova E. R., Romanenko N. A., Zhiguleva L. Y.</i> REASONS AND CONDITIONS FOR A CONSULTATION WITH A HEMATOLOGIST IN MEDICAL ORGANIZATIONS PRIVATE HEALTHCARE SYSTEM .....	38

**ОБРАЩЕНИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА****УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ, ДОРОГИЕ ЧИТАТЕЛИ!**

Начался новый 2020 год. Перед вами первый номер журнала «Вестник гематологии», посвященный, как всегда, актуальным вопросам гематологии.

В 2020 году мы будем продолжать анализировать широкий круг актуальных проблем гематологии, включая самые различные заболевания системы крови.

Хочу напомнить, что журнал «Вестник гематологии» публикует оригинальные и фундаментальные исследования, лекции, обзоры и клинические наблюдения, касающиеся различных разделов гематологии, гемостазиологии и трансфузиологии: физиология и патофизиология кроветворения, миелопоэза, иммуногематологии, врожденные и приобретенные нарушения коагуляции и фибринолиза, тромбофилии, вопросы терапии антикоагулянтами и дезагрегантами, вопросы онкогематологии, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, генной терапии, эпидемиологические исследования при заболеваниях системы крови, интенсивная терапия критических состояний, возникающих при заболеваниях системы крови.

Журнал адресован гематологам, трансфузиологам, врачам-лаборантам, терапевтам, хирургам, педиатрам, анестезиологам, реаниматологам, а также физиологам, патофизиологам, патологам, иммунологам, биологам и профессионалам смежных специальностей.

Журнал 24 часа в сутки доступен по адресу [www.bloodscience.ru](http://www.bloodscience.ru)

Данный выпуск журнала открывается статьей А. К. Голенкова и С. С. Бессмельцева, в которой проведен сравнительный анализ эффективности лекарственных препаратов по результатам многоцентровых клинических исследований и собственных опубликованных данных, полученных на основе исследований в реальной клинической практике. В статье подчеркивается, что важным является вопрос о том, насколько результаты клинических исследований могут соответствовать реальной клинической практике с точки зрения их точной воспроизводимости. Сравнение результатов собственных проспективных исследований, проведенных в реальной клинической практике по эффективности лечения бортезоми-

бом больных с рецидивами/рефрактерными формами ММ и аналогичных рандомизированных исследований, позволило выявить некоторые различия. Авторами сформулирована концепция клинических исследований, реализуемых в модели, интегрированной в реальную клиническую практику.

Традиционно в 1 номере журнала публикуем работу о роли стромального микроокружения костного мозга в патогенезе гематологических опухолей. Этой проблемой активно занимался руководитель лаборатории по изучению лейкозов ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России профессор В. И. Ругаль, к сожалению, трагически погибший в октябре 2019 г. Он был инициатором данного исследования, поэтому статья, посвященная особенностям стромального микроокружения костного мозга у больных множественной миеломой (Н. Ю. Семенов и соавт.) подготовлена с его участием. В данном номере мы вспоминаем нашего товарища.

Целью исследования Чубукиной Ж. В. и соавт. была комплексная оценка состояния клеточного звена иммунитета у больных множественной миеломой до и после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Авторами установлено, что после высокодозной химиотерапии и аутоТГСК больные ММ остаются длительное время иммунокомпromетированными. Это свидетельствует о недостаточности гуморального звена иммунитета у пациентов и может способствовать развитию инфекционных осложнений у больных ММ после аутоТГСК.

Оригинальная статья Булдакова И. А. и соавт. посвящена методу секвенирования следующего поколения (NGS). В исследование вошли пациенты с миелопролиферативными новообразованиями. Продемонстрирована возможность при использовании метода NGS в сложных диагностических случаях подтвердить клональную природу заболевания, что может послужить основой для разработки более точных прогностических систем стратификации рисков у больных миелопролиферативными новообразованиями.

Актуальной проблемой на сегодняшний день остается влияние коморбидности на клиническое течение основного заболевания,

на прогноз для жизни. Как установлено, сопутствующая патология существенно увеличивает вероятность летального исхода. Игнатьева Е. В. с соавт. в статье, посвященной этой проблеме, приводят и литературные данные и, что более важно, результаты собственных исследований.

Шиловой Е. Р. и соавт. проведен анализ причин обращаемости 200 взрослых лиц в 2 независимых медицинских центра. По их данным ведущей причиной обращений была анемия,

чаще всего — железодефицитная. Подробности вы найдете в статье, представленной в номере журнала.

Желаю всем авторам и читателям журнала творческих успехов в научных исследованиях и новых свершений в гематологии!

*С уважением*  
**Главный редактор журнала,**  
**доктор медицинских наук, профессор**  
**С. С. БЕССМЕЛЬЦЕВ**

Голенков А. К.<sup>1</sup>, Бессмельцев С. С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, г Москва  
<sup>2</sup> ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

## КОНЦЕПЦИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ГЕМАТОЛОГИИ, ИНТЕГРИРОВАННЫХ В РЕАЛЬНУЮ ПРАКТИКУ

Golenkov A. K.<sup>1</sup>, Bessmeltsev S. S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Vladimirskiy Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow  
<sup>2</sup> Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg

### THE CONCEPT OF CLINICAL TRIALS IN HEMATOLOGY INTEGRATED INTO REAL PRACTICE

**Резюме.** Клинические исследования служат одним из основных факторов получения научной информации о различных проблемах современной медицины. Они представляют собой модели реальной клинической практики и подразделяются на несколько вариантов, обладающих разной степенью доказательности. Важным для практического здравоохранения являются клинические исследования, интегрированные в реальную практику, основанные на неселективном принципе формирования групп больных. В настоящей статье приведены результаты собственных опубликованных исследований, интегрированных в реальную практику, в сравнении с опубликованными результатами аналогичных рандомизированных исследований. Лечение рецидивов / рефрактерной множественной миеломы бортезомибом, а также комбинацией препаратов — леналидомид, бортезомиб и преднизолон показало, что собственные программы были менее токсичны за счет меньших кумулятивных доз препаратов при практически одинаковых непосредственных и отдаленных результатах. Такие же результаты сравнительных исследований были получены при анализе программ, включающих бортезомиб, мелфалан и преднизолон, при впервые выявленной ММ. Лечение хронической фазы хронического миелолейкоза в собственных исследованиях показало, что снижение кумулятивных доз препарата ухудшало качество ответа, но не влияло на общую выживаемость за одинаковые интервалы наблюдений. На основании полученных результатов сформулирована концепция клинических исследований, интегрированных в реальную практику, в которых воспроизводились условия практического здравоохранения. Результаты

**Summary.** Clinical research is one of the main factors in obtaining scientific information on various problems of modern medicine. They represent models of real clinical practice and are divided into several options with varying degrees of evidence. Clinical research integrated into real practice, based on the non-selective principle of patient group formation, is important for practical health care. This article presents the results of own published studies integrated into real practice in comparison with published results of similar randomized studies. Treatment of relapse/refractory multiple myeloma with bortezomib as well as combination of drugs — lenalidomide, bortezomib and prednisolone showed that own programs were less toxic due to lower cumulative doses of drugs with almost the same immediate and distant results. The same results of comparative studies were obtained when analyzed the programs of bortezomib, melphalan, prednisolone at the first detected MM. Chronic myeloid leukemia treatment in our own studies showed that the reduction of cumulative doses worsened the quality of the response, but did not affect the overall survival over the same observation intervals. On the basis of the obtained results the concept of clinical trials integrated into real practice was formulated, in which the conditions of practical health care were reproduced. The results of these studies significantly expand information about new drugs, their combinations and treatment programs obtained in randomized studies.

**Key words.** Clinical studies, clinical models, real practice.

этих исследований существенно расширяют информацию о новых препаратах, их комбинаций и программ лечения, полученных в рандомизированных исследованиях.

**Ключевые слова.** Клинические исследования, клинические модели, реальная практика.

**Введение.** Развитие клинической гематологии тесно связано с клиническими исследованиями, проведение которых позволяет соединить новые данные фундаментальной науки с задачами реальной практики. В этом смысле клинические исследования являются важным фактором, обеспечивающим прямое внедрение научных результатов в практическую медицину. Учитывая важную роль клинических исследований в совершенствовании диагностики и лечении гематологических заболеваний, целесообразно уточнить их идею и методологию в связи с конкретными клиническими задачами. Рандомизированные клинические исследования проводятся в высокоотборной популяции пациентов, обычно они имеют небольшой размер выборки и характеризуются короткой продолжительностью исследования. Для исследований в условиях реальной клинической практики характерна ежедневная практика (наблюдательные исследования, прагматические клинические исследования), большой размер выборки и длительный период наблюдения. Обсуждая общие принципы и дизайн клинических исследований, следует иметь в виду, что они являются клиническими моделями, специфика которых будет определяться конкретными задачами. Однако при всем их многообразии в каждом должны быть предпосылка и исход. Предпосылку можно охарактеризовать как фактор, который может прогнозировать предполагаемый исход. В свою очередь исход следует рассматривать как фактор, следующий за предпосылкой [1, 2, 3]. Это достаточно осторожная трактовка, которая принята в литературе, по существу, означает что причинно-следственная гипотеза, заложенная в исследование, может превратиться в причинно-следственную связь после получения окончательных результатов.

Принципиально различать интервенционные и наблюдательные исследования. Интервенционный принцип предполагает назначение изучаемого фактора, обычно с использованием рандомизации, в то время как при наблюда-

тельном принципе изучается фактор, существующий независимо от исследователя. Очень важно, чтобы предпосылка и исход, которые изучаются в исследовании, наблюдались во времени и разделялись временным интервалом как в проспективном интервенционном, так и в наблюдательном (включая ретроспективное) исследованиях. Однако в процессе наблюдения на изучаемые события могут влиять неучтенные факторы, искажающие результат, что следует учитывать при выборе формата предполагаемого исследования. В этом смысле интервенционные рандомизированные исследования имеют преимущества перед наблюдательными. При этом рандомизация создает баланс неучтенных факторов в группах, что исключает их влияние на изучаемые явления. По своей методологии клинические исследования разделяются на несколько типов. Так, описание одного или нескольких случаев может быть информативным касательно новых симптомов заболевания, наличия нежелательных явлений нового лекарственного препарата или других факторов, которые ранее не встречались в клинической практике. Однако ограниченность наблюдений этого типа клинических исследований не позволяет утверждать о распространенности указанного явления или о причинно-следственной связи. Достаточно частыми являются клинические исследования поперечного среза. Особенностью этого типа исследований является отсутствие временного интервала между изучаемыми событиями. Поэтому их познавательный ресурс ограничивается изучением распространенности. Эти результаты могут служить основанием для проведения клинических исследований другого типа для установления причинно-следственных связей. В отличие от исследований поперечного среза большими возможностями по установлению причинно-следственной связи изучаемых событий обладают когортные исследования. Их отличительной чертой является наличие временного фактора между предпосылкой и событием, что является одним

из аргументов установления причинно-следственной связи между ними. Однако наблюдение во времени не исключает действие других факторов, влияющих на изучаемое событие. Важной особенностью когортных исследований является их проспективный характер, наличие сравниваемых групп (когорты) и наблюдательный принцип. Когортные исследования могут быть проведены на ретроспективных данных, но при этом должны быть определены предпосылки и временной фактор наступления события. Наблюдательный принцип данного типа исследований позволяет применять их для изучения эффективности лекарственных препаратов с использованием групп сравнения. Неселективный характер формирования групп и отсутствие рандомизации позволяет включать в исследование пациентов с широким спектром клинических проявлений болезни и коморбидностью. К наблюдательному типу относится исследование случай-контроль. Однако в отличие от когортного исследования, где основой наблюдения является предпосылка, которая прослеживается до наступления события, при этом проводится ретроспективный анализ от наступившего события до предпосылки. Существующий временной фактор между изучаемыми событиями делает возможным установление причинно-следственной связи между ними. Однако следует учитывать, что существуют риски неучтенного воздействия на изучаемые события, что может исказить полученные результаты. При этом исследовании предполагается наличие двух групп больных с фактором предпосылки и без него. Это создает хорошие возможности для изучения причин этих различий. В отличие от когортных исследований, где различие результатов можно оценивать по относительному и атрибутивному риску (риск различий), в исследовании случай-контроль оценка возможна только по относительному риску, который соответствует *odd ratio* (нечетное соотношение). Более сложными для выполнения являются рандомизированные клинические исследования. Особенность этих исследований заключается в использовании принципа рандомизации для формирования групп сравнения. При этом уравниваются неучтенные факторы в группах, что исключает их влияние на результат. Оценка результатов рандомизированного исследования осуществляется по вычислению относительного риска или различий между двумя исследуемыми клиническими группами. Важно отметить, что

в группе, где проводят интервенционные исследования лекарственного препарата, может возникнуть необходимость прекратить или заменить лечение. В этом случае одним из вариантов продолжения исследования является принцип *intention-to treat*, когда анализ проводится по изначально назначенному лечению, а смена лечения не принимается во внимание.

Таким образом, исходя из изложенного, можно сделать ряд принципиальных обобщений, которые должны учитываться в исследованиях, касающихся различных клинических задач. К ним относятся формирование групп больных, создание причинно-следственной гипотезы с конкретизацией предпосылки и предполагаемого исхода, временная связь между ними. Они могут быть проспективными, ретроспективными, наблюдательными, интервенционными, рандомизированными и другими. Следует учитывать, что на связь предпосылка-результат могут действовать различные факторы, которые искажают результаты исследования. Поэтому для доказательства научной гипотезы на основе предполагаемого клинического исследования должны учитываться все эти принципы, с тем чтобы уменьшить влияние неучтенных факторов на изучаемые события. Важным является вопрос: насколько результаты клинических исследований могут соответствовать реальной клинической практике с точки зрения их точной воспроизводимости [4]. Подобный вопрос возникает потому, что сложная методика проведения, защищающая от неучтенных факторов воздействия, которые могут исказить их причинную сущность, серьезно отдаляет их от клинической реальности, превращая их в концептуальные модели реальной практики. При этом возникает необходимость в проведении клинических исследований, интегрированных в реальную практику и потребность сформулировать концепцию этих исследований. Главным принципом этой интеграционной модели должен быть уход от жесткой селекции под концепцию и формирование группы пациентов по неселективному принципу при сохранении других факторов клинического исследования. Очевидно, что интеграционная модель менее защищена от факторов, искажающих результат. Однако этот результат адекватно отражает реальную практику. По существу, концептуальная модель позволяет получить закономерность в чистом виде, а интеграционная модель дает результат с учетом объективных факторов реальной

практики. Поэтому концептуальная и интеграционная модели клинических исследований должны дополнять друг друга для получения более объемной информации об изучаемом предмете.

**Методы исследования.** Проведен сравнительный анализ эффективности лекарственных препаратов по результатам многоцентровых клинических исследований и собственных опубликованных данных, полученных на основе исследований в реальной клинической практике. Изучены результаты лечения множественной миеломы (ММ) бортезомиб-содержащими программами, а также иммуномодулирующим препаратом леналидомид в комбинации с бортезомибом и мелфаланом. Кроме того, проведен аналогичный анализ эффективности лечения больных хроническим миелолейкозом в хронической фазе (ХМЛ ХФ) ингибитором тирозинкиназы иматинибом.

Предметом анализа были следующие показатели: характеристика групп больных каждого клинического исследования с учетом демо-

графических данных, тяжести клинических проявлений болезни и коморбидности. Характеристика дозы лекарственных препаратов или их комбинаций / разовых или суммарных доз в конечной точке индукционного периода лечения, плотность индукции. Характеристика исходов терапии, которая включала непосредственные результаты по динамике измеряемых маркеров болезни, а также выживаемость без прогрессии (ВБП), безрецидивную выживаемость (БРВ) и общую выживаемость (ОВ).

**Результаты.** Результаты опубликованных собственных исследований в сравнении с результатами многоцентровых исследований по аналогичным темам представлены в таблицах 1–4. В *таблице 1* даны характеристика пациентов с рецидивами / резистентными формами ММ и результаты применения для лечения больных бортезомиба в монорежиме (1,3 мг / м<sup>2</sup> 1, 4, 8 и 11-й дни с последующим 10-дневным перерывом (до 8-ми 21-дневных циклов).

Таблица 1

Сравнительная эффективность монотерапии бортезомибом у больных с резистентной / рецидивирующей множественной миеломой

Характеристика больных	Собственные данные [5, 6]	Richardson P. G. et al. [7]
Число больных	56	193
Возраст (лет), средний	54	60
III стадия (по Durie-Salmon), %	100	72
Предлеченность (число линий предшествующей терапии)	2	3
Длительность заболевания, годы	2	4
Коморбидность, %	37 %	Нет данных
Бортезомиб 1,3 мг / м <sup>2</sup> , дни	1, 4, 8, 11	1, 4, 8, 11
Длительность цикла, дни	42	21
Количество циклов	6	8
Плотность индукции, цикл / мес.	0,7	1,4
Кумулятивная доза бортезомиба, мг / мес.	3,7	7,4
Общий ответ, %	70	35
Строгий полный ответ, %	0	7
Полный ответ, %	8	12
Частичный ответ, %	62	16
Миелотоксичность 3–4 ст., %	0	28
Полинейропатия 3–4 ст., %	7,4	12
Общая выживаемость с учетом предлеченности (медиана), мес.	63	64

Разработанная нами программа VMP (бортезомиб 1,3 мг / м<sup>2</sup>, 4, 8 и 11 дни цикла, в / в; мелфалан 9 мг / м<sup>2</sup>, внутрь + преднизолон 60 мг / м<sup>2</sup>, внутрь в 1–4 дни) применяемая в виде

6 и 9-недельных циклов у больных с впервые выявленной множественной миеломой, сравнивалась с программой VMP (1–4 циклы включали бортезомиб 1,3 мг / м<sup>2</sup>, 4, 8, 11, 22, 25, 29

и 32-й дни и мелфалан 9 мг / м<sup>2</sup> преднизолон 9 мг / м<sup>2</sup> преднизолон 60 мг / м<sup>2</sup>, внутрь в 1–4 дни), изученной в исследовании VISTA (таблица 2).

Таблица 2

**Сравнительная эффективность VMP-терапии у больных с впервые выявленной множественной миеломой по результатам ее применения в реальной клинической практике и многоцентрового рандомизированного исследования VISTA**

Характеристика	Собственные данные [8]	Данные VISTA [9]
Количество больных	105	344
Возраст, медиана, годы	59	71
Стадия по Durie-Salmon, IIIA/IIIB, %	87/9	35/0
Статус / Карновский, баллы (%)	до 50/57	до 70/35
Клиренс креатинина < 30 мл / мин, % больных	12	6
Коморбидность, % больных	51	35
Длительность цикла, недели	6–9	6
Число циклов	6	9
Ответ на лечение (%)		
Общий ответ	75	70
полный	11	30
частичный	64	40
Цикловая доза		
Бортезомиб, мг / м <sup>2</sup>	5,2	9,1
Мелфалан, мг	36	36
Кумулятивная доза бортезомиба (мг / м <sup>2</sup> ) за индукционный период	31,2	41,6
Полинейропатия (%)		
Все степени	Нет данных	44
3 степень	5,2	13
Гематологическая токсичность, 3 степень (%)	24,6	28
Общая выживаемость за 30 мес.	87 %	90 %

Эффективность программы RVP (леналидомид, бортезомиб, преднизолон), использованная в реальной клинической практике, и RVD (леналидомид, бортезомиб, дексаметазон), по результатам многоцентрового исследования, при резистентной и рецидивирующей множественной миеломе представлены в таблице 3.

Таблица 3

**Сравнительная эффективность RVP / RVD терапии у больных с резистентной / рецидивирующей множественной миеломой**

Характеристика	Собственные данные [8]	Richardson P. G. at al. [10]
Количество больных	49	64
Возраст (медиана), годы	55	65
Карновский, баллы (%)	больше 50 (63%)	Больше 60 (100%)
Число линий предшествующей терапии	1–3	1–3
Время от диагноза (медиана), мес.	38	34
Стадия по Durie-Salmon III, %	96	59
Курс RVP / RVD	Бортезомиб 1,3 мг / м <sup>2</sup> , дни 1,4,8,11-й + леналидомид 25 мг внутрь 1–14 дни + преднизолон 60 мг 1–4 дни	Бортезомиб 1,0 мг / м <sup>2</sup> , дни 1,4,8,11-й + леналидомид 15 мг внутрь 1–14 дни + дексаметазон 40/20 мг 1–4 дни
Цикл / длительность, число, Плотность — цикл / мес.	48 дней / 7 циклов 0,6	21 день / 8 циклов 1,4
Кумулятивная доза в месяц в период индукции	Леналидомид — 218,75 мг Бортезомиб 3,2 мг	Леналидомид — 300 мг Бортезомиб 5,7 мг

Продолжение таблицы

Характеристика	Собственные данные [8]	Richardson P. G. at al. [10]
Ответ:	63 %	64 %
больше частичного	2 %	11 %
полный		
Миелотоксичность 3–4 ст., %	14	30
Полинейропатия 3 ст., %	2,5	3
Тромбозы, %	2	3
Общая выживаемость, мес.	32	30

Сравнительная эффективность иматиниба у больных в хронической фазе хронического миелолейкоза (ХМЛ ХФ), по данных наблюдения-тельных (собственного исследования Eutos) и рандомизированных исследований, приведена в таблице 4.

Таблица 4

**Сравнительная характеристика эффективности лечения иматинибом пациентов с ХМЛ ХФ, по данным опубликованных исследований**

Характеристика	Eutos / Rus PBS [11]	Eutos / PB S /	B. Simonsson [11]	G. Guliotta [13]
Число больных	197	2826	56	444
Возраст (медиана), годы	50	55	51	52
Критерии Sokal (%)*	70 / п+н /	74 / п+н /	100 / п+н /	47 / п /
Доза иматиниба мг / день	600 (23 %) 400 (68 %) 300 (11 %)	400	399	400
БМО %				
6 мес.	Нд	Нд	Нд	48
12 мес.	22	41	54	59
18 мес.	43	64	Нд	92
ОВ / % /				
12 мес.	93	97	Нд	92
24 мес.	87	94	Нд	Нд

\*п — промежуточный риск, н — низкий риск, Нд — нет данных.

**Обсуждение.** Сравнение результатов собственных проспективных исследований, проведенных в реальной клинической практике по эффективности лечения бортезомибом больных с рецидивами / рефрактерными формами ММ и аналогичных рандомизированных исследований, позволило выявить некоторые различия. Прежде всего это касалось характеристики групп больных, включенных в исследования. В группе рандомизированного исследования (см. табл. 1) было меньше больных с III ст. заболевания (72 % против 100 %). В группе реальной практики осложненное течение наблюдалось у 37 % больных. Длительность индукционного цикла химиотерапии в этой же группе, за счет удлинения межкурсовых интервалов, была в 2 раза больше, чем в группе рандомизированного исследования (42 и 21 день соответственно). Количество индукционных циклов терапии было меньше в собственном исследовании (6 против 8). Плотность индукционных циклов терапии (количество циклов / количество месяцев) была ниже в собственном исследовании (0,7 против 1,4). В связи с этим кумулятивная доза бортезомиба за месяц индукционного периода лечения оставляла 3,7 мг / м<sup>2</sup> в собственном исследовании и 7,4 мг / м<sup>2</sup> — в рандомизированном. Оценивая непосредственные и отдаленные результаты лечения, следует отметить, что не выявлено преимуществ в модели рандомизированного исследования. Общий ответ был выше в собственном исследовании, однако качество ответа выше в рандомизированном (строгий полный ответ+полный ответ — 19 против 8 %). В отличие от рандомизированного исследования, в реальной клинической практике мы не наблюдали миелотоксичности 3 и 4 ст. тяжести

(0 против 28 %). Полинейропатия 3 и 4 степени также была выше в рандомизированном исследовании (12 против 7,4 %). В то же время общая выживаемость от момента впервые установленного диагноза была одинаковой (медиана 63 и 64 мес.).

Суммируя изложенное, следует подчеркнуть сходство и различия клинических исследований и результатов реальной клинической практики. Основные принципы клинических исследований были воспроизведены в приведенных примерах. Предпосылкой исследований был бортезомиб в аналогичных разовых и курсовых дозах, за которым следовало событие в виде точно измеренных непосредственных и отдаленных результатов лечения. Временной фактор между ними был четко обозначен в обоих исследованиях. Токсичность также имела четкие характеристики в обеих группах. Тем не менее, в рамках указанных принципов существуют определенные различия. В собственном исследовании, интегрированном в реальную клиническую практику, группы больных были сформированы по неселективному принципу. В группе сравнения было селективное формирование, направленное на клиническое решение фармакодинамической задачи. Длительность циклов лечения была различной. Более длительными были циклы в собственном исследовании. С этим были связаны меньшая плотность индукции лечения, меньшая кумулятивная доза бортезомиба и меньшая токсичность. Оценивая полученные результаты, следует отметить, что в собственном исследовании был получен аналогичный противоопухолевый ответ и выживаемость при меньшей кумулятивной дозе препарата у более тяжелой группы больных при меньшей гематологической токсичности и нейротоксичности. Это означает, что бортезомиб обладает достаточной терапевтической широтой, так как аналогичный противоопухолевый эффект был достигнут при меньшей кумулятивной дозе за индукционный период, чем в группе сравнения. Аналогичные результаты были получены в наших предыдущих исследованиях [14, 15].

Программу VMP, разработанную нами в интегрированной модели реальной практики, сравнивали с аналогичной программой многоцентрового исследования VISTA. Анализ показал, что в собственном исследовании группа больных характеризовалась более тяжелым клиническим течением: IIIA и IIIB ст. — 87 и 9 % против 35 и 0 % в исследовании VISTA; статус

Карновского — 57 и 35 / %; число больных,отягощенных сопутствующей патологией — 51 и 35 % соответственно. Это подтверждает селективный характер формирования группы больных в исследовании VISTA. Индукционный период программы VMP в нашем исследовании формировался в условиях требований практического здравоохранения к динамике коечного фонда гематологического стационара. Индукционный период VMP программы в исследовании VISTA был разработан на основании фармакодинамической идеи с более сложной структурой, что затрудняло его внедрение в практику гематологического стационара. Важно отметить, что кумулятивная доза бортезомиба за цикл была выше в клиническом исследовании VISTA, чем в реальной клинической практике (9,1 и 5,2 мг / м<sup>2</sup> соответственно), а за индукционный период 41,6 и 31,2 мг / м<sup>2</sup>. При сравнимых объективных ответах на терапию (70 % в исследовании VISTA и 75,2 % в нашем исследовании) количество полных ответов было больше в исследовании VISTA (30 % против 11,4 %). Общая выживаемость двух сравниваемых программ терапии не различалась (30-месячная 90 % в VISTA и 87 % — в собственном исследовании). Сравнивая токсичность терапии, следует отметить, что она была выше среди пациентов, вошедших в исследование VISTA: гематологическая — 28 и 24,6 %, периферическая нейропатия 3 ст. — 13 и 5,2 % соответственно.

Таким образом, фармакодинамическая идея, заложенная в исследование VISTA, которая потребовала строгой селекции больных, сложной структуры индукционного периода, более высокой кумулятивной дозы бортезомиба с большей токсичностью, не имела преимуществ перед собственной VMP программой, разработанной в модели, интегрированной в реальную клиническую практику.

Сравнивая результаты собственной программы RVP при рецидивах / рефрактерных формах MM, разработанной в нашей модели, интегрированной в реальную практику, и аналогичные опубликованные результаты других авторов [8, 10], обращают на себя внимание различия по клинической характеристике групп больных, включенных в исследование. Очевидно, что в группе сравнения, которая формировалась по неселективному принципу, больные были с менее выраженными проявлениями болезни. В нашем исследовании дозировка леналидомида была выше, чем в исследовании P. G. Richardson et al. — 25 мг против 15 мг, но циклы более про-

лонгированные (48 и 21 день соответственно). Плотность индукционного периода терапии в нашем исследовании составила 0,6 против 1,4, что означало более низкую цитостатическую нагрузку (леналидомид 218,7 мг / мес., бортезомиб 3,2 мг / мес. против 300 мг / мес. и 5,7 мг / мес. соответственно). Между тем частичный противоопухолевый ответ был сопоставим (63 и 64 %). Однако количество полных ответов наблюдалось больше в группе сравнения (11 и 2 % соответственно). Общая выживаемость не различалась в группах (31,9 и 30 мес.). В то же время, гематологическая токсичность 3–4 ст. была выше по результатам клинического исследования (30 против 14,3 %).

Таким образом, наша интегрированная в реальную клиническую практику модель обладала преимуществом, так как показала хороший результат по непосредственным и отдаленным результатам у более тяжелой группы больных и с меньшей токсичностью.

Эффективность лечения больных хроническим миелолейкозом в хронической фазе в условиях собственного исследования Eutos — Российская ветвь, сравнивали с результатами опубликованных исследований других авторов. Оценивая две представленные модели клинических исследований, можно отметить их различия. Прежде всего это касается exрouse-фактора. Заданная воспроизводимость дозы иматиниба 400 мг / день была 100 % в рандомизированных и европейской ветви наблюдательного исследования Eutos. В Российской части этого исследования воспроизводимость заданной дозы иматиниба составляла 68 %. Оценивая условия реализации идеи, заложенной в этих исследованиях по критериям неблагоприятных рисков, следует отметить более благоприятные показатели в рандомизированных исследованиях по сравнению с наблюдательными (100 и 70 % соответственно). Исходы лечения оценивали по большому молекулярному ответу (БМО) через 12 и 18 месяцев и ОВ через 12 месяцев. К 12 месяцам очевидные преимущества по БМО были зафиксированы в рандомизированных исследованиях (54 и 59 % против 21,6 и 41 %). К 18 месяцам эти преимущества сохранялись (92 % и 64 % соответственно). Однако при оценке ОВ за 12 месяцев не было выявлено различий между двумя моделями клинических исследований (93, 97 и 92 %). Полученные результаты позволяют считать, что достижение БМО к 12 месяцам лечения иматинибом было связано со стабильной воспроизводимостью

дозы препарата, условиями проведения исследования и более оптимальными показателями прогностической шкалы SOKAL. В то же время это не оказывало влияния на 12-месячную общую выживаемость. С клинических позиций можно высказать некоторые предположения относительно фармакодинамики иматиниба. Он не обладает оптимальной терапевтической широтой. Это означает, что его максимальный ответ, оцениваемый по критериям БМО к 12 месяцам лечения в дозе 400 мг, будет снижаться при уменьшении кумулятивной дозы препарата, полученной за определенный интервал времени.

**Заключение.** Проведенный анализ позволяет сформулировать концепцию клинических исследований, реализуемых в модели, интегрированной в реальную клиническую практику (интегрированная модель), что делает их доказательными не только с точки зрения воспроизведения теоретических принципов исследования, но и дающими новую информацию, дополняющую результаты аналогичных рандомизированных исследований, направленных в основном на клиническое решение фармакодинамических задач. Особенностью этой модели является то, что она реализуется в условиях организационных основ практического здравоохранения. Эта особенность несколько ограничивает познавательные возможности интеграционной модели, однако создает предпосылки для получения оригинальной информации, адекватной реальной практике. Следует подчеркнуть, что регламентирующие документы, регулирующие работу гематологической помощи, служат стабильным условием для создания интеграционной клинической модели и проведения на ее основе клинических исследований. Выявлены некоторые закономерности, характеризующие две клинические модели. К ним относятся различные принципы формирования групп больных: селективный для фармакодинамической модели, неселективный для интегрированной. Создание селективной группы больных с благоприятным клиническим статусом позволяет уменьшить влияние неучтенных факторов на связь Exрouse-Outcome (предпосылка-исход). Кроме того, это дает возможность показать максимальный фармакодинамический эффект исследуемых препаратов за счет повышения переносимых доз цитостатических лечебных препаратов. В интегрированной модели создается другая среда для изучаемого лекарственного препарата или

программы лечения в сравнении с фармакодинамической моделью лечения, идентичная реальной практике. Поэтому результаты лечения, полученные в интегрированной модели, могут без коррекции внедряться в реальную практику. Важность интегрированной модели заключается еще и в том, что она может показать терапевтическую широту лекарственного препарата или химиотерапевтических схем лечения, подтверждающих эффективность сниженных доз лекарственных препаратов по сравнению с фармакодинамическими моделями. Это доказано в трех наших программах, касающихся бортезомиб- и леналидомид-содержащих комбинаций. В программах лечения ХМЛ ХФ иматинибом наши исследования показали, что этот препарат не обладал до-

статочной терапевтической широтой, так как снижение дозы сопровождалось уменьшением маркерного эффекта.

Таким образом, разработанная концепция клинических исследований, интегрированных в реальную практику, по существу, является новой возможностью изучения эффективности лечения опухолевых заболеваний системы крови, что имеет большое практическое значение. Проведение клинических исследований в этой модели позволяет получить новую информацию, касающуюся эффективности лекарственных препаратов и программ лечения, дополняющую сведения, полученные в предшествующих рандомизированных исследованиях.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ranganathan P, Aggarwal R. Study design. Part 1 — an overview und classification // *Prospect Clin Res.* — 2018. — Vol 4. — P. 184–188.
2. Мелихов О. Г. Клинические исследования. — М.: Издательство «Атмосфера». — 2013. — 198 с.
3. Sherman R. E., Anderson S. A., Dal Pan G. J. et al. Real-world evidence — what is it and what can it tell us? // *N Engl J Med.* — 2016. — Vol. 375. — P. 2293–2297.
4. Weiss N. S., Koepsell T. D., Psaty B. M. // *Generalizability of the results of randomized trials* // *Arch Intern Med.* — 2008. — Vol. 168, 2. — P. 133–135.
5. Голенков А. К., Митина Т. А., Луцкая Т. Д. и соавт. Лечение рецидивирующей и резистентной множественной миеломы бортезомиб-содержащими программами в широкой клинической практике // *Эффективная фармакотерапия.* — 2010. — № 2. — С. 50–54.
6. Голенков А. К., Барышников А. Ю., Караулов А. В., Митина Т. А. Лечение множественной миеломы. — М, 2009. — 125 с.
7. Richardson P. G., Barlogie B., Berenson J. et al. A Phase 2 Study of bortezomib in relapse, refractory myeloma // *Engl J Med.* — 2003. — Vol. 348, N26. — P. 2609–2617.
8. Митина Т. А. Эффективность противоопухолевой терапии и иммунологический мониторинг множественной миеломы: Автореф. дис... док. мед. наук. — М., 2016. — 59 с.
9. San-Miguel J. F., Schlag R., Khuageva N. K. et al. Bortezomib plus melphalan and prednisolone for initial treatment of multiple myeloma // *N Engl J Med.* — 2008. — Vol. 359. — P. 906–917.
10. Richardson P. G., Wantling X., Jaganath S. et al. A Phase 2 trial of lenalidomide, bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed and relapsed / refractory myeloma // *Blood.* — 2014. — Vol.123, N10. — P. 1461–1468.
11. Лазарева О. В., Туркина А. Г., Челышева Е. Ю. и др. Клиническая и гематологическая характеристика больных хроническим миелолейкозом в современных условиях: результаты российской части международного многоцентрового проспективного популяционного исследования // *Клиническая онкогематология.* — 2017. — Т 1, № 10. — С. 65–74.
12. Simonsson B., Gedde-Dahl T., Markevarn B. et al. Combination of pegylated IFN a 2 b with imatinib increases molecular response rates in patients with low or intermediate risk chronic myeloid leukemia // *Blood.* — 2011. — Vol. 118, N12. — P. 3228–3235.
13. Gugliotta G., Castagnetti F., Palandry I et al. Frontline imatinib treatment of chronic leukemia: no impact of age on outcome, by the GIMEMA CML Work-in party // *Blood.* — 2011. — Vol. 117, N21. — P. 5591–5599
14. Бессмельцев С. С. Множественная миелома (лечение рецидивов и рефрактерных форм): обзор литературы и собственные данные. Часть III // *Клиническая онкогематология.* — 2014. — Т. 7, № 2. — 137–174.
15. Бессмельцев С. С. Множественная миелома (лечение первичных больных): обзор литературы и собственные данные. Часть II // *Клиническая онкогематология.* — 2013. — Т. 6, № 4. — С. 379–414.

Семенова Н. Ю.<sup>1</sup>, Чубарь А. В.<sup>2</sup>, Енукашвили Н. И.<sup>2,3</sup>, Кострома И. И.<sup>1</sup>,  
Жернякова А. А.<sup>1</sup>, Артюхина З. Е.<sup>1</sup>, Ругаль В. И.<sup>1</sup>, Иволгин Д. А.<sup>3,4</sup>, Грицаев С. В.<sup>1</sup>,  
Чечеткин А. В.<sup>1</sup>, Бессмельцев С. С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России»

<sup>2</sup> ФГБУН Институт цитологии РАН

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава РФ

<sup>4</sup> ООО «Покровский банк стволовых клеток»

#### ПЕРЕСТРОЙКА КЛЮЧЕВЫХ ЭЛЕМЕНТОВ СТРОМАЛЬНОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

Semenova N. Yu.<sup>1</sup>, Chubar A. V.<sup>2</sup>, Enukashvili N. I.<sup>2,3</sup>, Kostroma I. I.<sup>1</sup>,  
Zhernyakova A. A.<sup>1</sup>, Artyukhina Z. E.<sup>1</sup>, Rugal V. I.<sup>1</sup>, Ivolgin D. A.<sup>3,4</sup>, Gritsaev S. V.<sup>1</sup>,  
Chechetkin A. V.<sup>1</sup>, Bessmeltsev S. S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology FMBA of Russia

<sup>2</sup> Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences

<sup>3</sup> North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov,

<sup>4</sup> Pokrovsky Stem Cell Bank, LLC

#### RECONSTRUCTION OF KEY ELEMENTS OF THE STROMAL MICROENVIRONMENT OF THE BONE MARROW IN MULTIPLE MYELOMA

**Резюме.** В работе исследовались особенности стромального микроокружения костного мозга (КМ) в трепанобиоптатах подвздошной кости 30 больных множественной миеломой (ММ) в возрасте от 48 до 78 лет (медиана возраста 56 лет) до и после терапии. Использовались гистологические, иммуногистохимические и культуральные методы исследований. Установлены морфофункциональные изменения ключевых структур стромального микроокружения КМ: увеличение плотности микрососудов васкулярной ниши, увеличение количества эндостальных стромальных клеток. Повышенный ангиогенез коррелирует с количеством плазматических клеток в миелограмме ( $r = 0,58$ ;  $p < 0,05$ ) и с типом инфильтрации КМ ( $r = 0,85$ ;  $p < 0,05$ ). В культуральных исследованиях мезенхимных стромальных клеток (МСК) также показаны изменения, ассоциированные с миофибробластоподобным фенотипом и старением: по сравнению со здоровыми донорами показано снижение скорости пролиферации (в среднем в 2,4 раза), увеличение экспрессии  $\alpha$ -гладко-мышечного актина ( $\alpha$ -ГМА) и  $\beta$ -галактозидазы (SA- $\beta$ -Gal).

Таким образом, культуры МСК пациентов и нишеформирующие элементы КМ пациентов с ММ обладают чертами опухоли-ассоциированного микроокружения, несмотря на проведенное лечение основного заболевания.

**Ключевые слова.** Множественная миелома, костный мозг, ниша гемопоэтических стволовых клеток, микроокружение, ангиогенез, мезенхимные стромальные клетки.

**Abstract.** The study investigated the features of stromal microenvironment of the bone marrow (BM) in trepanobiopates of the iliac bone in 30 patients with multiple myeloma (MM) aged 48 to 78 years (median age 56 years) before and after treatment of the disease. Histological, immunohistochemical, and cultural research methods were used. Morphofunctional changes in key structures of the BM stromal microenvironment were established: an increase in the density of microvessels in the vascular niche, and an increase in the number of endostal stromal cells. Increased angiogenesis correlates with the number of plasma cells in the myelogram ( $r = 0.58$ ;  $p < 0.05$ ) and with the type of KM infiltration ( $r = 0.85$ ;  $p < 0.05$ ). Cultural studies of mesenchymal stromal cells (MSC) also show changes associated with myofibroblast-like phenotype and aging: compared with healthy donors, a decrease in the rate of proliferation (on average, 2.4 times), an increase in the expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -GMA) and  $\beta$ -galactosidase (SA- $\beta$ -Gal). Thus, cultures of MSC of patients and niche-forming elements of BM of patients with MM have features of tumor-associated microenvironment, despite the treatment of the underlying disease.

**Keywords.** Multiple myeloma, bone marrow, hematopoietic stem cell niche, microenvironment, angiogenesis, mesenchymal stromal cells.



**Введение.** Строма костного мозга имеет ряд морфофункциональных особенностей и формирует особое микроокружение для развития и самоподдержания гемопоэтических стволовых клеток. Тесные взаимодействия стромального и паренхиматозного компонентов костного мозга определяют пути становления здорового гемопоэза, а нарушения в этой сложной системе взаимосвязей приводят к развитию патологических процессов [1–3]. Исследования взаимодействий опухоль-микроокружение важны как для раскрытия фундаментальных основ заболевания, так и для поиска новых клинически значимых прогностических факторов.

Множественная миелома (ММ), неизлечимое на сегодня злокачественное заболевание, обусловленное трансформацией В-лимфоцитов, пролиферирующих в интрамедуллярных пространствах костного мозга. В качестве одной из гипотез развития заболевания выдвигается положение о дефекте гемопоэтических стволовых клеток, за пролиферацию и дифференцировку которых отвечает гемопоэтическая ниша костного мозга (КМ) [4,5]. В настоящее время всё большее внимание уделяется вопросу о роли ниши КМ в опухолеобразовании и развитии ранних рецидивов [1–5]. Мезенхимные стромальные клетки (МСК) являются одними из ключевых компонентов гемопоэтической ниши КМ. Если основной функцией МСК в здоровом КМ является поддержка гемопоэза, то при взаимодействии с опухолевыми клетками изменяется как фенотип, так и функции МСК — они начинают поддерживать рост опухоли и обеспечивают защиту от иммунной системы [6–8]. Микроокружение опухоли в динамике приобретает новые морфофункциональные характеристики в ответ на изменения в молекулярной биохимии, генетическом профиле и разнообразии типов опухолевых клеточных популяций [2, 6, 8–9]. Опухолевое микроокружение влияет на рост и пролиферацию, миграцию, тип инфильтрации опухолевых клеток, обеспечивая структурную и питательную поддержку за счет выработки цитокинов, хемокинов, адипокинов, факторов роста (например, IL-6, IGF-1, VEGF, TNF- $\alpha$  и SDF-1), белков внеклеточного матрикса, лигандов к клеточным рецепторам сигнальных путей и других молекул. Все это в совокупности может влиять на приобретение лекарственной устойчивости злокачественных клеток.

Таким образом, настоящая работа посвящена изучению морфофункциональных свойств ключевых нишеобразующих элементов кро-

ветворного микроокружения при ММ с целью разработки морфологического способа диагностики повреждений нишеобразующих структур костного мозга.

**Цель.** Определить морфофункциональные особенности стромальных элементов кровяного микроокружения, участвующих в формировании ниши гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и лимфоидных клеток-предшественниц.

**Материалы и методы.** В настоящей работе проанализирован материал от 30 пациентов с ММ, которые находились на лечении в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России с января 2017 г. по сентябрь 2019 г. Материалом исследования послужили цельные фрагменты подвздошной кости и аспираты костного мозга 30 больных ММ в возрасте от 48 до 78 лет (медиана возраста 56 лет), в том числе после проведенного лечения (терапия по схемам VD, CVD, включая высокодозную терапию с последующей АутоТГСК). Контрольную группу при изучении костного мозга составили фрагменты подвздошной кости 10 здоровых лиц 50–75 лет (медиана возраста 58 лет). Контрольная группа была сопоставима по полу, возрасту и национальности с основной группой. В работе применялись гистологические, иммуногистохимические, культуральные методы исследований. Для определения фенотипа МСК применяли метод проточной цитометрии, иммунофлуоресцентный анализ для выявления  $\alpha$ -гладкомышечного актина ( $\alpha$ -ГМА).

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.

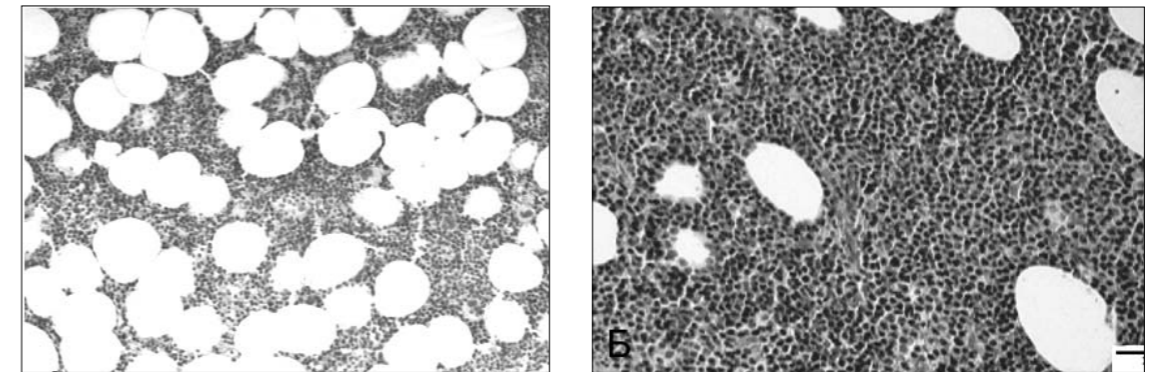
Математическую обработку результатов исследования проводили с использованием программ Statistica v.6.0, MedCalc, Microsoft Excel для Windows XP.

**Результаты.** Гистологические особенности КМ и компонентов гемопоэтической ниши КМ Оценка объема инфильтрации КМ плазматическими клетками является одним из критериев диагностики ММ. При гистологическом исследовании трепанобиоптатов подвздошной

кости больных ММ в КМ обнаруживалась неоднородная клеточная инфильтрация кровяной ткани миеломными клетками. Опухолевые клетки в большинстве случаев имели типичную структуру зрелых плазмоцитов, в которых не выявлялись ядрышки. Реже миеломные клетки классифицировались как проплазмоциты, плазмобласты. Среди инфильтрирующих паренхиму плазмоцитов обнаруживались клетки с Русселевскими тельцами, двуядерные и многоядерные формы. В исследуемой группе было выделено два типа поражения КМ: 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 плазмоцитами и различной степенью угнетения гемопоэза.

При анализе 30 трепанобиоптатов КМ интерстициальная инфильтрация наблюдалась у 22 пациентов (73,3 %) и диффузная у 8 пациентов (26,7 %) (Рисунок 1).



**Рисунок 1.** Типы опухолевой инфильтрации в костном мозге: А) интерстициальная, Б) диффузная, 100х. Окраска гематоксилином-эозином.

Анализ стромальных структур микроокружения свидетельствовал об изменении состояния стромы при всех типах поражения интрамедуллярной паренхимы. Интерстициальная инфильтрация КМ плазмоцитами 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. Увеличивается количество волокон коллагена III типа в субэндостальных пространствах. Статистически достоверных количественных изменений клеток эндоста при данном поражении КМ не выявлено, однако соотношение клеток с уплощенными и крупными ядрами изменяется в сторону увеличения количества последних. Определялось увеличение плотности микрососудов васкулярной ниши КМ по сравнению с контролем ( $11,4 \pm 1,1 \%$ ;  $p < 0,05$ ).

Отчетливо проявлялись изменения стромального микроокружения КМ, включая структуры, образующие васкулярную и остеобластную ниши, при исследовании трепанобиоптатов с диффузным поражением КМ. Наряду с изменением количества и структуры нишеобразующих элементов, происходили качественные перестройки стромального микроокружения в целом. Диффузная инфильтрация КМ сопровождалась редукцией адипоцитов, оставшиеся жировые клетки характеризовались снижением объема жировой вакуоли. В костномозговых пространствах происходило усиление ретикулинового рисунка вплоть до появления грубых ретикулиновых волокон, образующих пересечения с формированием ретикулинового склероза. Определялось увеличение плотности микрососудов ( $12,3 \pm 1,4 \%$ ;  $p < 0,05$ ), нарастание числа эндостальных клеток с уплощенными ядрами, нарушение структуры коллагена трабекул костной ткани. Площадь костных балок была снижена на 4–7 % ( $p < 0,05$ ) (Таблица 1).

Таблица 1.

**Морфометрические показатели структур костного мозга подвздошной кости в зависимости от типа лимфоидной инфильтрации (M ± m)**

Паренхима и строма костного мозга	Здоровые лица (n = 10)	Больные ММ	
		Интерстициальная инфильтрация (n = 22)	Диффузная инфильтрация (n = 8)
Гемопоэтическая ткань (в том числе лимфоидные пролифераты) (площадь, %)	37,8 ± 3,15	46,5 ± 3,9 (21,4 ± 5,4)	61,5 ± 3,4* (45,3 ± 5,7)
Жировая ткань (площадь, %)	32,1 ± 2,2	24,7 ± 2,8	12,0 ± 3,4*
Костная ткань (площадь, %)	21,0 ± 2,41	17,4 ± 1,5	14,2 ± 2,15
Сосуды МЦР (площадь, %)	9,1 ± 1,4	11,4 ± 1,1*	12,3 ± 1,4*
Эндостальные клетки (кол-во на ед. пл.)	1,4 ± 0,2	1,6 ± 0,7	2,5 ± 0,5*

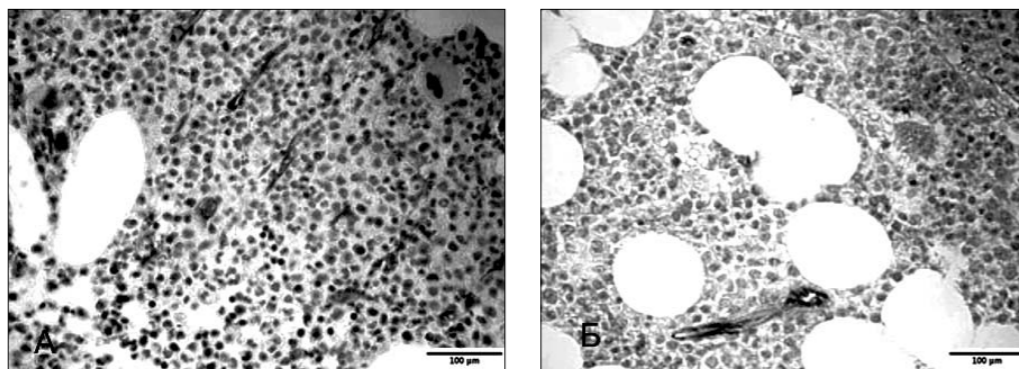
**Примечание:** \* — p < 0,05, отличия достоверны в сравнении с контролем.

Результаты иммуногистохимического окрашивания с антителами к остеоонектину, остеопонтину, костным морфогенетическим белкам (BMP-1, BMP-4) и молекулам адгезии (N-кадгерину и β-катенину) показали отличия в топографии экспрессии этих молекул. Однако выявить определенные тенденции не удалось, статистически значимых отличий не обнаружено (p > 0,05). Данные требуют проведения дополнительных исследований.

Были отмечены изменения в распределении коллагенов разных типов по мере нарастания фиброзных изменений. Так была показана тенденция увеличения количества коллагена

I и III типов, в то время как коллаген IV типа и ламинин практически не определялись, сосуды имели прерывистую базальную мембрану. Коллаген I типа в костном мозге во всех случаях отмечался в трабекулах и стромальных клетках рядом с ними. Коллаген III типа определялся в зонах эндоста, рядом с мегакариоцитами.

Увеличение площади микрососудов коррелировало с количеством плазматических клеток в миелограмме (r = 0,58; p < 0,05), с типом инфильтрации КМ (r = 0,85; p < 0,05), а также с остеодеструктивными изменениями в анамнезе больного (r = 0,65; p < 0,05).



**Рисунок 2.** Иммуногистохимическое выявление сосудов в костном мозге с антителами CD34 cl. II: А) диффузная инфильтрация КМ, Б) группа сравнения, 200x.

**Культуральные исследования мезенхимных стромальных клеток (МСК) КМ**

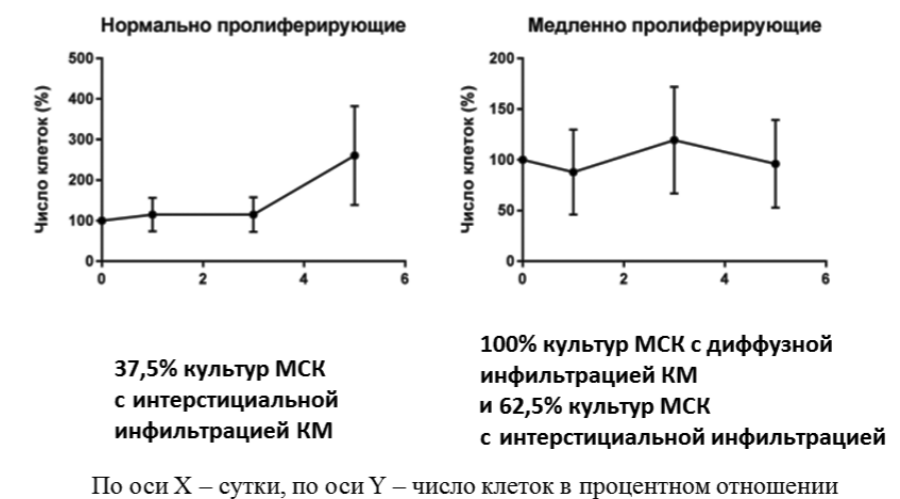
Для оценки количества МСК в полученных первичных культурах на 2 пассаже определялся уровень экспрессии поверхностных антигенов согласно панели, предложенной Международным Обществом Клеточной Терапии: CD44,

CD73, CD90, CD105 — положительные маркеры МСК; CD14, CD34, CD45, CD117 — негативные маркеры, экспрессия которых характерна для гемopoэтических клеток. Полученные культуры соответствовали критериям МСК: положительные маркеры экспрессировало ≥95 % клеток первичных культур, а отрицательные

≤2 % клеток большинства первичных культур. Достоверных статистических различий по большинству маркеров между экспериментальной и контрольной группой выявлено не было. Контрольную группу составили культуры МСК от 5 здоровых доноров костного мозга (ЗД).

Полученные культуры МСК КМ пролиферировали в течение 4–5 пассажей, после чего рост культур останавливался. Скорость пролиферации определяли на 2–3 пассаже. По скорости пролиферации все культуры МСК КМ пациентов с ММ делились на два типа: нормально и медленно пролиферирующие (рисунок 3). В группу нормально пролиферирующих культур вошли

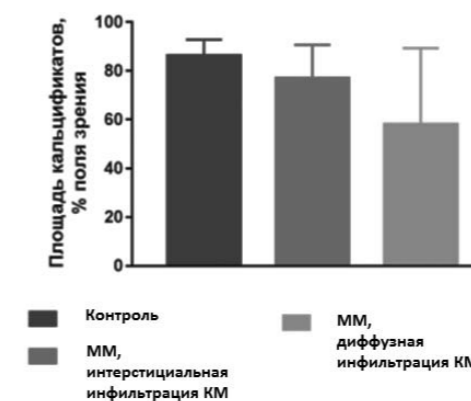
37,5 % культур МСК КМ от пациентов с единичными плазматическими клетками (ПК) в миелограмме и минимальной интерстициальной инфильтрацией КМ до 10 % по данным гистологических исследований, скорость пролиферации этих культур не отличалась от скорости пролиферации культур МСК от ЗД. Среди пациентов с высокой степенью инфильтрации КМ таких образцов обнаружено не было. В группу медленно пролиферирующих вошли 62,5 % культур МСК КМ пациентов с единичными ПК и 100 % культур МСК КМ пациентов с высокой степенью инфильтрации КМ.



**Рисунок 3.** Проллиферативная активность МСК КМ пациентов с ММ.

При ММ наблюдается нарушение процессов остеогенеза, в том числе из-за изменений остеогенного-дифференцировочного потенциала МСК КМ. Культуры МСК КМ пациентов с ММ с единичными ПК сохраняли способность к остеогенной дифференцировке, но

могли наблюдаться индивидуальные различия в степени дифференцировки. Во всех культурах МСК КМ пациентов с высокой степенью инфильтрации КМ наблюдалось снижение способности к остеогенной дифференцировке (Рисунок 4).



**Рисунок 4.** Средняя площадь кальцификатов после индукции остеогенной дифференцировки МСК КМ.

Снижение скорости пролиферации является характерным изменением МСК КМ после контакта с опухолевыми клетками, поэтому далее проверялось наличие других известных маркеров опухоль-ассоциированного фенотипа ( $\alpha$ -ГМА, SA- $\beta$ -Gal). В группе ЗД синтез  $\alpha$ -ГМА отсутствовал или был характерен для одиночных клеток без выявления фибрилл актина. Фибриллы  $\alpha$ -ГМА выявлялись в 75 % культур МСК КМ пациентов с ММ с высокой степенью инфильтрации КМ и в 25 % культур МСК КМ пациентов с ММ с интерстициальной инфильтрацией КМ.

В сравнении со ЗД достоверно выявляется увеличение числа клеток, синтезирующих SA- $\beta$ -gal (ассоциированная со старением  $\beta$ -галактозидаза), во всех культурах МСК КМ пациентов с ММ. Известно, что, в отличие от опухолевых клеток, в МСК КМ при обработке цитостатиками не индуцируется апоптоз, а проявляются признаки старения в сочетании с другими признаками опухоль-ассоциированных фибробластов. Поэтому в качестве положительного контроля использовалась культура фибробластов с индуцированным обработкой доксорибуцином старением (Рисунок 5).

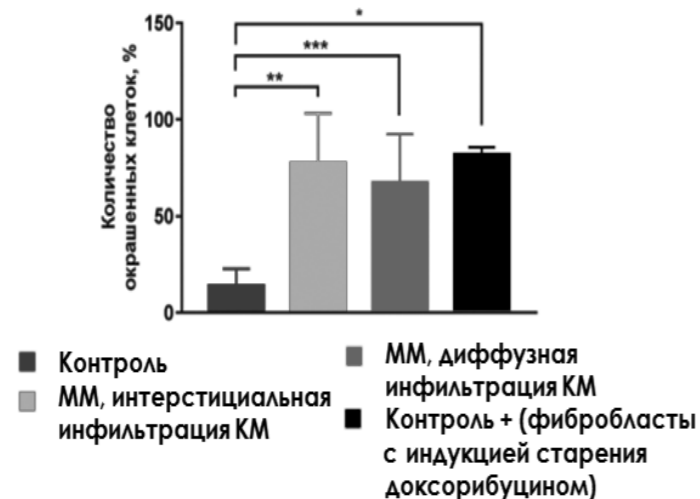


Рисунок 5. Число клеток, синтезирующих SA- $\beta$ -gal в полученных культурах МСК КМ и контрольной культуре, в которой индуцировали старение (К+). \*— $p \leq 0.05$ ; \*\*— $p \leq 0.01$ ; \*\*\*— $p \leq 0.001$ .

**Обсуждение.** Установлено, что независимо от характера опухолевой инфильтрации КМ — интерстициальной или диффузной — наблюдаются морфофункциональные перестройки клеточных и внеклеточных элементов, участвующих в формировании гемопоетической ниши: изменяется соотношение содержания интратрабекулярных коллагенов I и III типов, увеличивается количество эндостальных стромальных клеток костного мозга, изменяется их структурная организация, нарастает плотность микрососудов костномозговой паренхимы, включая анатомические зоны локализации родоначальных кровяных клеток в области эндоста. Выявлена взаимосвязь между плотностью микрососудов и клинико-лабораторными показателями, маркирующими неблагоприятное течение заболевания (маркеры неблагоприятного прогноза).

Опухолевое микроокружение поддерживает рост опухолевых клеток, что ограничивает возможность нормального гемопоеза, при этом сокращается число гемопоетических предшественников. При том, что МСК КМ демонстрировали сходный со ЗД иммунотип, они различались по способности к пролиферации. Лишь 37,5 % культур МСК КМ от пациентов с единичными ПК сохраняли скорость пролиферации, сопоставимую с контрольной группой. При прогрессии ММ скорость пролиферации снижалась: ни одна из культур МСК КМ от пациентов с высокой степенью инфильтрации КМ не входит в группу нормально пролиферирующих культур. Наблюдаемое снижение пролиферативной активности согласуется с данными другого исследования об изменении МСК КМ при ММ, где показано снижение скорости пролиферации, увеличение клеток и другие черты

старения МСК КМ от пациентов с ММ [10]. Снижение скорости пролиферации МСК КМ при ММ коррелирует с синтезом маркеров опухоль-ассоциированного фенотипа.

Потенциал к остеогенной дифференцировке МСК КМ различался между ЗД и пациентами с ММ. В полученных результатах, несмотря на различия между пациентами, остеогенно-дифференцировочный потенциал МСК КМ при единичных опухолевых клетках был выше, чем у пациентов с высокой степенью инфильтрации КМ. Снижение способности к пролиферации, остеогенной дифференцировке, отражают изменения, происходящие с МСК КМ после контакта с опухолевыми клетками. МСК КМ приобретают черты опухоль-ассоциированного фенотипа, не характерные для ЗД. Характерными признаками данного фенотипа является синтез  $\alpha$ -ГМА и SA- $\beta$ -gal. Согласно полученным результатам, по сравнению со ЗД при ММ происходит увеличение уровня синтеза  $\alpha$ -ГМА, причём при низкой степени инфильтрации КМ количество положительных культур составляет 25 %, а при высокой — 75 %. Аналогичны результаты, полученные при выявлении SA- $\beta$ -gal: при ММ фер-

мент выявляется на более высоком уровне, чем у ЗД, и показатели приближаются к таковым при индуцированном старении (рисунки 5). Полученные данные согласуются с работами других авторов, показавших наличие данных маркеров при опухолевых заболеваниях, в том числе ММ [10].

**Заключение.** Результаты, полученные в культуральных исследованиях, дополняют и подтверждают полученные морфологическим методом данные и свидетельствуют о вовлечении структур васкулярной и эндостальной ниши в прогрессию заболевания. В данном исследовании показано, что ниша ГСК в КМ у больных ММ отличается от таковой у здоровых доноров КМ. Морфофункциональные особенности основных элементов ниши КМ могут быть причиной нарушений в регуляции развития ГСК. Дальнейшие исследования стромальной ниши ГСК в динамике течения заболевания и в условиях применения современных схем терапии позволят получить дополнительные данные о патогенетической роли нишеобразующих структур в регуляции В-лимфопоэза.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Purton L. E., Scadden D. T. The hematopoietic stem cell niche // StemBook, ed. The Stem Cell Research Community. — 2008. — V. 15. — P. 1–14.
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. Семенова Н. Ю., Бессмельцев С. С., Ругаль В. И. Биология ниши гемопоэтических стволовых клеток // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. — 2014. — Т. 7, № 4. — С. 501–510.
4. Бессмельцев С. С. Множественная миелома (лечение первичных больных): обзор литературы и собственные данные. Часть 2 // Клиническая Онкогематология. — 2013. — Т. 6, № 4. — С. 379–414.
5. Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М. Множественная миелома: руководство для врачей / М.: МК, 2016. — 504 с.
6. Семенова Н. Ю., Бессмельцев С. С., Артюхина З. Е., Ругаль В. И. Состояние структур гемопоэтической ниши при множественной миеломе // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. — 2017. — Т. 10, № 4. — С. 577–578.
7. Kudo-Saito C. Cancer associated mesenchymal stem cells aggravate tumor progression // Front. Cell Dev. Biol. — 2015. — Vol. 3. — 23 p.
8. Xu S., De Veirman K., De Becker A. et al. Mesenchymal stem cells in multiple myeloma: a therapeutic tool or target? // Leukemia. — 2018. — Vol. 32, N7. — P. 1500–1514.
9. Покровская О. С., Менделеева Л. П., Капланская И. Б., Грибанова Е. О., Варламова Е. Ю., Обухова Т. Н., Гемдзян Э. Г., Савченко В. Г. Ангиогенез в костном мозге больных множественной миеломой на различных этапах высокодозной химиотерапии // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. — 2010. — Т. 3, № 4. — С. 347–353.
10. André T., Meuleman N., Stamatopoulos B. et al. Evidences of early senescence in multiple myeloma bone marrow mesenchymal stromal cells // PLoS ONE. — 2013. — Vol. 8, N3. — e59756.

Чубукина Ж. В., Глазанова Т. В., Кострома И. И., Жернякова А. А.,  
Грицаев С. В., Бессмельцев С. С.

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

**ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА В ПРОЦЕССЕ  
АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК  
У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ**

Chubukina Zh. V., Glazanova T. V., Kostroma I. I., Zhernyakova A. A.,  
Gritsaev S. V., Bessmeltsev S. S.

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

**DYNAMICS OF CELLULAR IMMUNITY PARAMETERS DURING AUTOLOGOUS  
HEMOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA**

**Резюме.** Целью исследования была комплексная оценка состояния клеточного звена иммунитета у больных множественной миеломой (ММ) до и после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК). В исследование включены 123 пациента с ММ, которым была проведена аутоТГСК в Республиканском центре трансплантации костного мозга ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России за период с 2014 г по 2019 г. Все больные получали бортезомиб-содержащую химиотерапию по схеме CVD (циклофосфан + бортезомиб + дексаметазон) или VD (бортезомиб + дексаметазон). Мобилизация ГСК периферической крови чаще проводилась винорелбином (однократно, внутривенно струйно в дозе 35 мг / м<sup>2</sup>) или циклофосфамидом (однократно, в дозе 3–4 г / м<sup>2</sup>) с последующим введением Г-КСФ (ленограстим или граноцит) по 10 мкг / кг / сут ежедневно, подкожно в двух равных инъекциях. Режим кондиционирования перед аутоТГСК включал введение мелфалана в течение двух дней в суммарной дозе 200 мг / м<sup>2</sup>, у пациентов с тяжелой сопутствующей патологией суммарная доза мелфалана была снижена до 140 мг / м<sup>2</sup>. Методом многопараметрической проточной цитометрии с помощью моноклональных антител к дифференцировочным антигенам (CD3, CD4, CD8, CD16+56, CD25, CD19) проводилась оценка относительного содержания основных и минорных популяций лимфоцитов периферической крови до аутоТГСК (перед началом кондиционирования, после аутоТГСК в день выхода из лейкопении (лейкоциты более 1 × 10<sup>9</sup> / л, в среднем на 14–30-й день), на Д+100, через 6 и 12 месяцев (Д+180 и Д+360). Установлено, что до проведения аутоТГСК, перед началом

**Abstract.** The purpose of the study was a comprehensive assessment of the cellular immunity in patients with multiple myeloma (MM) before and after autoHSCT. The study included 123 patients with MM who underwent autoHSCT in the Center of Bone Marrow Transplantation of the Russian Research Institute of hematology and transfusiology for the period from 2014 to 2019. All patients received bortezomib-containing therapy using scheme CVD (Cyclophosphamide + Bortezomib + Dexamethasone) or VD (Bortezomib + Dexamethasone). Most often hemopoietic stem cell mobilization from peripheral blood was performed using Vinorelbine (single dose 35 mg / m<sup>2</sup>, bolus intravenously) or Cyclophosphamide (single dose 3–4 g / m<sup>2</sup>) with subsequent G-CSF injection (Lenograstim or Granocyte) — 10 µg / daily, subcutaneously in two equal doses. Conditioning regimen (high-dose chemotherapy) prior to autoHSCT included infusion of melphalan for two days, total dose 200 mg / m<sup>2</sup>. In patients with severe comorbidity total melphalan dose was decreased to 140 mg / m<sup>2</sup>. Using multi-parameter flow cytometry and monoclonal antibodies anti-CD3, CD4, CD8, CD16+56, CD25 and CD19 the percentage of lymphocyte subsets of peripheral blood was assessed before autoHSCT (at the start of conditioning, after autoHSCT — at the day of the end of leukopenia (WBC > 1 × 10<sup>9</sup> / L, on average at 14<sup>th</sup>–30<sup>th</sup> day), at D+100, D+180 and D+360. It was found that prior to the auto-HSCT at the start of the conditioning regimen, the percentage of mature T-lymphocytes (CD3+) and the main immunoregulatory populations (CD3+CD4+ and CD3+CD8+) were within normal limits and did not differ from those in the control group. Significant differences between the group of patients and the

режима кондиционирования, показатели относительного содержания зрелых Т-лимфоцитов (CD3+) и основных иммунорегуляторных популяций (CD3+CD4+ и CD3+CD8+) были в пределах нормы и не отличались от таковых в группе контроля. Достоверные различия между группой больных и группой контроля наблюдались только при сравнении содержания минорных популяций Т-лимфоцитов: снижение относительного содержания Treg (CD3+CD4+CD25+) и NKT-клеток (CD3+CD16+) (p < 0,005). После аутоТГСК на Д+15 содержание популяций CD3+ и CD3+CD4+ было достоверно снижено по сравнению с группой контроля, также отмечена тенденция к дальнейшему снижению содержания Treg и NKT-клеток (p < 0,005). На Д+100 наблюдалось увеличение содержания популяции зрелых Т-лимфоцитов (CD3+) за счет значительного прироста количества CD3+CD8+ (p < 0,005 по сравнению с группой контроля). При этом относительное содержание CD3+CD4+ и минорных популяций — Treg и NKT-клеток — оставалось сниженным (p < 0,005). На Д+180 и Д+360 после аутоТГСК у больных ММ сохранялся дисбаланс содержания основных иммунорегуляторных популяций Т-лимфоцитов: низкое содержание Т-хелперов CD3+CD4+ и значительно повышенное количество цитотоксических Т-лимфоцитов CD3+CD8+, а также низкое содержание Treg. При этом отмечался прирост NK-клеток CD3-CD16+. Содержание CD19+ В-лимфоцитов у больных ММ было значительно снижено во всех временных точках.

Таким образом, после высокодозной химиотерапии и аутоТГСК больные ММ остаются длительное время иммунокомпromетированными. Восстановление субпопуляционного состава клеток иммунной системы до нормальных величин оказывается длительным, что требует дальнейшего наблюдения и анализа.

**Ключевые слова.** Множественная миелома, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, клеточный иммунитет

**Введение.** Множественная миелома ассоциирована с развитием иммунодефицитного состояния и представляет собой заболевание с опухолевым поражением В-клеточного иммунитета, следствием чего является уменьшение численности нормальных антителопродуцирующих клеток [1]. Известно, что восстановление Т-лимфоцитов после высокодозной химиотерапии (ВДХТ) и трансплантации гемопоэтических

control group were observed only when comparing the amount of minor populations of T-lymphocytes: a decrease in the relative amount of Treg (CD3+CD4+CD25+) and NKT-cells (CD3+CD16+) (p < 0,005). At D+15 after autoHSCT the percentage of CD3+ and CD3+CD4+ cells was significantly lower compared to control group, also there was a tendency for further decrease of Treg and NKT-cells (p < 0,005). At D+100 an increase in the percentage of the mature T-lymphocyte population (CD3+) was observed due to a significant increase in the number of CD3+CD8+ cells compared with the control group (p < 0.005). At the same time, the relative content of CD3+CD4+ and minor subsets — Treg and NKT cells — remained reduced. (p < 0.005). At days +180 and +360 post-autoHSCT in patients with MM, there was an imbalance in the main immunoregulatory T-lymphocyte subset: decreased T-helper cells (CD3+CD4+) and a significantly increased number of cytotoxic T-lymphocytes (CD3+CD8+), as well as a low content of Treg. An increase in NK cells of CD3-CD16+ was noted. The content of CD19 + B-cells in MM patients was significantly reduced at all time points. Thus, after high-dose chemotherapy and autoHSCT, patients with MM remain immunocompromised for a long time. The restoration of the immune subset composition to normal values is lengthy, which requires further observation and analysis.

**Key words.** Multiple myeloma, autologous hemopoietic stem cell transplantation, cellular immunity.

стволовых клеток (ТГСК) значительно отстает от регенерации миелоидных, NK и В-клеток [2]. При этом численное восстановление Т-клеток зачастую не сопровождается восстановлением нормального их функционирования [3], что в свою очередь чревато развитием инфекционных осложнений и рецидивом заболевания.

Ранее было показано [4], что после ВДХТ и аутологичной ТГСК (ауто-ТГСК) наблюдается

длительная задержка восполнения количества CD4+ Т-лимфоцитов, а также объема репертуара Т-лимфоцитов по специфичности. Вероятно, этот эффект связан с иммунорегуляторной способностью трансплантированных ГСК. Выявленные закономерности заставляют, в частности, обратить внимание на риск развития иммунодепрессии, связанной с использованием ГСК. Отмечено, что динамика восстановления функций иммунной системы до нормальных параметров носит длительный характер.

Существуют данные, свидетельствующие о том, что в первую очередь нормальных величин достигает содержание в крови гранулоцитов (15–30 дней), затем — дендритных клеток и NK-клеток (2–4 месяца) [5]. Уровень В-лимфоцитов восстанавливается в течение 6 месяцев, а общее количество зрелых CD3+ Т-клеток остаётся пониженным дольше и восстанавливается дифференцировано. Вначале формируется пул цитотоксических CD3+CD8+ лимфоцитов, затем — пул Т-хелперов CD3+CD4+, необходимых для формирования и размножения клонов В-лимфоцитов, от числа которых зависит широта репертуара синтезируемых антител. Восстановление численности клеток CD3+CD4+ Т-хелперов завершается только в течение второго года после трансплантации.

Пониженными остаются также показатели полноты репертуара клонов Т-лимфоцитов, различающихся между собой строением лёгкой цепи TCR [4].

Считают, что замедление образования новых клонов Т-лимфоцитов в течение длительного времени после ауто-ТГСК, в свою очередь, защищает стволовые клетки от иммунологически активных лимфоцитов.

Предполагается, что малигнизированные В-клетки могут ускользать от иммунного надзора при злокачественных заболеваниях системы крови посредством многообразных механизмов, важную роль среди которых отводят регуляторным Т-клеткам (Treg), способным подавлять активность отдельных субпопуляций эффекторных лимфоцитов [6]. Баторов Е. В. и соавт. [7] показали, что количество CD4+FOXP3+ Т-клеток полностью восстанавливалось и значимо превышало исходную концентрацию ко дню выхода из лейкопении, а в последующем (в течение года) их относительное содержание постепенно снижалось до нормы. При этом авторами продемонстрировано, что больные с рецидивом ММ в течение первых 12 мес после ауто-ТГСК отличались значимо более высо-

ким относительным содержанием CD4+FOXP3+ Т-клеток на момент выхода из лейкопении. Митиной Т. А. [8] дана характеристика регенерации Т-клеточной системы иммунитета в процессе VCP терапии (бортезомиб, циклофосфан, преднизолон) у пациентов с впервые выявленной множественной миеломой. Автором установлено исходное повышение по сравнению с группой здоровых доноров количества Т-лимфоцитов, представленных субпопуляцией CD3+CD8+CD62L–CD45RA+. Показано, что цитостатическая депрессия характеризовалась достоверным снижением количества всех исследуемых субпопуляций, с восстановлением до субнормальных нормальных значений к 30 дню межкурсового интервала.

В целом, сведения о состоянии иммунологической реактивности больных ММ в отдаленные сроки после ВХДТ и аутоТГСК носят разноречивый характер. Кроме того, отсутствует единое мнение о сроках реконституции иммунной системы, что не позволяет разработать адекватные иммунореабилитационные мероприятия.

В связи вышеизложенным целью данного исследования явилась комплексная оценка состояния клеточного звена иммунитета у больных множественной миеломой (ММ) до и после аутоТГСК.

**Материал и методы.** В исследование были включены 123 пациента с ММ, которым была проведена аутоТГСК в Республиканском центре трансплантации костного мозга ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России за период с 2014 г по 2019 г. Средний возраст составил 58 лет (32–64 года). Соотношение женщины / мужчины — 1,27:1. Все больные получали бортезомиб-содержащую химиотерапию по схеме CVD (циклофосфан + бортезомиб + дексаметазон) или по схеме VD (бортезомиб + дексаметазон). Мобилизация ГСК периферической крови чаще проводилась винорелбином (однократно, внутривенно струйно в дозе 35 мг / м<sup>2</sup>) в соответствии с протоколом, утвержденным локальным этическим комитетом (№ 20 от 08.04.2015 г.), или циклофосфамидом (однократно, в дозе 3–4 г / м<sup>2</sup>) с последующим введением Г-КСФ (ленограстим или граноцит) по 10 мкг / кг / сут ежедневно, подкожно в двух равных инъекциях [9]. Режим кондиционирования перед аутоТГСК включал введение мелфалана в течение двух дней в суммарной дозе 200 мг / м<sup>2</sup>, у пациентов с тяжелой сопутствующей патологией суммарная доза мелфалана была снижена до 140 мг / м<sup>2</sup>.

Забор крови и все иммунологические исследования проводили после получения письменного информированного согласия больного.

В пятицветном анализе методом многопараметрической проточной цитометрии с помощью моноклональных антител к дифференцировочным антигенам (CD3, CD4, CD8, CD16+56, CD25, CD19) проводилась оценка относительного содержания основных и минорных популяций лимфоцитов периферической крови до аутоТГСК (перед началом кондиционирования, n = 123), после аутоТГСК в день выхода из лейкопении (лейкоциты более 1 × 10<sup>9</sup>/л, в среднем на 14–30-й день, n = 112), на Д+100 (n = 65), 6 мес. (n = 32) и через 12 мес. (n = 12).

Число больных, обследованных в различные контрольные сроки, варьировало в свя-

зи с отсутствием возможности в ряде случаев получить образцы крови либо недостаточным количеством лимфоцитов для исследования.

В качестве группы сравнения было обследовано 35 здоровых доноров крови.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0. Для оценки значимости различий между группами больных использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни для непрерывных переменных. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости p < 0,05.

**Результаты и обсуждение.** Результаты исследования субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у больных ММ в процессе аутоТГСК представлены в таблице.

Таблица

Динамика субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови больных множественной миеломой в процессе аутоТГСК

Популяция лимфоцитов	Обследованные группы					
	доноры	До аутоТГСК	После аутоТГСК Д+15	После аутоТГСК Д+100	После аутоТГСК Д+180	После аутоТГСК Д+380
CD3+ (%)	61,3±0,9	65,8±1,8	53,4±4,5*	75,2±5,0*	60,5±4,5	60,4±1,5
CD3+CD4+ (%)	36,9±0,9	34,9±1,5	24,7±3,7**	23,1±7,3**	21,9±4,4**	20,6±2,5**
CD3+CD4+CD25+ (Treg) (%)	3,2±0,9	1,82±0,2**	1,43±0,4**	1,41±0,5**	1,3±0,3**	0,77±0,3**
CD3+CD8+ (%)	24,8±0,9	27,8±1,9	24,5±4,4	48,4±7,0**	34,1±4,0**	33,9±3,6**
CD3-CD16+ (%)	24,0±1,1	19,9±1,6	29,5±4,9	13,9±3,5*	19,6±4,0	25,8±3,0
CD3+CD16+ (NKT) (%)	4,26±0,6	1,95±0,5**	1,85±0,5**	0,95±0,4**	5,71±2,0	4,26±0,7
CD19+ (%)	22,0±1,2	6,79±0,8**	0,7±0,3**	8,13±3,0**	12,2±3,0**	9,77±1,3**

\* — p < 0,05, достоверность различий по сравнению с контрольной группой

\*\* — p < 0,005, достоверность различий по сравнению с контрольной группой

Оценка Т-клеточного звена иммунитета показала, что у больных ММ до проведения аутоТГСК, перед началом режима кондиционирования, показатели относительного содержания зрелых Т-лимфоцитов (CD3+) и основных иммунорегуляторных популяций Т-лимфоцитов CD3+CD4+ и CD3+CD8+ были в пределах нормы и не отличались от таковых в группе контроля. Достоверные различия между группой больных и группой контроля мы получили только при сравнении содержания минорных популяций Т-лимфоцитов: наблюдалось снижение относительного содержания Treg (CD3+CD4+CD25+)

и NKT-клеток (CD3+CD16+) (p < 0,005).

В группе больных ММ после аутоТГСК на Д+15, приблизительно в день выхода из лейкопении (содержание лейкоцитов более 1 × 10<sup>9</sup>/л), отмечалось достоверное снижение содержания зрелых Т-лимфоцитов CD3+ и Т-хелперов CD3+CD4+, по сравнению с группой контроля. Также выявлена тенденция к дальнейшему снижению количества минорных популяций Treg и NKT-клеток (p < 0,005).

Исследования субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови на Д+100 после аутоТГСК показало восстановление содер-

жания популяции зрелых Т-лимфоцитов CD3+ за счет значительного прироста количества цитотоксических Т-лимфоцитов CD3+CD8+, различия по сравнению с группой контроля были достоверными ( $p < 0,005$ ). Также отмечалось снижение относительного содержания популяции Т-хелперов CD3+CD4+ и минорных популяций — Тreg и NKT-клеток ( $p < 0,005$ ).

На Д+180 и Д+360 после аутоТГСК у больных ММ наблюдался дисбаланс содержания основных иммунорегуляторных популяций Т-лимфоцитов: низкое содержание Т-хелперов CD3+CD4+ и значительно повышенное количество цитотоксических Т-лимфоцитов CD3+CD8+, а также низкое содержание Тreg CD3+CD4+CD25+ клеток. При этом отмечался прирост NK-клеток CD3-CD16+.

Следует отметить, что у больных ММ во всех временных точках содержание CD19+ В-лимфоцитов было значительно снижено по сравнению с группой контроля.

После ВДХТ и аутоТГСК больные ММ остаются длительное время иммунокомпрометированными. Восстановление субпопуляционного состава клеток иммунной системы до нормальных величин оказывается длительным, что требует дальнейшего наблюдения и анализа.

Повышенное содержание цитотоксических Т-лимфоцитов и NK-клеток у больных ММ после аутоТГСК, может рассматриваться в качестве предиктора клинического эффекта. Отставание формирования пула Т-хелперов CD3+CD4+ может быть связано с их чувствительностью к апоптозу и возрастной инволюцией тимуса.

У большинства пациентов с ММ (85 %–90 %) на момент установки диагноза наблюдается т.н. «иммунопарез» [10]. Это состояние проявляется в виде снижения уровня поликлональных или не пораженных опухолевым процессом иммуноглобулинов. [11]. В феномене иммунопареза задействован ряд механизмов, например, нарушенная дифференцировка В-клеток, связанная с дисфункцией гуморального и клеточного иммунитета, а также снижение численности В-лимфоцитов, обусловленное цитокинами, ко-

торые продуцируют миеломные клетки (TGF- $\beta$ ). [12]. V. Gonzalez-Calle et al. [13] высказали предположение, что сохранение иммунопареза после ауто-ТГСК наряду с прочими маркерами иммунной дисфункции может служить предиктором прогрессии или снижения выживаемости у пациентов с ММ.

Низкое содержание В-лимфоцитов CD19+ свидетельствует о недостаточности гуморального звена иммунитета у пациентов всего периода наблюдения, а в сочетании с низким содержанием Т-хелперов CD3+CD4+, может способствовать развитию инфекционных осложнений у больных ММ после аутоТГСК. Анализ полученных данных, с учетом сведений об инфекционных осложнениях, может способствовать установлению критических величин содержания иммунорегуляторных клеток в процессе восстановления после аутоТГСК, ниже которых необходимо проводить иммунокорректирующую терапию, например, введение внутривенных иммуноглобулинов, с целью снижения риска возникновения инфекционных осложнений и нормализации иммунного гомеостаза.

Наше исследование показало, что низкое относительное содержание минорной популяции Тreg клеток на протяжении всего периода наблюдения может быть показателем эффективности аутоТГСК, тогда как развитие рецидива заболевания ассоциируется с более высоким содержанием этой популяции Т-лимфоцитов, что не противоречит данным других исследователей [7, 14].

Естественные киллерные (NK) клетки и  $\gamma\delta$  Т-лимфоциты, обладающие цитотоксической способностью, восстанавливаются в ранние сроки после аутоТГСК и способствуют иммуносупрессии опухоли, а также осуществляют контроль за инфекционным процессом [15; 16].

Исследование клеточного звена иммунитета в отдаленные сроки после ауто-ТГСК позволит получить данные, которые смогут более полно охарактеризовать процессы реконституции иммунной системы в посттрансплантационном периоде.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бессмельцев С. С. Множественная миелома (патогенез, клиника, диагностика, дифференциальный диагноз). Часть I. // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. — 2013. — Т. 6, № 3. — С. 237–257.
2. Hakim F. T., Cepeda R., Kaime S. et al. Constraints on CD4 recovery postchemotherapy in adults: thymic insufficiency and apoptotic decline of expanded peripheral CD4 cells // Blood. — 1997. — № 90. — P. 3789–3798
3. Small T. N., Papadopoulos E. B., Boulad F. et al. Comparison of immune reconstitution after unrelated and related T-cell-depleted bone marrow transplantation: effect of patient age and donor leukocyte infusions // Blood. — 1999. — № 93. — P. 467–480
4. Ляшенко В. А., Гольдштейн Д. В., Ржанинова А. А. Воздействие стволовых клеток на ранние этапы формирования трансплантационного иммунитета // Медицинская иммунология. — 2005. — Т. 7, № 5–6. — С. 489–494
5. Минаева Н. В., Загоскина Т. П., Сведенцов Е. П., Зайцева Г. А., Исаева Н. В., Зорина Н. А. Состояние системы иммунитета у пациентов с гемобластомами после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в позднем посттрансплантационном периоде // Медицинская иммунология. — 2012. — Т. 14, № 6. — С. 519–526.
6. Feyler S., Scott G. B., Parrish C. et al. Tumour cell generation of inducible regulatory T-cells in multiple myeloma is contact-dependent and antigen-presenting cell-independent // PLoS One. — 2012. — V. 7, № 5. — e35981
7. Баторов Е. В., Тихонова М. А., Крючкова И. В. и соавт. Динамика восстановления CD4+FOXP3+ Т-клеток после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток у больных множественной миеломой // Гематология и трансфузиология. — 2017. — Т. 62, № 1. — С. 15–19.
8. Митина Т. А. Эффективность противоопухолевой терапии и иммунологический мониторинг множественной миеломы: Дис. ... докт мед. наук: М., 2015 (<http://www.fnkc.ru/diss-socket/dissday/mitina/010.pdf>)
9. Грицаев С. В., Кузьева А. А., Кострома И. И. и соавт. Первый опыт мобилизации гемопоэтических стволовых клеток в периферической крови винорелбином у больных лимфопролиферативными заболеваниями // Медицина экстремальных ситуаций. — 2017. — Т. 62, № 4. — С. 30–35.
10. Kastiris E., Zagouri F., Symeonidis A., et al. Preserved levels of uninvolved immunoglobulins are independently associated with favorable outcome in patients with symptomatic multiple myeloma // Leukemia. — 2014. — V. 28, № 10. — P. 2075–2079
11. Kyrtsonis M., Mouzaki A., Maniatis A. Mechanisms of polyclonal hypogammaglobulinaemia in multiple myeloma (MM) // Med Oncol. — 1999. — V. 16, № 2. — P. 73–77
12. Quach H., Ritchie D., Stewart A., et al. Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDs) in multiple myeloma // Leukemia. — 2010. — V. 24, № 1. — P. 22–32
13. Gonzalez-Calle V., Cerda S., Labrador J. et al. Recovery of polyclonal immunoglobulins one year after autologous stem cell transplantation as a long-term predictor marker of progression and survival in multiple myeloma // Haematologica. — 2017. — V. 102, № 5. — P. 922–931
14. Muthu Raja K. R., Rihova L., Zahradova L. et al. Increased T regulatory cells are associated with adverse clinical features and predict progression in multiple myeloma // PLoS One. — 2012. — V. 7, № 10. — e47077
15. Субботина Н. Н., Долгополов И. С., А. В. Попа и соавт. Гаплоидентичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей с острыми миелоидными лейкозами: эволюция метода и собственные данные // Клиническая онкогематология. — 2014. — Т. 7, № 2. — С. 131–136.
16. de Witte M., Sarhan D., Davis Z. et al. Early reconstitution of NK and  $\gamma\delta$  T cells and its implication for the design of post-transplant immunotherapy // Biol. Blood Marrow Transplant. — 2018. — V. 24, № 6. — P. 1152–1162

Булдаков И. А.<sup>1</sup>, Полушкина Л. Б.<sup>1</sup>, Шuvaев В. А.<sup>1</sup>, Самородова А. П.<sup>1</sup>, Фоминых М. С.<sup>1,4</sup>,  
Бессмельцев С. С.<sup>1</sup>, Четкин А. В.<sup>1</sup>, Волошин С. В.<sup>1,2,3</sup>, Мартынкевич И. С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА, Санкт-Петербург  
<sup>2</sup> ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург  
<sup>3</sup> ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург  
<sup>4</sup> ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ (NGS) ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С МИЕЛОИДНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

Buldakov I. A.<sup>1</sup>, Polushkina L. B.<sup>1</sup>, Shuvaev V. A.<sup>1</sup>, Samorodova A. P.<sup>1</sup>, Fominykh M. S.<sup>1,4</sup>,  
Bessmeltsev S. S.<sup>1</sup>, Chechetkin A. V.<sup>1</sup>, Voloshin S. V.<sup>1,2,3</sup>, Martinkevich I. S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint-Petersburg  
<sup>2</sup> Military Medical Academy named after S. M. Kirova, Saint-Petersburg  
<sup>3</sup> North-West State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg  
<sup>4</sup> Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg

### USE OF THE NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) FOR THE DIAGNOSTICS OF PATIENTS WITH MYELOID NEOPLASMS

**Резюме.** Стремительное развитие технологии NGS существенно расширило рамки представлений о патогенезе миелоидных новообразований. Помимо стандартных цитогенетических и молекулярно-генетических исследований метод NGS все чаще входит в рутинную практику при диагностике миелоидных новообразований, при прогнозировании течения заболевания, а также при выборе таргетной терапии. В данной работе в рамках рутинной лабораторной практики были проанализированы результаты NGS исследования панели генов у 21 пациента с различными типами и фазами миелоидных новообразований. У каждого пациента было показано наличие тех или иных генетических aberrаций, количество которых варьировало от 4 до 12. У 6 из 9 пациентов с обнаруженными 2 и более клинически значимыми мутациями в анамнезе наблюдалась бластная трансформация. У пациентов с драйверными мутациями бластной трансформации сопутствовали дополнительные мутации в генах, ответственных за эпигенетическую регуляцию, а у тринегативных пациентов по драйверным мутациям — в генах, ответственных за передачу сигнала. Результаты секвенирования панели генов методом NGS позволяют не только достоверно установить диагноз, определить прогностические особенности течения заболевания, но и, благодаря накоплению и систематизации данных, обнаружению новых мутаций, способствуют более глубокому пониманию патогенеза миелоидных новообразований.

**Abstract.** The rapid development of NGS technology has significantly expanded the understanding of the pathogenesis of myeloid neoplasms. In addition to standard cytogenetic and molecular genetic studies, the NGS method is increasingly entering into routine practice for diagnostics of myeloid neoplasms, for predicting prognosis, and also for choosing targeted therapy. In this work, we analyzed the NGS results of the gene panel study for 21 patients with various types and phases of myeloid neoplasms. The presence of certain genetic aberrations varied from 4 to 12 per patient was shown. 6 from 9 patients with detected 2 or more clinically significant mutations, had a blast transformation in the anamnesis. The patients with driver mutations had blast transformation in presence additional mutations in the genes responsible for epigenetic regulation and three negatives for driver mutations patients had blast transformation in presence additional mutations in the genes responsible for signal transduction. The results of sequencing the gene panel by the NGS method can reliably help to diagnose, to determine the prognostic features of the disease, and through the accumulation and systematization of data, the detection of new mutations, to contribute to a better understanding of the pathogenesis of myeloid neoplasms.

**Key words.** Myeloproliferative neoplasms (MPN), next-generation sequencing, NGS, mutations, prognosis.

**Ключевые слова.** Миелопролиферативные новообразования, секвенирование следующего поколения, мутации, прогноз

**Введение.** Миелопролиферативные новообразования (МПН) — группа гематологических заболеваний клональной природы, характеризующихся чрезмерной пролиферацией клеток миелоидного происхождения. Генетический профиль МПН зачастую очень гетерогенен и соответствующие ему системы стратификации по степени молекулярного риска постоянно дополняются. По наличию высокоспецифической для ХМЛ характерной транслокации t(9;22) (филадельфийской хромосомы Ph) принято выделять Ph+ и Ph- МПН. Для большинства случаев Ph- МПН (эссенциальная тромбоцитемия — ЭТ, истинная полицитемия — ИП и первичный миелофиброз — ПМФ) характерны драйверные соматические мутации, возникающие в гемопоэтических стволовых клетках и активирующие JAK2-STAT сигнальный путь (JAK2, CALR, MPL) [1, 6, 9]. Помимо драйверных мутаций у многих пациентов с МПН обнаруживаются генетические aberrации в генах, ответственных за метилирование ДНК (TET2, IDH1, IDH2, DNMT3A), модификацию хроматина (ASXL1, EZH2, KMT2A, SUZ12), сплайсинг (SRSF2, U2AF1, SF3B1, ZRSR2), передачу сигнала (FLT3, KIT, NF1, CSF3R, LNK, SH2B3, CBL, NRAS, KRAS, PTPN11, BRAF, GNAS, STAT3, STAT5B, PDGFRA, PDGFRB), в генах клеточного цикла (TP53, WT1, NPM1), в транскрипционных факторах (RUNX1, CEBPA, SETBP1, BCOR, ETV6, PHF6, GATA2) и в генах комплекса когезии (STAG2, SMC1A, SMC3, RAD21) [1, 5, 6, 7, 8, 9, 10]. Так, для пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) важно определение мутационного статуса генов ASXL1, CEBPA, DNMT3A, FLT3, IDH1/2, KIT, KMT2A, NPM1, RUNX1, TET2, TP53 и WT1; для пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС) — ASXL1, DNMT3A, EZH2, RUNX1, SRSF2, TET2, TP53 и U2AF1; для пациентов с хроническим миеломоноцитарным лейкозом (ХММЛ) — ASXL1, CBL, EZH2, NRAS/KRAS, RUNX1, SETBP1, SRSF2 и TET2 [3, 4, 6, 7, 8]. Определение мутационного статуса генов в каждом конкретном случае МПН важно не только при постановке диагноза и прогнозировании течения заболевания, но и при выборе наиболее эффективной таргетной терапии (ингибиторы IDH1, FLT3), выборе маркера мониторинга минимальной остаточной болезни [2]. Поэтому в рекоменда-

ции ВОЗ, помимо стандартных цитологических (клинический анализ крови и исследование миелограммы) и цитогенетических методов исследования (кариотипирование, fluorescent hybridization *in situ* FISH), включены методы определения мутационного статуса характерных для той или иной нозологии генов [6]. Наиболее перспективным из них является метод высокопроизводительного секвенирования следующего поколения NGS (next generation sequencing), который позволяет анализировать одновременно целый ряд генов (панели генов), участвующих в патогенезе МПН.

Результаты NGS исследования помогают не только подтвердить клональность в сложных диагностических случаях, у пациентов с нормальным кариотипом, но и стратифицировать пациентов на группы риска [1, 3, 4]. Также стоит отметить, что чувствительность секвенирования по Сэнгеру ограничена 10 % аллельной нагрузкой (VAF, variant allele frequency) и не всегда позволяет обнаружить мутации [1, 9]. При этом на порядок выше разрешающая чувствительность NGS метода (до 1 % VAF) способствует обнаружению мутаций не только *de novo*, но и, сопутствующих основным, мутаций с низкой аллельной нагрузкой, характеризующих клональную эволюцию заболевания и влияющих тем самым на прогноз течения заболевания [13]. Таким образом, исследование таргетных панелей генов методом NGS позволяет получить наиболее полную информацию о заболевании, которая способствует не только адекватной диагностике миелоидных новообразований, но и определяет прогностические особенности течения заболевания.

**Цель исследования.** Оценить возможности использования NGS технологии в диагностике и определении прогноза течения заболевания у пациентов с различными вариантами миелоидных новообразований в рамках рутинной лабораторной практики.

**Материалы и методы.** Проведено исследование у 21 пациента (9 мужчин и 12 женщин) в возрасте от 36 до 79 лет (медиана Me = 55 лет). Диагноз миелопролиферативных новообразований, не ассоциированных с филадельфийской хромосомой (Ph- МПН), был установлен у 18 больных (в том числе у 5 — в фазе бласт-

ной трансформации), миелодиспластических синдромов (МДС) — у 2, первичный острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) — у 1 пациента. Исследование проводилось с целью установления клональной природы заболевания у 12 больных без драйверных мутаций в генах *JAK2*, *CALR*, *MPL*, у остальных — для выявления дополнительных прогностически значимых генетических aberrаций. У всех пациентов секвенирование выполнялось с использованием миелоидной панели из 55 генов со средней глубиной прочтения 200x или 1000x на приборе MiSeq (Illumina). При анализе полученных данных применялся 2 % порог частоты встречаемости аллеля (VAF). Клиническая значимость мутаций устанавливалась по базам данных COSMIC и ClinVar.

**Результаты и обсуждение.** По результатам NGS исследования у 21 пациента было выявлено 144 мутации (таблица 1), из которых

76, в соответствии с базами данных COSMIC и ClinVar, были отмечены как однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) и исключены из последующего анализа. 68 мутаций носили соматический характер, 26 из которых с доказанной клинической значимостью и 42 мутации — с неясным клиническим значением.

Генетические aberrации выявлены у всех исследуемых пациентов, в среднем определялись 7 мутаций (от 4 до 12 у одного больного). При этом мутации соматической природы выявлены в 95 % случаев (20 / 21) в количестве от 1 до 8 (в среднем 3 мутации на одного пациента). В 71 % исследуемых проб (15 / 21) обнаруживались от 1 до 3 мутаций с известной клинической значимостью. При контрольном секвенировании по Сэнгеру клинически значимых мутаций наблюдалась 100 % конкордантность с результатами NGS.

Таблица 1

Результаты NGS исследования у пациентов с миелолипролиферативными новообразованиями

Пациент	Пол	Возраст	Диагноз	Гены с клинически значимыми мутациями	Гены с клинически неизвестными мутациями
1	ж	—	ПМФ/БТ	<i>JAK2</i> , <i>ASXL1</i>	<i>CBL</i> , <i>SF3B1</i> , <i>JAK2</i> , <i>SMC3</i> , <i>NF1</i>
2	м	65	ПМФ	<i>JAK2</i> , <i>ASXL1</i>	<i>GNAS</i>
3	ж	56	ХМПН	<i>JAK2</i>	<i>TET2</i> , <i>PDGFRA</i>
4	ж	55	ПМФ/БТ	<i>CALR</i> , <i>ASXL1</i> , <i>IDH1</i>	—
5	ж	47	ЭТ	<i>IDH1</i>	<i>KIT</i> , <i>SF3B1</i> , <i>SETBP1</i>
6	ж	60	ОМЛ	<i>CALR</i> , <i>ASXL1</i> , <i>EZH2</i>	<i>GNAS</i> , <i>PDGFRA</i>
7	ж	79	МДС/ХММЛ	<i>CALR</i> , <i>KRAS</i>	<i>EZH2</i>
8	м	—	МПН	—	<i>NOTCH1</i> , <i>ETV6</i> , <i>GATA2</i> , <i>RUNX1</i>
9	м	46	ХМЛ	—	<i>DNMT3A</i>
10	м	—	МПН	<i>JAK2</i>	<i>NOTCH1</i> , <i>SH2B3</i>
11	ж	78	МДС	<i>NRAS</i>	<i>NOTCH1</i>
12	м	38	МПН-н/МДС/БТ	<i>KRAS</i> , <i>TET2</i>	<i>ETV6</i>
13	м	55	ХМПН	<i>U2AF1</i> , <i>CBL</i>	<i>GATA2</i> , <i>SETBP1</i>
14	ж	39	ОМЛ	<i>PTPN11</i> , <i>WT1</i>	<i>DNMT3A</i> , <i>NF1</i> , <i>CUX1</i>
15	м	69	МПН	—	<i>TP53</i>
16	ж	—	—	—	<i>NOTCH1</i> , <i>EZH2</i>
17	ж	72	ХММЛ/ОМЛ	<i>KRAS</i> , <i>TET2</i>	<i>CBL</i> , <i>SH2B3</i> , <i>NF1</i> , <i>SETBP1</i>
18	ж	52	ХМПН	—	—
19	м	36	ХМПН	<i>JAK2</i>	<i>JAK2</i> , <i>NF1</i> , <i>ASXL1</i>
20	м	55	ХМПН	—	<i>NOTCH1</i> , <i>ASXL1</i>
21	ж	55	ХМПН	<i>JAK2</i>	<i>GATA2</i>

Дополнительные соматические мутации были обнаружены у всех больных с драйверной мутацией и у 92 % пациентов с Ph-МПН (11 / 12) — с тройным негативным мутационным статусом, что позволило подтвердить

клональность и верифицировать диагноз заболевания. Важно отметить, что у 6 из 8 (75 %) больных с обнаруженными 2-мя и более клинически значимыми мутациями наблюдалась бластная трансформация. В группе пациентов

с драйверными мутациями бластной трансформации сопутствовали дополнительные клинически значимые мутации в генах *ASXL1* (3 / 6), *EZH2* (1 / 6), *IDH1* (1 / 6), ответственные за эпигенетическую регуляцию (пациенты 1, 4, 6). В то время как у тринегативных по драйверным мутациям пациентов — клинически значимые мутации в генах *KRAS* (2 / 6) и *PTPN11* (1 / 6), ответственные за передачу сигнала (пациенты 12, 14, 17) (рисунок 1). Наиболее частыми из мутаций с неопределенной клинической значимостью были мутации в генах *NF1* (4 / 21), *SETBP1* (3 / 21) и *GATA2* (3 / 21), а при бластных фазах — мутации в генах *NF1* (3 / 6) и *CBL* (2 / 6).

Пациенты с 2 и более клинически значимыми мутациями в анамнезе ассоциировались с высоким риском развития ОМЛ, и наиболее патогенными для такого сценария являлись комбинации с мутациями гена *ASXL1*. Особый интерес вызывали мутации с неопределенной

на данный момент клинической значимостью и их возможный вклад в патогенез и клональную эволюцию МПН. В частности, в нашем исследовании была обнаружена частая встречаемость у пациентов с бластной трансформацией мутаций в гене *NF1*. Этот ген кодирует активирующий ГТФазу белок (GAP, GTPase activating protein), который участвует в ингибировании RAS / MAPK пути передачи сигнала в клетку, и является супрессором опухолей. Мутации в данном гене часто ассоциированы с развитием ХММЛ и ЮММЛ, устойчивостью к терапии и снижением общей выживаемости [14, 15]. В нашем исследовании только у одного пациента с мутацией *NF1* был диагностирован ХММЛ (пациент 17), а у двух других ПМФ (пациент 1) и ОМЛ (пациент 15), но для всех них был отмечен быстрый переход в фазу бластной трансформации.

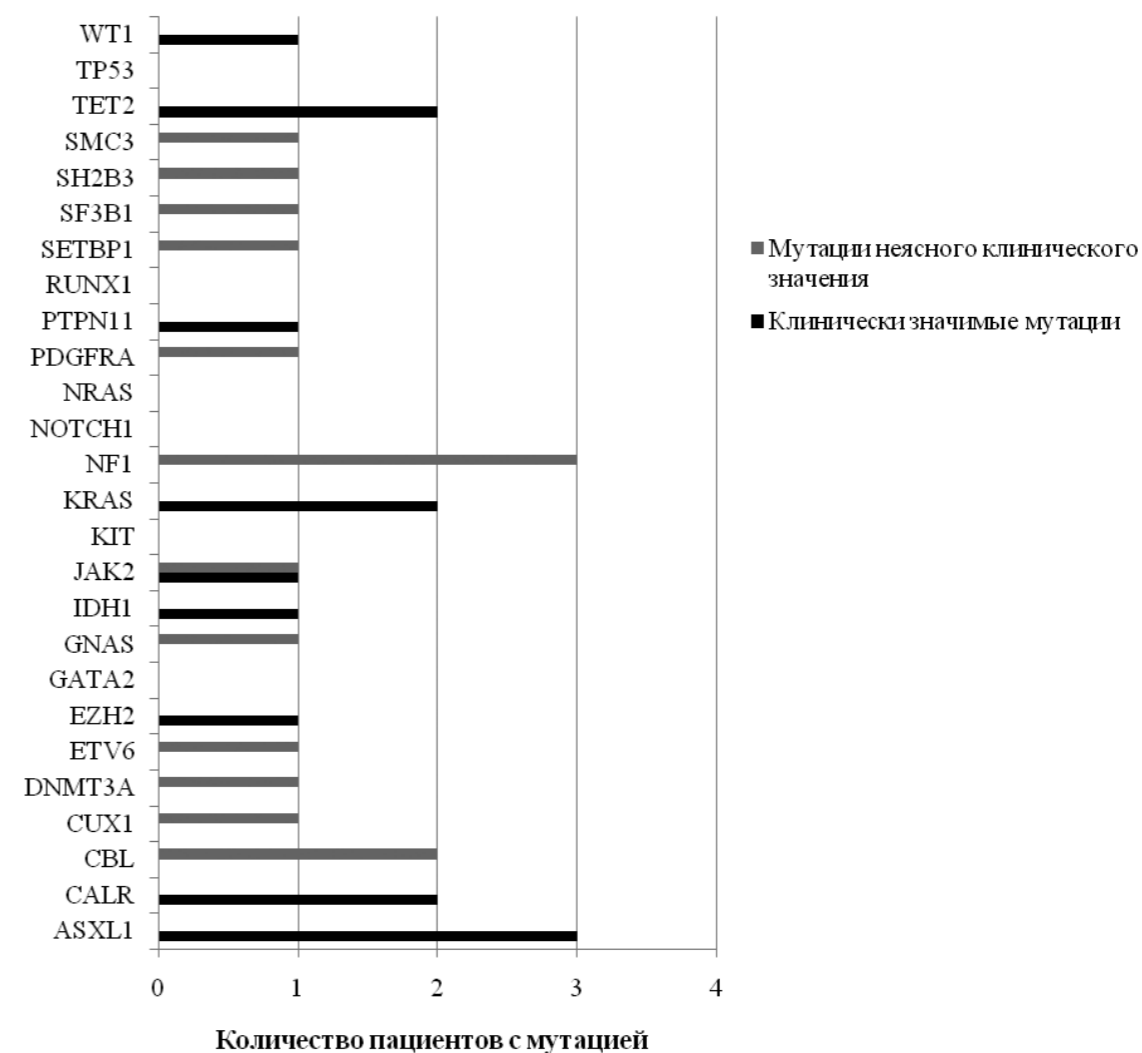


Рисунок 1. Встречаемость мутаций в генах у пациентов с бластной трансформацией в анамнезе.



Это позволило нам предположить прогностическую ценность мутаций в гене *NF1* для пациентов с комплексным мутационным статусом.

**Заключение.** Таким образом, данные, полученные при применении NGS технологии, позволяют подтвердить клональную природу заболевания в сложных диагностических

случаях, что может послужить основой для разработки наиболее точных прогностических систем стратификации рисков у больных миелолипролиферативными новообразованиями и делает возможным персонализированное лечение.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Bacher U., Shumilov E., Flach J., Porret N., Joncourt R., Wiedemann G., Fiedler M., Novak U., Amstutz U., Pabst T. Challenges in the introduction of next-generation sequencing (NGS) for diagnostics of myeloid malignancies into clinical routine use. // *Blood Cancer J.* 2018.— Vol. 8.— № 8.— P. 113.
- Maes B., Willemse J., Broekmans A. et al. Targeted next-generation sequencing using a multigene panel in myeloid neoplasms: Implementation in clinical diagnostics. // *Int J Lab Hem.* 2017.— Vol. 39.— № 39.— P. 604–612.
- Tefferi A., Lasho T. L., Patnaik M. M. et al. Targeted next-generation sequencing in myelodysplastic syndromes and prognostic interaction between mutations and IPSS-R. // *Am J Hematology.*— 2017.— Vol. 92.— № 92.— P. 1311–1317.
- Tefferi A., Gangat N., Mudireddy M. et al. Mayo Alliance Prognostic Model for Myelodysplastic Syndromes: Integration of Genetic and Clinical Information. // *Mayo Clin Proc.*— 2018.— Vol. 93.— № 1.— P. 1363–1374.
- Marneth A. E., Mullally A. The molecular genetics of myeloproliferative neoplasms. // *Cold Spring Harb Perspect Med.*— 2020.— Vol. 10.— № 10.— P. 183–197.
- Arber D. A., Orazi A., Hasserjian R., et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. // *Blood.*— 2016.— Vol. 127.— № 127.— P. 2391–2405.
- Vannucchi A., Guglielmelli P., Rotunno G., et al. Mutation-enhanced international prognostic scoring system (MIPSS) for primary myelofibrosis: an AGIMM&IWG-MRT project. // *Blood.*— 2014.— Vol. 124.— № 124.— P. 405.
- Boddu P. C., Kadia T. M., Garcia-Manero G., Cortes J., Alfayez M., Borthakur G., Konopleva M., Jabbour E. J., Daver N. G., DiNardo C. D., Naqvi K., Yilmaz M., Short N. J., Pierce S., Kantarjian H. M., Ravandi F. C. Validation of the 2017 European LeukemiaNet classification for acute myeloid leukemia with *NPM1* and *FLT3*-internal tandem duplication genotypes. // *Cancer.*— 2019.— Vol. 125.— № 125.— P. 1091–1100.
- Palumbo G. A., Stella S., Pennisi M. S., Piroso C., Fermo E., Fabris S., Cattaneo D., Iurlo A. The Role of New Technologies in Myeloproliferative Neoplasms. // *Front Oncol.*— 2019.— Vol. 9.— № 9.— P. 321.
- Carbonell D., Suárez- González J., Chicano M., Andrés- Zayas C., Triviño J. C., Rodríguez-Macías G., Bastos-Oreiro M., Font P., Ballesteros M., Muñoz P., Balsalobre P., Kwon M., Anguita J., Díez-Martín J. L., Buño I., Martínez-Laperche C. Next-Generation Sequencing Improves Diagnosis, Prognosis and Clinical Management of Myeloid Neoplasms // *Cancers (Basel).*— 2019.— Vol. 11.— № 11.— P. 1364.
- Venton G., Courtier F., Charbonnier A., D'incan E., Saillard C., Mohty B., Mozziconacci M. J., Birnbaum D., Murati A., Vey N., Rey J. Impact of gene mutations on treatment response and prognosis of acute myeloid leukemia secondary to myeloproliferative neoplasms. // *Am J Hematol.*— 2018.— Vol. 93.— № 93.— P. 330–338.
- Aguilera-Diaz A., Vazquez I., Ariceta B., Mañú A., Blasco-Iturri Z., Palomino- Echeverría S., Larrayoz M. J., García-Sanz R., Prieto-Conde M. I., Del Carmen Chillón M., Alfonso- Pierola A., Prosper F., Fernandez-Mercado M., Calasanz M. J. Assessment of the clinical utility of four NGS panels in myeloid malignancies. Suggestions for NGS panel choice or design. // *PLoS One.*— 2020.— Vol. 15.— № 15.
- Lundberg P., Karow A., Nienhold R., Looser R., Hao-Shen H., Nissen I., Girsberger S., Lehmann T., Passweg J., Stern M., Beisel C., Kralovics R., Skoda R. C. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. // *Blood.*— 2014.— Vol. 123.— № 123.— P. 2220–2228.
- Jon Akutagawa, Tannie Q. Huang, Inbal Epstein, Tiffany Chang, Maricel Quirindongo-Crespo, Charisa L. Cottonham, Monique Dail, Barbara S. Slusher, Lori S. Friedman, Deepak Sampath, and Benjamin S. Braun. Targeting the PI3K / Akt pathway in murine MDS / MPN driven by hyperactive Ras. // *Leukemia.*— 2016.— Vol. 30.— № 30.— P. 1335–1343.
- Tiffany Chang, Kimberly Krisman, Emily Harding Theobald, Jin Xu, Jon Akutagawa, Jennifer O. Lauchle, Scott Kogan, Benjamin S. Braun, and Kevin Shannon. Sustained MEK inhibition abrogates myeloproliferative disease in *Nf1* mutant mice. // *J Clin Invest.*— 2013.— Vol. 123.— № 123.— P. 335–339.

Игнатьева Е. В., Чернецов В. А., Рукавицын О. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н. Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, г. Москва

#### КОМОРБИДНОСТЬ У БОЛЬНЫХ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ

Ignatyeva E. V., Tchernetsov V. A., Rukavitsyn O. A.

Federal State Budgetary Institution «Head military clinical hospital named after N. N. Burdenko», Ministry of Defence, Russian Federation, Moscow

#### CO-MORBIDITY IN PATIENTS WITH LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS: OVERVIEW AND OWN DATA

**Резюме.** Проблемой влияния коморбидности на клиническое течение основного заболевания, оценкой эффективности медикаментозной терапии и прогноза течения заболевания занимаются ученые в различных медицинских областях уже более 40 лет. На основании их работ созданы различные индексы для оценки коморбидности. В настоящей статье представлены результаты изучения коморбидности у пациентов с лимфолипролиферативными заболеваниями. Для расчетов использовались две шкалы: Charlson Comorbidity Index (CCI) и Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics (CIRS-G). С января 2018 г. по октябрь 2019 г. обследовано 127 первичных пациентов с лимфолипролиферативными заболеваниями в возрасте от 19 до 95 лет, средний возраст составил 51,4 года. Мужчин было 100 человек (78,74 %), женщин — 27 (21,26 %). По видам заболеваний пациенты распределились следующим образом: неходжкинские лимфомы — 59 человек (46,46 %), лимфома Ходжкина — 35 человек (27,56 %), множественная миелома — 20 человек (15,77 %), хронический лимфолейкоз — 7 человек (5,51 %), макроглобулинемия Вальденстрема — 3 человека (2,36 %), по одному пациенту имели волосатоклеточный лейкоз, Т-клеточный лейкоз из больших гранулированных лимфоцитов, Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, что составило по 0,78 %. В результате исследования установлено, что в целом коморбидность была значительной. На первом месте выявлялись заболевания сердечно-сосудистой системы — у 45,7 % пациентов, на втором были заболевания желудочно-кишечного тракта — у 42,5 % пациентов, на третьем месте — заболевания мочеполовой системы — у 24,4 % пациентов.

**Abstract.** The problem of the influence of co-morbidity on the clinical course of the underlying disease, assessing the effectiveness of drug therapy and disease prognosis is actual for scientists in various medical fields for more than 40 years. Based on their research, various indexes were created for evaluating co-morbidity. This article presents the results of the study of co-morbidity in patients with lymphoproliferative diseases. Two scales were used for calculations: the Charlson Co-morbidity Index (CCI) and the Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics (CIRS-G). From January 2018 to October 2019 we surveyed 127 primary patients with lymphoproliferative diseases aged from 19 to 95 years, the average age was 51,4 years. There were 100 males (78,74 %) and 27 females (21,26 %). By the types of diseases the patients were distributed as follows: non-Hodgkin's lymphoma — 59 (of 46,46 %), Hodgkin lymphoma — 35 (27,56 %), multiple myeloma — 20 (15,77 %), chronic lymphocytic leukemia — 7 (5,51 %), and Waldenstrom's macroglobulinemia — 3 (2,36 %), one patient each had hairy cell leukemia, T-cell leukemia of large granular lymphocytes, T-cell prolymphocytic leukemia, that amounted to 0,78 %. The study found that overall co-morbidity was significant. On the first place cardiovascular disease was identified — 45,7 % of patients, on the second place were diseases of gastrointestinal tract — 42,5 % of patients, on the third place — diseases of genitourinary system — 24,4 % of patients.

**Key words.** Co-morbidity, lymphoproliferative disease, oncohematology, complications, diseases of the cardiovascular system.

**Ключевые слова.** Коморбидность, лимфо-пролиферативные заболевания, онкогемато-

логия, осложнения, заболевания сердечно-сосудистой системы.

**Введение.** Термин коморбидность (от лат. — «со» — вместе и «morbus» — болезнь) впервые был предложен в 1970 г. американским эпидемиологом А. Feinstein. Коморбидность — это любая отдельная нозологическая форма / единица, существовавшая, существующая или которая может появиться в ходе клинического индекса (исследуемого) заболевания у пациента. Явление коморбидности профессор А. Feinstein продемонстрировал на примере соматических больных острой ревматической лихорадкой, доказав, что пациенты, страдающие одновременно несколькими заболеваниями, имеют худший прогноз [1]. Сразу после введения понятия коморбидности многие ученые занялись ее изучением, в первую очередь — психиатры, как то I. Jensen (1975 г.), J. H. Boyd и J. D. Burke (1984 г.), W. C. Sanderson (1990 г.), Ю. Л. Нуллер (1993 г.). Модели, разработанные этими учеными, рассматривали коморбидность как наличие у человека в определенный период жизни более чем одного заболевания либо относительный риск человека с одним заболеванием приобрести другое расстройство.

Проблемой влияния коморбидности на клиническое течение основного заболевания, оценкой эффективности медикаментозной терапии и прогноза течения заболевания занимались ученые в различных медицинских областях, на основании их работ в последующем были созданы различные индексы для оценки коморбидности, которыми мы пользуемся и теперь. Среди них были М. Н. Kaplan (1974 г.), М. Е. Charlson (1987 г.). Благодаря работе этих ученых стали ясны некоторые причины коморбидности, однако их единая классификация пока отсутствует.

Во всем мире проводятся крупные исследования на различных когортах пациентов для оценки сопутствующей патологии и оценки ее влияния на течение заболевания, приверженности к лечению и прогноз. В Великобритании проведено четырнадцатилетнее исследование, в которое было включено 883 больных идиопатической тромбоцитопенической пурпурой. В нем было показано, что в структуре коморбидности этих пациентов наиболее часто встречаются злокачественные новообразования, болезни опорно-двигательного аппарата, кожи и мочеполовой системы, а также геморра-

гические осложнения и другие аутоиммунные заболевания, риск развития которых в течение пяти лет от начала основного заболевания превышает рубеж в 5 % [2]. В США проведено исследование с включением 196 больных раком гортани, где было показано, что выживаемость пациентов с различными стадиями рака гортани различается в зависимости от наличия или отсутствия коморбидности. На первой стадии рака выживаемость составляет 17 % при наличии коморбидности и 83 % — при ее отсутствии, на второй 14 % и 76 %, на третьей 28 % и 66 %, а на четвертой 0 % и 50 % соответственно. В целом выживаемость коморбидных больных раком гортани на 59 % ниже выживаемости больных без коморбидности [3].

В 2017 г. под редакцией Р. Г. Оганова и И. Н. Денисова изданы клинические российские рекомендации «Коморбидная патология в клинической практике. Клинические рекомендации», где коморбидность определяется, как сочетание у одного больного двух или более хронических заболеваний, этиопатологически взаимосвязанных между собой или совпадающих по времени появления вне зависимости от активности каждого из них [4].

Сегодня мы стремимся к усовершенствованию лечебно-диагностического процесса, повышению уровня оказания медицинской помощи, улучшению качества жизни пациентов. Существующие программы социальной поддержки и реабилитации приводят к возрастанию доли пациентов пожилого и старческого возраста, страдающих хроническими неинфекционными заболеваниями в сочетании с лимфо-пролиферативными заболеваниями. Сочетание нескольких патологических состояний, т.е. коморбидность, характерно для современного лечебно-диагностического процесса. Взаимодействие заболеваний, возраста и лекарственного патоморфоза значительно изменяет клиническую картину и течение основного заболевания, характер и тяжесть осложнений, ухудшает качество жизни больного, ограничивает или затрудняет лечебно-диагностический процесс. Коморбидность оказывает влияние на прогноз для жизни, увеличивает вероятность летального исхода. Наличие коморбидных заболеваний способствует увеличению койко-дней, инвалидизации, препятствует проведению ре-

абилитации. При этом важен индивидуальный подход к пациенту. Наличие коморбидности следует учитывать при выборе алгоритма диагностики и схемы лечения той или иной болезни [5]. Данной категории больных необходимо уточнять степень функциональных нарушений и морфологического статуса всех выявленных нозологических форм. Также важно помнить, что коморбидность приводит к полипрагмазии, т.е. одновременному назначению большого количества лекарственных препаратов, что делает невозможным контроль над эффективностью терапии, увеличивает материальные затраты пациентов, а поэтому снижает их комплаенс (приверженность к лечению) [6,7]. Кроме того, полипрагмазия, особенно у пациентов пожилого и старческого возраста, способствует резкому возрастанию вероятности развития местных и системных нежелательных побочных эффектов лекарственных препаратов.

В настоящее время разработано несколько индексов для балльной оценки коморбидности. Шесть индексов основаны на тщательно разработанном списке определенных диагнозов (BOD, Charlson Index, Hallstrom Index, Incalzi Index, Liu Index, Shwartz Index). Три индекса отражают «ранжированное» влияние коморбидных состояний на конкретные органы и системы (CIRS, ICED, Kaplan Index). Два индекса позволяют оценить коморбидные состояния на основе 3–4 шкал с разными категориями (Cornoni–Huntley Index и Hurwitz Index). Два метода предполагают калькуляцию числа сочетанных патологий (Disease count, DUSOI). Также существуют шкалы GIC (Geriatric Index of Comorbidity, 2002), FCI (Functional Comorbidity Index, 2005), TIBI (Total Illness Burden Index, 2009), ряд шкал, позволяющих пациентам оценивать собственную коморбидность.

**Цель исследования.** Провести оценку коморбидности у пациентов с лимфо-пролиферативными заболеваниями гематологического центра ГВКГ до начала химиотерапии с помощью индексов коморбидности (Charlson Index, CIRS-G).

**Материалы и методы.** В исследование включены 127 первичных пациентов с лимфо-пролиферативными заболеваниями, проходивших обследование и лечение в гематологическом центре ФГБУ «ГВКГ им. Н. Н. Бурденко» МО России с января 2018 г. по октябрь 2019 г. Все пациенты получили полное обследование в условиях нашего центра. Большую часть пациентов составили мужчины — 100 человек (78,74 %),

женщин — 27 (21,26 %), что обусловлено спецификой нашего лечебного учреждения. В исследование были включены пациенты в возрасте от 19 до 95 лет, средний возраст составил 51,4 года. Для расчета индексов коморбидности использовались две шкалы CCI (Charlson Comorbidity Index) [8] и CIRS-G (Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics) [8,9]. Для расчетов использовались калькуляторы с официальных сайтов: [https://www.thecalculator.co/health/Charlson-Comorbidity-Index-\(CCI\)-Calculator-765.html](https://www.thecalculator.co/health/Charlson-Comorbidity-Index-(CCI)-Calculator-765.html) и <http://www.almazovcentre.ru/wp-content/uploads/CIRS-G2.html>. CCI был выбран, поскольку с его помощью производится оценка прогноза у больных с длительными сроками наблюдения. При его расчете суммируются баллы, соответствующие сопутствующим заболеваниям, а также добавляется один балл на каждую декаду жизни при превышении пациентом сорокалетнего возраста. Наши пациенты часто находятся под длительным диспансерным наблюдением до развития лимфо-пролиферативного заболевания. CIRS-G более широко оценивает количество и тяжесть хронических заболеваний в структуре коморбидного статуса и подразумевает отдельную суммарную оценку состояния каждой из систем органов. В обоих индексах имеются отдельные шкалы для заболеваний системы крови. В CCI максимальная сумма баллов — 40, в CIRS-G — 56 баллов. Пациенты оценивались на этапе постановки диагноза до начала терапии. Было принято решение о том, что пациенты, набирающие более 8 баллов по шкале коморбидности Charlson и более 10 баллов по шкале CIRS-G, будут оцениваться как наиболее тяжелые. Эти пациенты имели тяжелую патологию 2–3 систем организма либо вторую опухоль. Пациенты с 3–7 баллами по шкале коморбидности Charlson и 6–9 баллами по шкале CIRS-G оценивались как среднетяжелые. Пациенты набирающие менее 3 баллов по шкале коморбидности Charlson и менее 6 баллов по шкале CIRS-G, рассматривались как пациенты с отсутствием тяжелых сопутствующих заболеваний, утяжеляющих течение основного заболевания. Следует заметить, что наличие у пациента лимфо-пролиферативного заболевания уже дает 3 балла и 4 балла по шкале оценки коморбидности Charlson и шкале CIRS-G соответственно.

**Результаты и обсуждение.** Проведена оценка историй болезни 127 первичных пациентов с лимфо-пролиферативными заболеваниями, среди них наибольшее число составляли па-

циенты с неходжинскими лимфомами — 59 человек (46,46 %), лимфома Ходжкина была диагностирована у 35 пациентов (27,56 %), множественная миелома — у 20 человек (15,77 %), у 7 пациентов диагностировался хронический лимфолейкоз (5,51 %), три пациента страдали макроглобулинемией Вальденстрема (2,36 %), по одному пациенту имели волосатоклеточный лейкоз, Т-клеточный лейкоз из больших гранулированных лимфоцитов, Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, что составило по 0,78 %.

Из 127 пациентов 36 имели 8 и более баллов по шкале Charlson и 39 человек — 10 и более баллов по шкале CIRS-G, 33 человека имели высокий уровень коморбидности по обеим шкалам. При этом следует помнить, что индекс Charlson учитывает еще и возраст: из 36 пациентов с индексом более 8 баллов лишь 1 был младше 40 лет, одному было 56 лет (плюс 2 балла), пятеро было старше 61 года (плюс 3 балла), оставшиеся 29 имели возраст 71 год и старше, что добавляло 4 балла.

Наиболее часто среди пациентов с высокой коморбидностью встречалась патология сердечно-сосудистой системы (37 пациентов). Всего же заболевания сердечно-сосудистой системы выявлялись у 58 пациентов. Наиболее часто пациенты страдали гипертонической болезнью 2 или 3 стадии — 44 человека, 35 из них имели высокий индекс коморбидности, 9 — средний. Ишемическая болезнь сердца, сопровождающаяся атеросклеротическим постинфарктным кардиосклерозом, стенокардией напряжения диагностировалась у 35 пациентов, 31 из них имели высокий индекс коморбидности, 4 — средний. У 14 пациентов диагностировалась хроническая сердечная недостаточность, требующая постоянной терапии. Нарушением ритма сердца страдали 10 пациентов, у 7 из них диагностировалась фибрилляция предсердий, у одного полная АВ-блокада, трем был установлен электрокардиостимулятор. Лишь один из десяти пациентов с нарушением ритма имел средний индекс коморбидности. Также двое пациентов перенесли острый инфаркт миокарда, двоим выполнялось аортокоронарное шунтирование. Постмиокардитический кардиосклероз диагностировался у троих пациентов со средним индексом коморбидности. Пороки сердца выявлялись у трех пациентов.

До диагностики лимфопролиферативного заболевания 8 пациентов перенесли острое нарушение мозгового кровообращения, а еще

у 8 диагностировалась дисциркуляторная энцефалопатия 2 степени. У троих был диагностирован стеноз магистральных артерий головы, у одного хроническая артериальная недостаточность 1 степени.

Патология эндокринной системы выявлялась у 21 пациента, причём 15 из них имели высокий индекс коморбидности. Диагностировались сахарный диабет, патология щитовидной железы и экзогенно-конституциональное ожирение. Сахарный диабет выявлялся у 9 пациентов, восемь из них имели высокий индекс коморбидности, что было очень значимо для нас, этим пациентам выполнялись коррекции доз препаратов. Из 13 пациентов с патологией щитовидной железы лишь трое получали постоянную заместительную терапию: двое с гипотиреозом и 1 — с аутоиммунным тиреоидитом. Экзогенно-конституциональное ожирение выявлялось у 5 пациентов. 11 человек страдали заболеваниями дыхательной системы, все они имели высокий индекс коморбидности. Хроническая обструктивная болезнь легких, эмфизема легких, хронический бронхит выявлялись у четырех человек соответственно, бронхиальная астма и бронхоэктатическая болезнь — у одного пациента каждое заболевание.

У 11 пациентов (8,66 %) выявлялись вторые опухоли, у двоих — тубулярная аденома толстой кишки, у двоих рак — мочевого пузыря и также у двоих рак простаты, по одному пациенту имели базалиому, кардиоэзофагеальный рак, саркому Капоши, грибковидный микоз и плазмцитому гортани. Патология желудочно-кишечного тракта была диагностирована у 54 пациентов, 32 человека до начала химиотерапии страдали хроническим гастритом, 24 из них имели высокий и средний индексы коморбидности. У 16 были диагностированы желчно-каменная болезнь и хронический холецистит, у 11 — хронический панкреатит, у 7 — язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки, у двух — синдром Жильбера. Патология мочеполовой системы была диагностирована у 31 пациента.

Наиболее часто, у 12 пациентов, выявлялась доброкачественная гиперплазия предстательной железы. Хроническая болезнь почек и мочекаменная болезнь была диагностирована у 7 пациентов. Хронический цистит выявлен у 4 пациентов, хронический пиелонефрит — у трех. Также 10 пациентов до диагностики лимфопролиферативного заболевания имели варикозное расширение вен нижних конеч-

ностей, трое страдали подагрой, 4 проходили лечение по поводу остеоартроза, у 8 выявлялся остеохондроз позвоночника, а у двоих — остеомиелит, по одному больному страдали синдромом Шегрена, ревматоидный артритом, синдромом приобретенного иммунодефицита, истинной полицитемией и коагулопатией. У шести пациентов с высокой коморбидностью диагностировалась нейросенсорная тугоухость.

**Выводы.** Таким образом, в целом коморбидность была значительной. На первом месте выявлялись заболевания сердечно-сосудистой системы — у 45,7 % пациентов, на втором были заболевания желудочно-кишечного тракта — у 42,5 % пациентов, на третьем месте заболева-

ния мочеполовой системы — у 24,4 % пациентов. Не существует специального индекса для оценки сопутствующей патологии у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями. На основании проведенного исследования можно сказать, что существенных различий при сравнении шкал коморбидности CCI и CIRS-G у наших пациентов не выявлено. В настоящем исследовании выполнялась оценка пациентов только на этапе диагностики заболевания, без учета данных проведенной терапии и ответов на нее, поэтому мы планируем дальнейшее наблюдение за пациентами с последующей оценкой исходов заболевания и влиянием коморбидности.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Feinstein A. R. Pre-therapeutic classification of co-morbidity in chronic disease // Journal Chronic Disease. 1970; 23 (7): 455–468.
2. Feudjo-Tepie M. A., Le Roux G., Beach K. J., Bennett D., Robinson N. J. Comorbidities of Idiopathic Thrombocytopenic Purpura: A Population-Based Study // Advances in Hematology. 2009.
3. Deyo R. A., Cherkin D. C., Ciol M. A. Adapting a clinical comorbidity index for use with ICD-9-CM administrative databases // J Clin Epidemiol. 1992; Jun; 45 (6): 613–619.
4. Оганов Р. Г., Денисов И. Н., Симаненков В. И. и др. Коморбидная патология в клинической практике. Клинические рекомендации. Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2017; 16(6): 7–10.
5. Рукавицын О. А. Гематология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015: 408–409, 514–519, 529–532.
6. Верткин А. Л., Скотников А. С. Коморбидность. Лечащий врач, 2013; 6: 66–9.
7. Верткин А. Л. Коморбидный пациент. Руководство для практических врачей. М.: Эксмо, 2015: 84.
8. Charlson M. E., Pompei P., Ales K. L. et al. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. J Chron Dis 1987; 40: 373–383.
9. Miller M. D., Towers A. Manual of Guidelines for Scoring the Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics (CIRS-G) // Pittsburg, Pa: University of Pittsburgh; 1991.
10. Miller M. D., Paradis C. F., Houck P. R., Mazumdar S., Stack J. A., Rifai A. H. Rating chronic medical illness burden in geropsychiatric practice and research: application of the Cumulative Illness Rating Scale // Psychiatry Res, 1992; 41:237 e48.

Шилова Е. Р., Романенко Н. А., Жигулева Л. Ю.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург

ПРИЧИНЫ И УСЛОВИЯ ОБРАЩАЕМОСТИ К ВРАЧУ-ГЕМАТОЛОГУ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ ЧАСТНОЙ СИСТЕМЫ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

Shilova E. R., Romanenko N. A., Zhiguleva L. Y.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology

REASONS AND CONDITIONS FOR A CONSULTATION WITH A HEMATOLOGIST IN MEDICAL ORGANIZATIONS PRIVATE HEALTHCARE SYSTEM

**Резюме.** В работе приведены результаты анализа причин обращаемости 200 взрослых лиц в 2 независимых медицинских центра. Медиана возрастного распределения обратившихся пациентов составлял 48 и 49 лет. Имелось значительное преобладание лиц женского пола в обоих центрах (72 % и 87 %). Ведущей причиной обращений (у 37,5 % пациентов) была анемия, чаще всего — железодефицитная. Основными условиями обращений в медицинские организации частной системы здравоохранения являлось снижение доступности специализированной гематологической помощи в медицинских организациях государственной системы здравоохранения и недостаточная подготовленность врачей первичного звена в вопросах диагностики заболеваний системы крови.

**Ключевые слова.** Врач-гематолог, амбулаторный прием, причины обращения.

**Введение.** Несмотря на значительные успехи, достигнутые в лечении болезней системы крови в последние 20 лет, данная группа заболеваний представляют существенную медико-организационную и социально-экономическую проблему. Распространенность злокачественных новообразований системы крови увеличивается, медленными остаются темпы снижения смертности, пациенты рано от начала заболевания утрачивают трудоспособность [1–5]. В то же время при своевременной и правильной диагностике высокоэффективные лечебно-диагностические технологии обеспечивают прогресс в результатах терапии. От качества первичной диагностики, своевременности направления пациента к врачу-гематологу во многом зависят результаты терапии. Данные обстоятельства в значительной степени опреде-

**Summary.** The results of the analysis of the reasons for consultation of 200 adults in 2 independent medical centers are presented in the paper. The majority of those who contacted a hematologist were between the ages of 30 and 60. There was a significant preponderance of females in both medical centers (72 % and 87 %). The leading cause of treatment (29–46 % of patients) was anemia, most often — iron deficiency. The main reasons for contacting medical organizations of the private health care system were a decrease in the availability of specialized hematological care in medical organizations of the public health system and insufficient primary care physicians in diagnosing blood system diseases.

**Keywords.** Hematologist, outpatient, reasons for consultation.

ляются квалификацией врача первичного звена и организацией первичной медико-санитарной помощи (ПМСП).

В соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 15 ноября 2012 г. № 930н, «Оказание медицинской помощи населению по профилю «гематология» включает в себя оказание медицинской помощи больным с заболеваниями крови, кроветворных органов, злокачественными новообразованиями лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей», в том числе в амбулаторных условиях [6].

На основании Федерального закона от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», организация охраны здоровья основывается на функционировании и развитии государ-

ственной, муниципальной и частной систем здравоохранения. В статье 19.2 Федерального закона 323 ФЗ отмечается, что «каждый имеет право на медицинскую помощь в гарантированном объеме, оказываемую без взимания платы в соответствии с программой государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи, а также на получение платных медицинских услуг и иных услуг, в том числе в соответствии с договором добровольного медицинского страхования» [7]. Таким образом, пациент имеет право получить первичную специализированную медицинскую помощь в медицинских организациях как государственной, так и частной систем здравоохранения. Несмотря на эффективную организацию государственной системы здравоохранения, часть пациентов обращается за консультацией к врачам-специалистам частных медицинских организаций. Следовательно, существуют причины и условия, не удовлетворяющие пациентов в государственной системе здравоохранения. По-видимому, привлекательным для пациентов является обращение «напрямую» при отсутствии необходимости получать направление к специалисту от лечащего врача медицинской организации по месту жительства, максимально короткие сроки получения консультации (нередко в день обращения) и более продолжительное время, отведенное на одного пациента в частных медицинских центрах. Установление и анализ причин обращений пациентов к врачам-гематологам частных медицинских организаций способствовали бы совершенствованию организации гематологической помощи населению. Вместе с тем изучение причин данного явления не проводилось. Все изложенное определяет актуальность темы исследования.

**Цель исследования.** Анализ причин и условий обращаемости к врачам-гематологам

медицинских организаций частной системы здравоохранения.

**Материалы и методы.** Исследования проводилось на базе двух консультативных медицинских центров частной системы здравоохранения. Изучены данные о 200 пациентах, обратившихся за консультацией гематолога по рекомендации врача общей практики или других специалистов (70 % в медицинском центре 1 и 80 % пациентов в медицинском центре 2), а также обратившихся самостоятельно (30 % и 20 % пациентов соответственно). Материалами исследования служили медицинские карты пациентов, получающих медицинскую помощь в амбулаторных условиях (форма № 025 / у), выписки из медицинской карты амбулаторного, стационарного больного (форма № 027 / у), журнал регистрации амбулаторных больных (форма № 074 / у) и другие.

Возраст обратившихся пациентов колебался от 18 до 82 лет. Медиана возрастного распределения в медицинском центре 1 составляла 48 лет, в медицинском центре 2—49 лет. Соотношение женщин и мужчин составило 72 : 28 и 87 : 13 соответственно.

**Результаты и обсуждение.** В ходе проведенного анализа выявлены четкие общие тенденции в отношении как причин обращения, так и контингента пациентов на приеме врача-гематолога в двух медицинских центрах. Характерным является значительное преобладание женщин (72 % и 87 %) среди обратившихся лиц во всех возрастных категориях и преобладание диагноза анемии (37,6 %) среди всех других диагнозов, послуживших поводом для обращения к гематологу.

Распределение обратившихся к врачу-гематологу лиц мужского и женского пола по отдельным возрастным категориям отражено на рисунке 1.

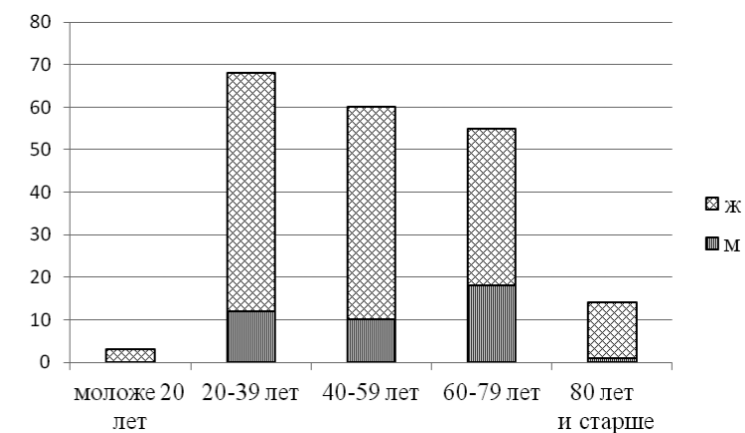


Рисунок 1. Распределение пациентов, обратившихся к гематологу, по полу и возрасту (n = 200).

Представленные на рисунке 1 данные свидетельствуют о том, что наибольшая доля пациентов, обратившихся к гематологу в частные медицинские центры — это лица молодого трудоспособного возраста. Причинами значительного преобладания женщин среди обратившихся пациентов, по-видимому, являются как особенности патологии у женщин (чаще наблюдающиеся постгеморрагические анемии и аутоиммунные нарушения, патология беременности), так и более внимательное отношение женщин к своему здоровью.

Основными поводами для обращения к гематологу были различные изменения, выявленные в анализах крови, появление патологических симптомов (кожные высыпания,

лимфоаденопатия и др.), патология беременности и тромбозы в анамнезе. Единичные пациенты обращались в связи с профилактическим обследованием. Среди патологических симптомов в группе мужчин наиболее частыми на момент обращения были анемии, лейкопении и эритроцитозы, в группе женщин — анемии, лейкопении и тромбоцитопении. В период беременности при сроках от 15 до 34 недель за консультацией гематолога обратились 4 пациентки, что составило 2 % от всех обращений. Также 3 женщины были направлены в связи с осложнённым акушерским анамнезом: бесплодием, невынашиванием беременности. Структура причин обращений пациентов к гематологу представлена на рисунке 2.

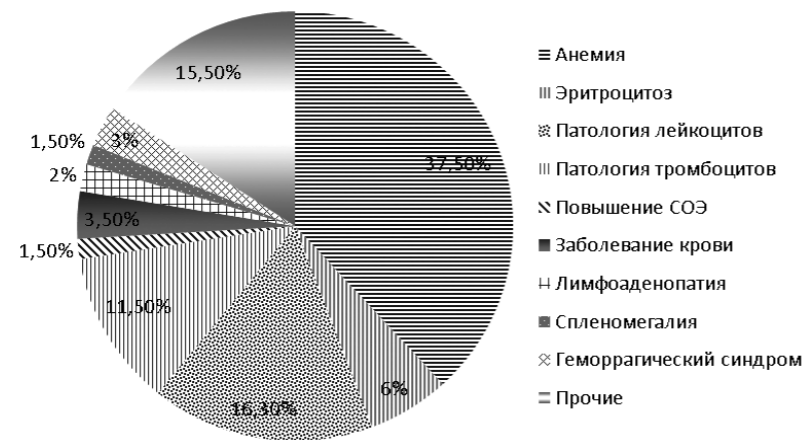


Рисунок 2. Структура причин обращений к гематологу (n = 200).

Несмотря на общность причин обращений к гематологу в первом и втором медицинских центрах, имеются и некоторые различия, касающиеся доли тех или иных причин в каждом из центров. Так, в медицинском центре 1

обратилось больше пациентов с патологией лейкоцитов и тромбоцитов, но меньше — с анемией (таблица 1). Среди пациентов с анемией в медицинском центре 1 женщин было 86 %, в медицинском центре 2 — 91,3 %.

Таблица 1.

Причины первичных обращений пациентов к гематологу в двух медицинских центрах

Повод для обращения	Медцентр 1 (n = 100)	Медцентр 2 (n = 100)	Всего (n = 200)
Анемия	29	46	75 (37,5 %)
Эритроцитоз	7	5	12 (6 %)
Патология лейкоцитов в том числе:	21	12	33 (16,5 %)
— лейко/нейтропения	12	8	20 (10 %)
— лимфоцитоз	7	2	9 (4,5 %)
— нейтрофильный лейкоцитоз	2	2	4 (2 %)
Патология тромбоцитов в том числе:	14	9	23 (11,5 %)
— тромбоцитопения	8	4	12 (6 %)
— тромбоцитоз	6	5	11 (5,5 %)

Повод для обращения	Медцентр 1 (n = 100)	Медцентр 2 (n = 100)	Всего (n = 200)
Повышение СОЭ	3	3	3 (1,5 %)
Заболевания системы крови- этапное обследование и коррекция терапии	5	2	7 (3,5 %)
Лимфоаденопатия	2	2	4 (2 %)
Спленомегалия	1	2	3 (1,5 %)
Геморрагический синдром	3	3	6 (3 %)
Прочие	15	16	31 (15,5 %)

Большая часть анемий была представлена железодефицитной анемией (ЖДА), диагноз которой уже при первом обращении установлен у 42 пациентов, что составило около 20 % всех обращений и более половины пациентов, которым медицинская помощь оказывалась по поводу установленного ранее диагноза анемии. Данные пациенты уже получали терапию препаратами железа. Причиной для направления их к гематологу была предполагаемая рефрактерность к проводимому лечению или неполный эффект терапии и рецидивы анемии, что в большинстве случаев было связано с недостаточным по длительности и дозам лечением без восстановления запасов железа в организме и назначения поддерживающей терапии. Интересен тот факт, что 5 пациентов были направлены или обратились самостоятельно в связи с изменениями эритроцитарных индексов при нормальном уровне гемоглобина. У 4 из них при дальнейшем обследовании выявлен латентный дефицит железа. Такие поводы для обращения позволяют выявить нарушения обмена железа на ранних этапах и это, безусловно, является положительным моментом в профилактике ЖДА. Однако то, что в связи с выявленными изменениями не проводились соответствующие исследования и профилактические или лечебные мероприятия до визита к гематологу, свидетельствует о том, что в первичном звене здравоохранения нет эффективного подхода к ведению таких пациентов.

Аналогичные проблемы можно отметить и при оценке обращений по поводу эритроцитозов (6 % обращений), патологии лейкоцитов (16,5 % в виде лейкоцитозов и лейкопений) и патологии тромбоцитов (11,5 %, включая тромбоцитозы и тромбоцитопении), а также других патологических симптомов. У части пациентов при углублённом обследовании были выявлены заболевания системы крови (эссенциальная тромбоцитемия, хронический миелолейкоз, истинная полицитемия и другие). В то же время,

значительная часть пациентов с подобными отклонениями в гемограмме имела реактивные изменения на фоне соматической патологии, хронических инфекций, эндокринных заболеваний, хронической гипоксии по причине курения или заболеваний сердца и легких. При этом оценка данных анамнеза, объективного статуса и объем предварительных исследований для выяснения причин, иногда «лежащих на поверхности», были явно недостаточными.

В качестве примеров неверной трактовки показателей клинического анализа крови при направлении к гематологу можно выделить диагнозы направления «лимфоцитоз» и «тромбоцитопения». Например, под «лимфоцитозом» нередко трактуется дисбаланс в лейкоцитарной формуле при нейтропении, при вирусных инфекциях, а также других патологических состояниях. В этих случаях врачи ориентируются на процентные показатели, не обращая внимания на отсутствие повышения верхнего порога референсных значений абсолютного числа лимфоцитов. При снижении количества тромбоцитов по данным гематологического анализатора иногда не учитывается вероятность артефактов и псевдо-тромбоцитопении, включая ЭДТА-ассоциированную форму. Соответственно не проводится контроль числа тромбоцитов по мазку крови или при взятии пробы на другом консервирующем растворе. Иногда уровень тромбоцитов, соответствующий нижней границе нормы, расценивается как тромбоцитопения, требующая консультации гематолога.

В раздел, обозначенный, как прочие причины для обращения, вошли билирубинемия неясного характера, синдром Рейно, рецидивирующий хейлит, неясные кожные высыпания, выявленные на УЗИ образования в селезенке. Для этой группы пациентов визит к гематологу являлся этапом диагностического поиска при неясной причине имеющегося патологического симптома. Один пациент был направлен по поводу варикозной болезни нижних конечностей,

по-видимому, для определения показаний к дополнительному обследованию с целью оценки риска тромботических осложнений.

Что касается самостоятельного обращения пациентов в консультативные центры, то определенную часть из них (7 больных — 3,5 % обращений) составляют лица с установленными диагнозами системы крови. Среди онкогематологических больных это были пациенты с истинной полицитемией (2 человека), острым лейкозом в стадии ремиссии (1 человек), хроническим лимфолейкозом (1), лимфомой зоны мантии (1), множественной миеломой в фазе ремиссии (1) и тромбоцитопенической пурпурой (1). Причиной для обращения в платные медицинские центры являлось желание пациента получить консультацию специалиста в максимально короткие сроки, без затрат времени на оформление направления к гематологу и на более длительное ожидание приема в медицинских организациях государственной системы здравоохранения.

Следует отметить и такие причины для обращения к гематологу, как прегравидарная подготовка и обследование перед назначением гормональных контрацептивов у 2 женщин, что отражает, с одной стороны, настроенность врачей на раннюю профилактику возможных осложнений, но с другой стороны — на недостаточную квалификацию врачей-гинекологов, затрудняющихся оценить риски осложнений от приема назначенных ими препаратов.

Проведенное нами предварительное исследование на данном этапе не может претендовать на глубокий научный и достоверный статистический анализ. Тем не менее, оно отражает круг вопросов, которые являются причинами обращения пациентов к гематологам частных медицинских центров и отражает те сложности, которые, с одной стороны, возникают у врача-терапевта или врача общей практики и других специалистов при дифференциальной диагностике гематологических симптомов и синдромов, обусловленных соматической патологией, а с другой стороны, свидетельствуют о недостаточной доступности для пациентов специализированной медицинской помощи в медицинских организациях государственной системы здравоохранения.

**Выводы.** Пациенты, обратившиеся за консультацией гематолога в медицинские органи-

зации частной системы здравоохранения — это преимущественно лица женского пола (79,5 %) в активном трудоспособном возрасте.

Ведущей причиной обращений к врачу гематологу являются анемии различного характера, в структуре которых значительно преобладали ЖДА. Среди пациентов с анемией более 90 % — женщины.

Для значительной части пациентов до консультации врача-гематолога целесообразно было провести определенный объем исследований, позволяющих с большей долей вероятности уже на первом приеме определить характер патологии либо вообще избежать необоснованной консультации. К таким исследованиям относятся, в частности, исследования на наличие инфекции, УЗИ, ряд биохимических анализов. В некоторых случаях необходимо оценить клинический анализ крови в динамике, поскольку нередко единичный анализ с отклонениями от нормы мало информативен и может быть отражением конкретной временно возникшей ситуации.

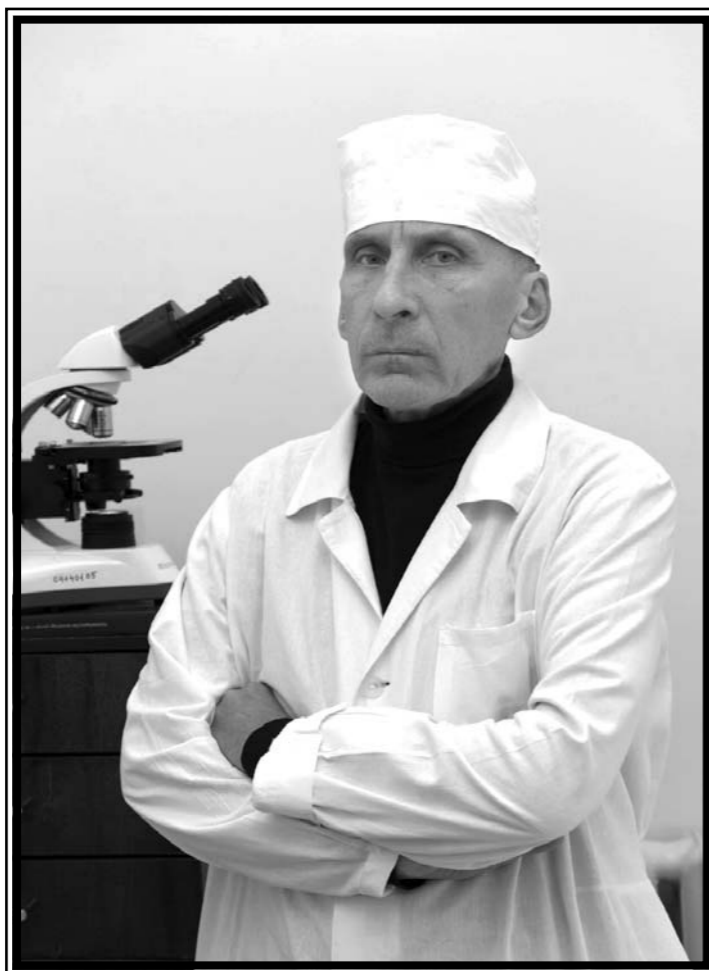
Наличие среди обратившихся в платные медицинские центры пациентов с уже установленными диагнозами, может свидетельствовать как о проблемах с доступностью специализированной медицинской помощи в медицинских организациях государственной системы здравоохранения, так и о недостаточной подготовке врачей первичного звена по вопросам диагностики заболеваний системы крови, интерпретации гемограммы, а также принципам ведения пациентов с железодефицитными состояниями.

Отмечена необходимость ознакомления врачей общей практики с интерпретацией результатов клинического анализа крови и некоторых биохимических тестов не только в рамках планового обучения на сертификационных циклах, но и путем проведения тематических семинаров, круглых столов, образовательных лекций с участием специалистов-гематологов для врачей различных специальностей, в первую очередь — терапевтов и семейных врачей, издания практических руководств по первичной диагностике заболеваний системы крови, особенно по дифференциальной диагностике и лечению железодефицитных анемий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Siegel R. L., Miller K. D., Jemal A. Cancer statistics 2018. *Cancer J. Clin.* 2018; 68(1) : 7–30.
2. Жигулева Л. Ю., Петрова Н. Г., Романенко Н. А. Анализ показателей заболеваемости населения Санкт-Петербурга гемобластомами за период 1990–2016 гг. и прогноз до 2026 года. *Менеджер здравоохранения.* 2019; 1 : 24–34.
3. Каприн А. Д., Старинский В. В., Петрова Г. В., ред. Злокачественные новообразования в России в 2018 г. (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П. А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2019. — 250 с.
4. Жигулева Л. Ю. Анализ показателей смертности населения Санкт-Петербурга от гемобластозов за период 1990–2016 гг. и прогноз до 2026 года. *Менеджер здравоохранения.* 2018; 8 : 23–31.
5. Захарченко Н. А., Мамаева Д. З. Вопросы медико-социальной экспертизы при лейкомиях. *Медико-социальные проблемы инвалидности.* 2011; 3:60–67.
6. Об утверждении порядка оказания медицинской помощи населению по профилю «гематология»: приказ МЗ РФ от 15 ноября 2012 г. № 930н. [Электронный ресурс]. URL: <http://base.garant.ru/> (дата обращения 05.02.2020).
7. Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации: Федеральный Закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ (с изменениями и дополнениями от 06.03.2019). [Электронный ресурс] URL: <http://base.garant.ru/> (дата обращения 18.03.2019).

**ПАМЯТИ ТОВАРИЩА!**



**ВИКТОР ИВАНОВИЧ РУГАЛЬ**  
(1945–2019 гг.)

22 октября 2019 г. в возрасте 74 лет трагически погиб доктор медицинских наук, профессор, врач-патологоанатом Виктор Иванович Ругаль.

В. И. Ругаль родился 20 февраля 1945 года, окончил Воронежский медицинский институт в 1969 году, работал патологоанатомом в Мурманской области. В 1973 году был направлен на цикл усовершенствования по патологической анатомии в Ленинградский ГИДУВ. После окончания цикла работал патологоанатомом в городской больнице № 26. В 1980 году принят на работу в Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии на должность старшего научного сотрудника клинического отделения «Гематология», а в 1988 году избран на должность руководителя лаборатории по изучению лейкозов, которой и руководил до последнего дня своей жизни.

Основным направлением научной деятельности Виктора Ивановича Ругаля и возглавляемой им лаборатории было изучение стромального микроокружения костного мозга и лимфоидных органов здоровых лиц и больных заболеваниями системы крови. За время своей научной деятельности он добился выдающихся результатов. На основании результатов исследования стромальной и миелоидной ткани губчатой кости с использованием культуральных и широкого спектра морфологических методов впервые в отечественной и зарубежной практике была представлена структурная организация кроветворного микроокружения человека, охарактеризованы клеточные и гуморальные факторы стромы костного мозга при нормальном и малигнизированном кроветворении, установлено значение изменений структуры и функции стромального микроокру-

**ПАМЯТЬ**

жения в патогенезе системных заболеваний кроветворной и лимфоидной ткани и получены данные о значительных морфофункциональных перестройках стромальных структур, формирующих эндостально-васкулярную нишу стволовых клеток костного мозга.

Принципиальное значение имели работы по изучению костной ткани, как источника и хранилища стволовых кроветворных и мезенхимных клеток и клеток-предшественниц других направлений развития, что важно для целей разработки препаратов, влияющих на восстановление функций поврежденных органов и тканей при различных заболеваниях и патологических состояниях. Результаты научных исследований были использованы при создании субстанции, влияющей на развитие стволовых клеток и стимулирующей восстановление поврежденных тканей при различных патологических состояниях.

В 1977 г. В. И. Ругаль успешно защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, в 1989 г. — доктора медицинских наук. В 2009 г. ему присвоено ученое звание «профессор» по специальности «Гематология и переливание крови».

За годы его трудовой деятельности и при его непосредственном участии произошли значительные изменения в лаборатории по изучению лейкозов. По его инициативе были внедрены метод электронной микроскопии, культуральные методы, а также метод иммунной гистохимии.

Профессор В. И. Ругаль был высококвалифицированным специалистом — патологоанатомом, гистологом, морфологом, владеющим современными диагностическими методами исследования. Он сочетал научную с практи-

ческой работой. Проводил большую работу по морфологической диагностике заболеваний кроветворной и лимфоидной ткани и оценке эффективности проводимого лечения. Оказывал консультативную помощь учреждениям Санкт-Петербурга и Российской Федерации.

Автор более 140 научных работ, включая главы в трех монографиях. На основе разработок получены четыре патента на изобретение. Под его руководством были проведены и успешно защищены 4 кандидатских и 2 докторских диссертации. Активно участвовал в работе Всероссийских и международных конференций в роли председателя, докладчика, а также организатора.

В. И. Ругаль был членом Ученого совета института, проблемной комиссии № 1, диссертационного совета Д 208.074.01, членом редакционной коллегии журнала «Вестник гематологии».

За достигнутые успехи и за многолетний добросовестный труд Виктор Иванович по праву награжден нагрудным знаком «Серебряный крест ФМБА России».

Виктор Иванович отличался исключительным трудолюбием, был настоящим профессионалом своего дела, принципиальным и требовательным в работе специалистом. Вся его жизнь пронизана увлеченностью и преданностью выбранному делу. Виктор Иванович был хорошим товарищем, отзывчивым и равнодушным к чужим проблемам, всегда протягивал руку помощи, поддерживал не только словом, но и делом, пользовался заслуженным авторитетом и уважением среди сотрудников института.

Светлая память о профессоре Викторе Ивановиче Ругале навсегда сохранится в наших сердцах!

## К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

Журнал «Вестник гематологии» публикует статьи по всем проблемам гематологии, а также по смежным проблемам с другими медицинскими специальностями. Публикуются передовые и оригинальные статьи, краткие сообщения, заметки из практики, лекции, обзоры, письма в редакцию. Все представляемые материалы рецензируются и обсуждаются редакционной коллегией.

**Общие правила.** Рукопись статьи должна быть представлена в одном экземпляре, напечатанном 12 шрифтом через 2 интервала на одной стороне белой бумаги размером А4 с полями 2,5 см по обе стороны текста. Рукопись оригинальной статьи должна включать: 1) резюме; 2) ключевые слова (**всё — на русском и английском языках**); 3) введение; 4) материалы и методы; 5) результаты; 6) обсуждение; 7) таблицы; 8) иллюстрации и подписи к ним (таблицы и иллюстрации с подписями располагаются непосредственно по тексту); 9) список литературы.

Статья должна иметь визу руководителя отдела (кафедры, лаборатории), из которого выходит статья и печать данного учреждения. Первый лист статьи должен содержать: 1) название статьи; 2) фамилии и инициалы авторов (Пример: **Шилова Е. Р., Бессмельцев С...**); 3) полное название учреждения, в котором выполнялась работа (**вся перечисленная информация должна быть представлена на русском и английском языках**). Объем оригинальной статьи, как правило, не должен превышать 10–12 машинописных страниц, кратких сообщений и заметок из практики — 4–6 страниц, лекций и обзоров — 15 страниц. На последней странице необходимы подписи всех авторов, а также фамилия, имя, отчество, почтовый адрес, номер телефона (желательно факса и e-mail) автора, ответственного за контакты с редакцией. **Все элементы рукописи, включая таблицы и рисунки, должны находиться в одном файле.**

**Резюме** (на русском и английском языках) печатается на отдельной странице. Объем резюме должен быть не более 200–250 слов. На этой же странице помещаются **ключевые слова** (от 3 до 6 слов **на русском и английском языках**).

**Иллюстрации** (рисунки, диаграммы, фотографии в черно-белом изображении) располагаются согласно их упоминанию в тексте. Подписи к иллюстрациям печатаются непосредственно под ними с нумерацией арабскими цифрами соответственно номерам рисунков. В подписях к микрофотографиям надо указывать степень увеличения.

**Список литературы** печатается на отдельном(–ых) листе(–ах). **ВСЕ РАБОТЫ ПЕРЕЧИСЛЯЮТСЯ В ПОРЯДКЕ ЦИТИРОВАНИЯ (ССЫЛОК НА НИХ В ТЕКСТЕ), А НЕ ПО АЛФАВИТУ ФАМИЛИЙ ПЕРВЫХ АВТОРОВ.** Библиографические ссылки даются арабскими цифрами в квадратных скобках. При упоминании отдельных фамилий авторов в тексте им должны предшествовать инициалы (фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции). Порядок составления списка следующий: а) автор(–ы) книги или статьи; б) название книги или статьи; в) выходные данные. При авторском коллективе до 4-х человек включительно упоминаются все авторы (с инициалами после фамилий), при больших авторских коллективах упоминаются три первых автора и добавляется «и др.» (в иностранной литературе «et al.»). В списке цитируемой литературы указываются: а) для книг — фамилия и инициалы автора, полное название работы, место и год издания; б) для журнальных статей — фамилии и инициалы авторов, название журнала, год, номер, страницы «от» и «до»; в) для авторефератов диссертаций — фамилии и инициалы автора, докторская или кандидатская, полное название работы, год, место издания.

Статью в электронном виде отправлять ответственному секретарю журнала Глазановой Т. В. по адресу: **tatyana-glazanova@yandex.ru** с пометкой «Вестник Гематологии».

## ПРИМЕР ОФОРМЛЕНИЯ ЗАГОЛОВКА СТАТЬИ

**Семенова Н. Ю.<sup>1</sup>, Чубарь А. В.<sup>2</sup>, Енукашвили Н. И.<sup>2,3</sup>, Кострома И. И.<sup>1</sup>, Жернякова А. А.<sup>1</sup>, Артюхина З. Е.<sup>1</sup>, Ругаль В. И.<sup>1</sup>, Иволгин Д. А.<sup>3,4</sup>, Грицаев С. В.<sup>1</sup>, Четкин А. В.<sup>1</sup>, Бессмельцев С. С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России»

<sup>2</sup> ФГБУН Институт цитологии РАН

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава РФ

<sup>4</sup> ООО «Покровский банк стволовых клеток»

### ПЕРЕСТРОЙКА КЛЮЧЕВЫХ ЭЛЕМЕНТОВ СТРОМАЛЬНОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

**Semenova N. Yu.<sup>1</sup>, Chubar A. V.<sup>2</sup>, Enukashvili N. I.<sup>2,3</sup>, Kostroma I. I.<sup>1</sup>, Zhernyakova A. A.<sup>1</sup>, Artyukhina Z. E.<sup>1</sup>, Rugal V. I.<sup>1</sup>, Ivolgin D. A.<sup>3,4</sup>, Gritsaev S. V.<sup>1</sup>, Chechetkin A. V.<sup>1</sup>, Bessmeltsev S. S.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology FMBA of Russia

<sup>2</sup> Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences

<sup>3</sup> North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov,

<sup>4</sup> Pokrovsky Stem Cell Bank, LLC

### RECONSTRUCTION OF KEY ELEMENTS OF THE STROMAL MICROENVIRONMENT OF THE BONE MARROW IN MULTIPLE MYELOMA

**Резюме. ...**

**Ключевые слова. ...**

**Abstract. ...**

**Key words. ...**

#### Список литературы (пример)

1. Xu S., De Veirman K., De Becker A. et al. Mesenchymal stem cells in multiple myeloma: a therapeutic tool or target? // *Leukemia*. — 2018. — Vol. 32, No. 7. — P. 1500–1514.

2. Покровская О. С., Менделеева Л. П., Капланская И. Б., Грибанова Е. О., Варламова Е. Ю., Обухова Т. Н., Гемджян Э. Г., Савченко В. Г. Ангиогенез в костном мозге больных множественной миеломой на различных этапах высокодозной химиотерапии // *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. — 2010. — Т. 3, № 4. — С. 347–353.

...

Редколлегия оставляет за собой право сокращать и редактировать статьи.

Статьи, оформленные не в соответствии с указанными правилами, не принимаются и авторам не возвращаются.



**ПЛАН НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ В ФГБУ  
«РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГИИ  
И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО  
АГЕНТСТВА» НА 2020 ГОД**

<b>№ п/п</b>	<b>Вид и тип мероприятия</b>	<b>Наименование мероприятия</b>	<b>Время и место проведения, организаторы</b>	<b>Количество участников</b>
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
1	Конференция	2-я Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы патологии гемостаза»	15 мая, ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16 телефон: (812) 717-67-80, факс: (812) 717-25-50, e-mail: bloodscience@mail.ru)	150
2	Конференция	Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Проблемы иммуногенетики в трансплантации органов, тканей и гемопоэтических стволовых клеток»	18–19 июня, ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16 телефон: (812) 717-67-80, факс: (812) 717-25-50, e-mail: bloodscience@mail.ru)	180
3	Конференция	VI Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Инфекции и инфекционная безопасность в гематологии и трансфузиологии»	08–09 октября, ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16 телефон: (812) 717-67-80, факс: (812) 717-25-50, e-mail: bloodscience@mail.ru	190