

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

**ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ
THE BULLETIN OF HEMATOLOGY**

Том XVIII № 1 2022

Ежеквартальный научно-практический журнал
Основан в сентябре 2004 года

Главный редактор
Заслуженный деятель науки РФ
Доктор медицинских наук
профессор
С.С. Бессмельцев

Санкт-Петербург
2022

Редакционная коллегия:

С. С. Бессмельцев (главный редактор), заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕ, Санкт-Петербург;
А. Н. Богданов, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург;
Л. Н. Бубнова, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург;
Т. В. Глазанова (ответственный секретарь), доктор медицинских наук, Санкт-Петербург;
С. В. Грицаев, доктор медицинских наук, Санкт-Петербург;
С. А. Гусева, доктор медицинских наук, профессор, г. Киев (Украина);
И. Л. Давыдкин, доктор медицинских наук, профессор, г. Самара;
А. Ю. Зарицкий, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург;
Н. М. Калинина, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург;
Л. П. Папаян, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург;
Р. М. Рамазанова, доктор медицинских наук, профессор, г. Алматы (Республика Казахстан);
Н. А. Романенко, доктор медицинских наук, Санкт-Петербург;
О. А. Рукавицын, доктор медицинских наук, профессор, г. Москва;
В. Н. Чеботкевич, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург.

Редакционный совет:

К. Т. Бобоев, доктор медицинских наук, профессор, г. Ташкент (Республика Узбекистан)
А. К. Голенков, доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН, заслуженный врач РФ, г. Москва;
И. Г. Дуткевич, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ, Санкт-Петербург;
В. И. Мазуров, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Санкт-Петербург;
И. В. Поддубная, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, г. Москва;
Т. И. Поспелова, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ, г. Новосибирск;
А. Г. Румянцев, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, г. Москва;
Е. Н. Паровичникова, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный работник здравоохранения РФ.

Зав. редакцией — кандидат медицинских наук, доцент
Е. Р. Шилова, тел.: (812) 717-58-57

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

Импакт-фактор РИНЦ: 2-х летний 0,346; 5-летний 0,455

Адрес редакции:

191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16
E-mail: bloodscience@mail.ru
Сайт: 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 *М.В. Келер*
Компьютерная верстка *М.В. Келер*

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 02.06.2021 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 88.
Издательство РосНИИГТ, 193024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16.
Отпечатано в ООО «Комильфо», Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 23.

18 +

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Чеботкевич В.Н., Ковалёв А.А., Стома И.О., Грицаев С.В., Бурyleв В.В., Кулешова А.В., Киселева Е.Е., Стижак Н. П., Кострома И.И., Кайтанджан Е.И., Бессмельцев С.С.

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ПРИ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК..... 4

Кустова Д.В., Кириенко А.Н., Мартынкевич И.С.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОЯВЛЕНИЯ ВЫСОКОТРАНСМИССИВНЫХ ШТАММОВ ВИРУСА SARS-COV-2 НА ТЕРРИТОРИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕКУРРЕНТНОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ..... 8

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Савин А.О., Клинушкина Е.Ф., Опарина Н.В., Чукурина Ю.Ю., Митина Т.А., Голенков А.К.

ОСТРЫЙ ЛЕЙКОЗ ИЗ ПЛАЗМОЦИТОИДНЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК (ОПИСАНИЕ РЕДКОГО КЛИНИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ)..... 14

ГЕМАТОЛОГИЯ: ВЧЕРА, СЕГОДНЯ, ЗАВТРА

Виноградова Ю.Н., Ильин Н.В.

ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ ЛИМФОМ (ЛЕКЦИЯ) ЧАСТЬ 1..... 17

Романенко Н.А.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ. МЕМБРАНОПАТИИ (ЛЕКЦИЯ) ЧАСТЬ 1..... 25

VII ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ИНФЕКЦИИ И ИНФЕКЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ В ГЕМАТОЛОГИИ И СЛУЖБЕ КРОВИ»

14-15 АПРЕЛЯ 2022 ГОДА, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ 34

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES

Chebotkevich V.N., Kovalev A.A., Stoma I.O., Gritsaev S.V., Burylev V.V., Kuleshova A.V., Kiseleva E.E., Stizhak N. P., Kostroma I.I., Kaytanjan E.I., Bessmeltsev S.S.

GASTROINTESTINAL MICROBIOME CHANGES IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA DURING THE COURSE OF AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION..... 4

Kustova D.V., Kirireenko A.N., Martynkevich I.S.

PREDICTION OF THE HIGHLY TRANSMISSIBLE STRAINS OF SARS-COV-2 VIRUS APPEARANCE ON THE TERRITORY OF SAINT- PETERSBURG USING A RECURRENT NEURAL NETWORK..... 8

FOR PRACTICE

Savin A.O., Klinushkina E.F., Oparina N.V., Chuksina Yu.Yu., Mitina T.A., Golenkov A.K.

ACUTE LEUKEMIA FROM PLASMACYTOID DENDRITIC CELLS (DESCRIPTION OF A RARE CLINICAL OBSERVATION)..... 14

HEMATOLOGY: YESTERDAY, TODAY, TOMORROW

Vinogradova Y.N., Ilyin N.V.

RADIOTHERAPY FOR LYMPHOMAS..... 17

Romanenko N.A.

HEREDITARY HEMOLYTIC ANEMIA. MEMBRANOPATHY (LECTURE) PART 1..... 25

Чеботкевич В.Н.¹, Ковалёв А.А.², Стома И.О.², Грицаев С.В.¹, Бурyleв В.В.¹, Кулешова А.В.¹, Киселева Е.Е.¹, Стижак Н.П.¹, Кострома И.И.¹, Кайтанджан Е.И.¹, Бессмельцев С.С.¹

¹ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург, Российская Федерация
²УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Республика Беларусь

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ПРИ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Резюме. Высокодозная химиотерапия с последующей трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) остается стандартом лечения множественной миеломы (ММ). К сожалению, ТГСК часто связана с развитием тяжелой токсичности, желудочно-кишечного мукозита и инфекционными осложнениями. С 1970-х годов кишечная микробиота и ее метаболиты были признаны ключевыми медиаторами исходов аллогенной ТГСК, включая реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и общую выживаемость (ОВ). Однако меньше известно о роли микробиома при аутологичной ТГСК (аутоТГСК). В нашем исследовании изучены изменения микробиома кишечника у 15 взрослых пациентов (9 женщин, 6 мужчин, в возрасте 54–66

лет) с множественной миеломой (ММ), перенесших аутоТГСК. Выявлено достоверное ($p=0,0215$) снижение индекса разнообразия микробиома после аутоТГСК. Обнаружено значительное снижение представителей Actinobacteria ($p=0,0348$) на уровне типа. Значимых изменений в уровне других исследованных таксономических типов Bacteroides, Firmicutes, Proteobacteria не обнаружено. Также выявлено, что состав микробиоты связан с частотой и тяжестью посттрансплантационной токсичности (особенно с тошнотой и рвотой) и фебрильной нейтропенией.

Ключевые слова: множественная миелома, микробиом, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Chebotkevich V.N.¹, Kovalev A.A.², Stoma I.O.², Gritsaev S.V.¹, Burylev V.V.¹, Kuleshova A.V.¹, Kiseleva E.E.¹, Stizhak N. P.¹, Kostroma I.I.¹, Kaytanjan E.I.¹, Bessmeltsev S.S.¹

¹Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, Russian Federation
²Gomel state medical university, Gomel, Republic of Belarus

GASTROINTESTINAL MICROBIOME CHANGES IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA DURING THE COURSE OF AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Abstract. The concept of high-dose chemotherapy followed by transplantation of hematopoietic stem cells (HSCT) remains the standard for treating multiple myeloma (MM). Unfortunately HSCT is frequently associated with severe toxicities, including graft-versus-host disease (GVHD), gastrointestinal mucositis, and opportunistic infections. Since the 1970s, the microbiome specifically, intestinal microbiota and their metabolites have been recognized as key mediators of allogeneic HSCT outcomes, including GVHD and overall survival (OS). Despite the rapidly accumulating evidence, that the fecal bacteriome plays a key role in allogeneic HSCT, less is known about its role in the context of autologous HSCT. We studied the changes in gastrointestinal bacteriome in 15 adult patients (9 women, 6 men, aged

54–66 years) with multiple myeloma, who underwent autologous HSCT. A significant ($p=0,0215$) decrease in the microbiota diversity index was revealed in the period after HSCT. We observed a continuous decrease in gastrointestinal microbiome diversity, until 35 days after HSCT. We found the significant decrease in relation to the Actinobacteria phylum ($p=0,0348$). No significant changes in the level of other studied phyla Bacteroides, Firmicutes, Proteobacteria were found. Also we found that microbiome composition present is associated with the incidence and severity of post-transplant toxicity (especially nausea and vomiting), and culture-negative neutropenic fever.

Keywords: multiple myeloma, microbiome, autologous hematopoietic stem cells transplantation.

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома составляет 1% среди всех онкологических заболеваний, но 10–13% от общего числа гемобластозов и 2% летальных исходов среди всех злокачественных опухолей приходится на пациентов с ММ [1]. Высокодозная химиотерапия с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) остается стандартом лечения множественной миеломы.

Появление новых лекарственных средств, таких как иммуномодулирующие препараты, ингибиторы протеасом и моноклональные антитела, не исключили аутоТГСК и сохранили ее важную роль в лечении больных ММ [2]. Однако значение микробиома при аутоТГСК изучено крайне недостаточно [3]. Между тем нарушение баланса кишечной микробиоты (дисбиотические состояния) приводят к развитию различных нарушений, в частности воспалительных заболеваний кишечника.

Считается, что ведущим фактором, способствующим воз-

никновению нарушений микробиома, является антибактериальная терапия [4].

Целью нашего исследования явилось изучение изменений микробиома кишечника до аутоТГСК и после ее выполнения, у пациентов с множественной миеломой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано 15 пациентов с ММ в возрасте 48–67 лет (медиана 60 лет), госпитализированных в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России в период с февраля 2020 по февраль 2021 года для выполнения аутоТГСК. Режим кондиционирования состоял из высокодозной химиотерапии, включавший мелфалан в дозе 200 мг/м². Протокол исследования включал сбор и низкотемпературное замораживание образцов кала, полученных от больных до проведения аутоТГСК и в разные сроки от 7 до 35 дней после ее проведения. Среди критериев включения пациентов в исследование было наличие ≥ 3 последовательных секвенированных биологических образцов у одного пациента. После экстракции и очищения ДНК в каждом из биологических образцов выполнялась ПЦР-

Таблица 1. Демографическая и клиническая характеристика пациентов

Количество пациентов	15
Возраст (годы)	60 (48-67)
Пол	
Мужской	6
Женский	9
Почечная недостаточность	
есть	3
нет	12
Заболевание	
Множественная миелома	15
Подтип	
IgGλ	5
IgGκ	6
IgAλ	0
IgAκ	1
БД κ	3
Стадии ММ (по B. Durie, S. Salmon)	
IA	1
IIA	2
IIIA	10
IIIV	2
Приживление нейтрофилов (день)	12 (10-16)
Фебрильная нейтропения	4
Инфекции	
Бактериемия	0
Легочные осложнения	0
Инфекции мочевыводящих путей	0

амплификация V5 региона гена 16S рРНК с помощью модифицированных универсальных бактериальных праймеров. Очищенные ПЦР-продукты секвенировали с помощью платформы MiSeq Illumina. Филогенетическая классификация до видового уровня выполнялась на основании базы данных Illumina. Учитывали возраст, пол пациентов, состояние функции почек, стадию ММ (по B. Durie, S. Salmon) (табл.1). Приживление нейтрофилов после АТГСК определялось как первые 3 дня подряд с абсолютным числом нейтрофилов ≥ 500 клеток/мм³ ($0,5 \times 10^9$ /л).

Всем пациентам проводили стандартную профилактику инфекций флуконазолом и ацикловиром. При развитии фебрильной нейтропении больные получали антибиотики, обладающие активностью в том числе в отношении нозокомиальных грамотрицательных патогенов. Оценку токсичности осуществляли в соответствии с общими терминологическими критериями нежелательных явлений (СТСАЕ) Национального института рака, версия 4.03 [5].

СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ.

Статистический анализ данных реализован в среде программирования для статистической обработки данных R. Диаграммы размаха построены с помощью пакета ggpubr. Сравнение независимых групп осуществлялось с помощью непараметрических критериев Краскела-Уоллиса (с последующим апостериорным попарным сравнением) и Манна-Уитни. Сравнение связанных групп проводилось с помощью критериев Фридмана (с последующим апостериорным попарным сравнением и Уилкоксона).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Время приживления нейтрофилов составило 12 дней

(диапазон от 10 до 16 дней). Фебрильная нейтропения наблюдалась у 4 пациентов. Желудочно-кишечная токсичность 2–3 степени выявлена в 4 (27%) случаях. Всего за время наблюдения было собрано и секвенировано 58 образцов биологического материала.

На первом этапе исследования был изучен индекс альфа разнообразия микробиома (индекс Шеннона) в разные периоды аутоТГСК. Выявлено достоверное ($p=0,0215$) снижение индекса разнообразия в период после проведения аутоТГСК (рис.1).

Надо отметить, что влияние АутоТГСК достаточно подробно изучено именно в контексте микробиома. В частности, было показано достоверное снижение индекса биологического разнообразия микробиома (индекс Шеннона) у пациентов в динамике при проведении аллоТГСК, при этом выявлен негативный эффект антибиотиков и химиопрепаратов на многообразие микробиома. Кроме того, установлено, что эффект разнообразия микробиома является независимым фактором риска трансплантат-ассоциированной летальности в течение нескольких лет после аллоТГСК. Наши данные показывают, что достоверное снижение индекса биологического разнообразия микробиома (индекс Шеннона) наблюдается и при аутоТГСК. Анализ результатов изучения индекса разнообразия у отдельных больных (рис. 2) показал, что в 6 случаях наблюдалось снижение индекса Шеннона. В трех случаях данный показатель не изменился, и только у одного больного наблюдалось повышение индекса разнообразия в ранние сроки после ТГСК.

Известно, что разнообразный, высокодифференцированный кишечный микробиом имеет защитный эффект против ряда инфекций, включая способность предотвращать колонизацию кишечника высокоустойчивыми патогенами [6-7]. Применение антибиотиков является основным фактором, способствующим обеднению микробиоты и развитию дисбиотических состояний. Антибиотики способствуют отбору полирезистентных энтеробактерий. Среди полирезистентных бактерий весомую долю составляют энтеробактерии с продукцией β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС). Колонизацию кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС надо рассматривать как предиктор развития бактериемий, вызванных тем же видом бактерий. В одном из наших исследований [8] энтеробактерии с продукцией БЛРС были выявлены в 24% культур, выделенных у иммуносупрессированных онкогематологических пациентов, причем у всех 3 штаммов, выделенных из крови. Выявление в кишечнике энтеробактерий с продукцией БЛРС, вероятно следует расценивать как предиктор развития бактериемий, вызванных тем же видом бактерий [9].

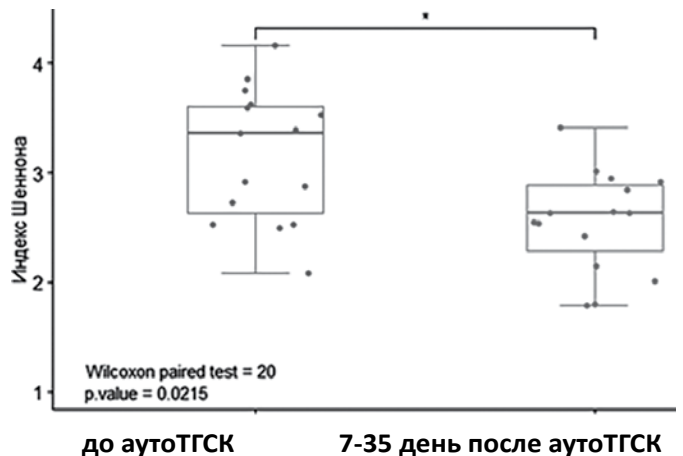


Рисунок 1. Индекс разнообразия микробиоты кишечника до и после проведения аутоТГСК

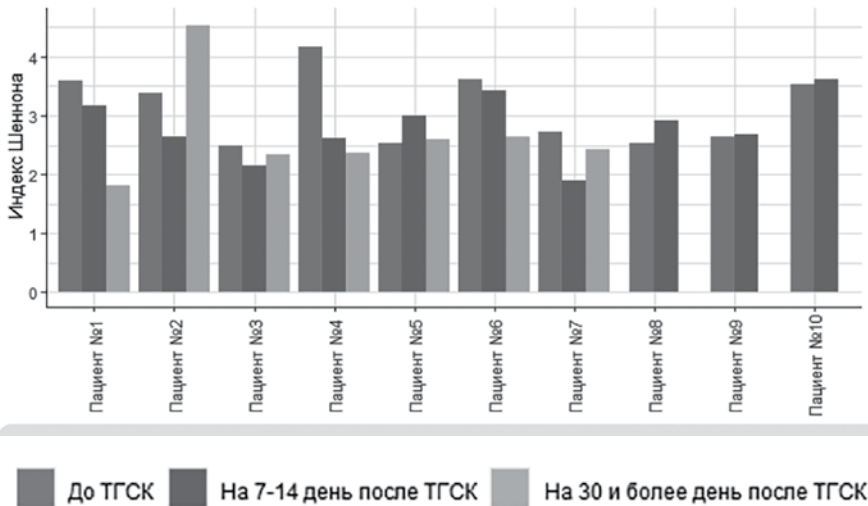


Рисунок 2. Индекс разнообразия микробиоты кишечника у пациентов до ТГСК и после ее проведения.

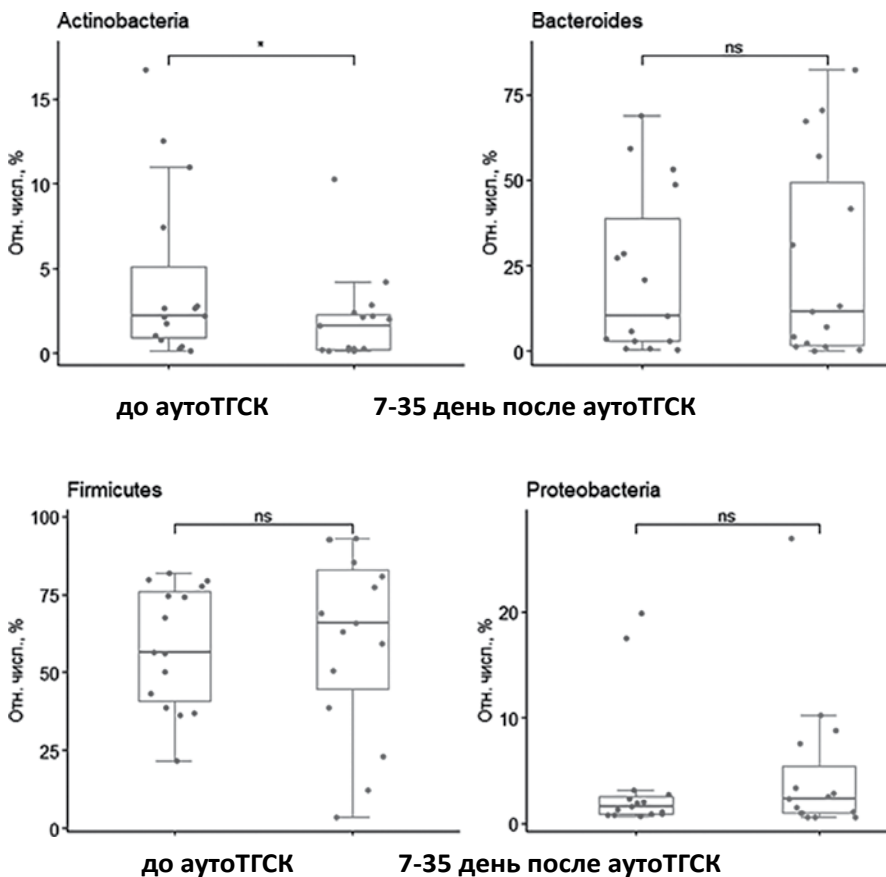


Рисунок 3. Изменение относительной численности фекальных бактериомов на уровне типа. Здесь показаны 4 самых многочисленных типа. Столбцы на левом графике - до аутоТГСК, на правом - на 7-35 день после аутоТГСК. * - значимые различия между группами.

Далее нами были проведены исследования изменения отдельных бактериальных типов в разные периоды после трансплантации с помощью парного теста Уилкоксона. Изучены особенности изменения состава микробиоты на уровне типа до и после аутоТГСК (рис. 3). Установлено, что изменение микробиоты на уровне типа выявлено только в отношении Actinobacteria (Wilcoxon paired test = 18, $p=0,0184$). Достоверных изменений на уровне типов Bacteroides, Firmicutes, Proteobacteria не обнаружено.

Мы исследовали также возможную связь изменения микробиоты кишечника и развития желудочно-кишечной токсичности. На наш взгляд, использование высоких доз мелфалана и противомикробных препаратов у пациентов, подвергавшихся аутоТГСК, приводит к микробному дисбактериозу желудочно-кишечного тракта, что значительно снижает качество жизни больных. Результаты этой серии исследований представлены на рисунке 4. Показано, что при 2 степени токсичности в микробиоте наблюдалось достоверное снижение Bacteroides (Mann-Whitney U test=16, $p=0,044$) по сравнению с группой больных, у которых выявлена 1 степень токсичности.

Нами проведено также исследование изменений кишечной микробиоты при развитии фебрильной нейтропении (рис.5)

Показано, что при развитии фебрильной нейтропении наблюдается достоверное (Mann-Whitney U test=38, $p=0,04$) снижение типа Proteobacteria. Это может быть связано с немедленным назначением эмпирической антибактериальной терапии при фебрильной нейтропении, направленной в первую очередь на грамотрицательные возбудители, что существенно снижает плотность Proteobacteria в кишечном микробиоме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Состояние микробиоты у больных гемобластозами привлекает пристальное внимание исследователей с начала 80-х годов прошлого века. Исследованиями последнего десятилетия показана ключевая роль микробиоты при аллогенной ТГСК у больных гемобластомами. Вместе с тем следует отметить, что его значение при отдельных видах гемобластозов, в частности, при множественной миеломе, имеет свои особенности и требует дальнейшего изучения [4]. Кроме того исследования микробиома касаются в основном аллогенной трансплантации. Слабее изучена его роль при аутологичной ТГСК.

Наше исследование показало, что состав микробиоты в ранние сроки после трансплантации коррелирует с тяжестью желудочно-кишечной токсичности (оцениваемой по частоте эпизодов тош-

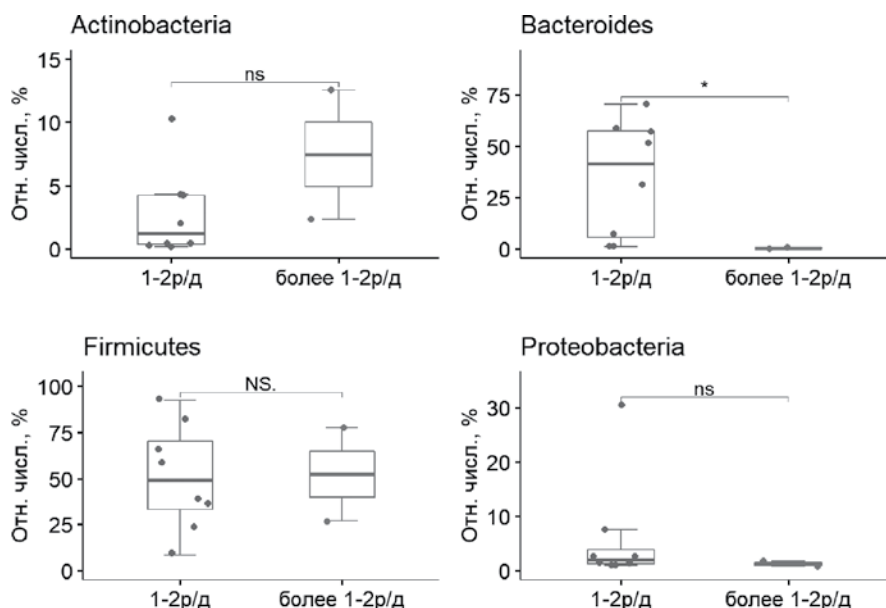


Рисунок 4. Изменение относительной численности фекальных бактериомов при 1 степени и 2 степени желудочно-кишечной токсичности

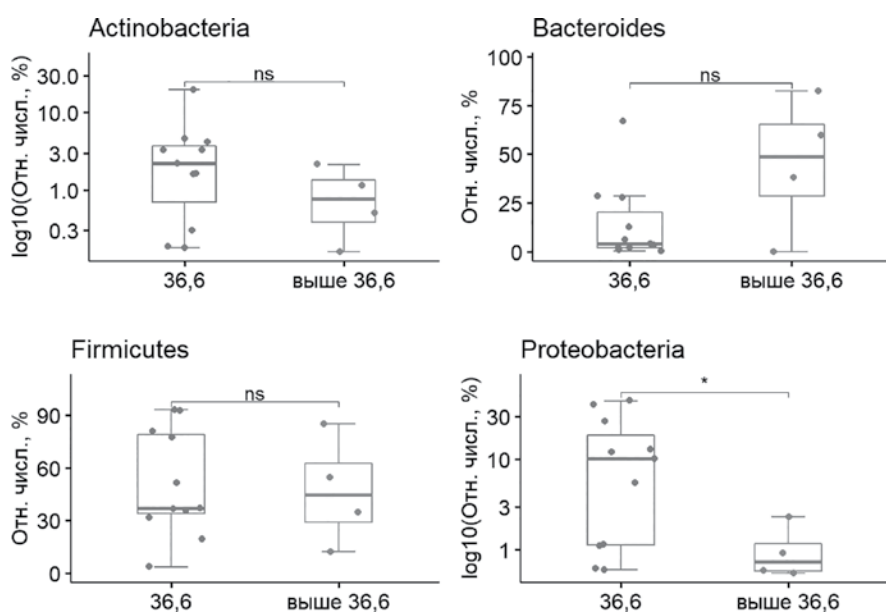


Рисунок 5. Блок-схемы изменений относительной численности фекальных бактериомов на уровне типа.

ноты и рвоты). Так, при второй степени токсичности (частота эпизодов тошноты и рвоты 3-5 в день) по сравнению с первой степенью (частота эпизодов 1-2 раза в день) наблюдалось значимое ($p=0,044$) снижение типа Bacteroides в кишечной микробиоте. Эти данные подтверждаются наблюдениями El Jurdi N. et al. [4]. В частности, описана более низкая токсичность [5] у пациентов ММ с высоким содержанием типа Bacteroides в кишечной микробиоте в ранние сроки после проведения АутоТГСК. Нами установлена также взаимосвязь состава кишечной микробиоты и случаев фебрильной нейтропении при АутоТГСК у пациентов с ММ, что подтверждает ранее опубликованные результаты [4]. Кроме того, выявлено значимое ($p=0.04$) снижение типа Proteobacteria при фебрильной нейтропении при ММ, что может быть объяснено ранними эффектами эмпирической антибактериальной терапии на микробиоту кишечника.

Таким образом, несмотря на сравнительно небольшое количество обследованных пациентов в данном пилотном клиническом исследовании, нами установлена достоверная связь изменений микробиоты с желудочно-кишечной токсичностью и развитием фебрильной нейтропении.

Конфликты интересов отсутствует
Источник финансирования
 Исследование не имело источника финансирования

Вклад авторов
 Концепция и дизайн: все авторы
 Сбор и обработка данных: все авторы
 Предоставление материалов исследования: все авторы
 Анализ и интерпретация: все авторы
 Подготовка рукописи: все авторы
 Окончательное одобрение рукописи: все авторы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К. М. Множественная миелома: руководство для врачей: //М: МК, 2016.– 504 с.
2. Nared, A. et al. Current status of autologous stem cell transplantation for multiple myeloma // Blood Cancer J. – 2019.– Vol. 9, № 4. - P:44. doi: 10.1038/s41408-019- 0205-209
3. El Jurdi, N. et al. Gastrointestinal microbiome and mycobiome changes during autologous transplantation for multiple myeloma: results of a prospective pilot study // Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2019. – Vol. 25. – P. 1511-1519.
4. Чеботкевич, В.Н. и др. Микробиом человека и его роль в гемопоэзе и в развитии множественной миеломы // Вестник гематологии. – 2021. – Т. XVII. – № 3. – С. 4-10.
5. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). Version 4.03 / U.S.Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute. – 2010 – 78 p.
6. Стома, И. О. Микробиом человека: монография / И. О. Стома, И. А. Карпов; Белорус. гос. мед. ун-т, Мин. науч.-практ. центр хирургии, трансплантологии и гематологии. - Минск: ДокторДизайн, 2018. - 122 с.
7. Стома И.О. Микробиом в медицине: руководство для врачей/ И. О. Стома.– Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2020.– 320с.
8. Chebotkevich, V.N. et al. Infectious complications in multiple myeloma patients undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation // Cellular Therapy and Transplantation. – 2021. – Vol. 10, № 1. - P. 63-68.
9. Кулешова, А.В. и др. Микробиом кишечника и его роль в развитии инфекционных осложнений больных гемобластозами // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2020. – № 1-2. – С. 24.

Кустова Д.В., Кириенко А.Н., Мартынкевич И.С.

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России»

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОЯВЛЕНИЯ ВЫСОКОТРАНСМИССИВНЫХ ШТАММОВ ВИРУСА SARS-COV-2 НА ТЕРРИТОРИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕКУРРЕНТНОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ

Kustova D.V., Kirirenko A.N., Martynkevich I.S.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology FMBA of Russia

PREDICTION OF THE HIGHLY TRANSMISSIBLE STRAINS OF SARS-COV-2 VIRUS APPEARANCE ON THE TERRITORY OF SAINT- PETERSBURG USING A RECURRENT NEURAL NETWORK

Резюме. В 2020 году Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила тяжелый острый респираторный синдром, вызванный вирусом SARS-CoV-2, пандемией. Трансмиссивность SARS-CoV-2 связывают с аффинностью связывания спайкового S-белка вируса с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2), что является ключевым событием при проникновении вируса в клетку. Не случайно большинство вакцин нацелено на блокирование S-белка для невозможности связывания с АПФ2. Предсказание возникновения штаммов с мутациями, приводящих к повышению аффинности комплекса S-белок/АПФ2, является важной задачей для предотвращения новых вспышек эпидемии и быстрого реагирования на появление высококонтагиозных штаммов. Предсказание появления высоко-трансмиссивных штаммов является важной медико-биологической задачей, в том числе и онкогематологии, поскольку именно пациенты с иммунодефицитом и находящиеся на иммуносупрессивной терапии подвержены наибольшему риску заражения и тяжелого течения COVID-19. В нашей статье был проведен анализ варибельности аминокислотных последовательностей S-белка SARS-CoV-2, полученных из клинических образцов на территории Санкт-Петербурга с 15 марта 2020 года по 16 июня 2021 года. На основе проанализированных последовательностей с помощью рекуррентной нейронной сети было предсказано появление новых мутаций в рецептор-связывающем мотиве и проведена оценка их влияния на связывание с АПФ2 рецептором. Было предсказано появление мутаций в позициях L455, R457, N481, T500 и G504 и показано, что данные мутации усиливают аффинность связывания с АПФ2 увеличивая трансмиссивность.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, S-белок, ангиотензинпревращающий фермент 2, мутации, молекулярный докинг, нейронные сети

Abstract. In 2020, the World Health Organization (WHO) declared severe acute respiratory syndrome, caused by the SARS-CoV-2 virus, a pandemic. The transmissivity of SARS-CoV-2 is associated with the binding affinity of the virus spike S-protein to ACE2. Predicting the occurrence of strains with mutations leading to an increase of the S-protein/ACE2 complex affinity is an important task for preventing new outbreaks of the epidemic and responding quickly to the appearance of highly contagious strains. Predicting the appearance of highly transmissible strains is an important biomedical task, including hematology, since it is patients with immunodeficiency and those on immunosuppressive therapy who are at the greatest risk of infection and severe COVID-19. In our article, the variability of amino acid sequences of SARS-CoV-2 S-protein obtained from clinical samples in St. Petersburg from March 15, 2020 to June 16, 2021 was analyzed. Based on the analyzed sequences, the emergence of new mutations in the receptor-binding motif was predicted using a recurrent neural network model and their effect on binding to the ACE2 receptor was evaluated. The appearance of mutations in positions L455, R457, N481, T500 and G504 was predicted and it was shown that these mutations enhance the affinity of binding to ACE2 by increasing transmissivity.

Keywords: SARS-CoV-2, S-protein, angiotensin converting enzyme 2, mutations, molecular docking, neural networks

Введение. Первые случаи нового заболевания, приводящего к развитию тяжёлого острого респираторного синдрома, были зарегистрированы в конце 2019 года в китайском городе Ухань. Вскоре стало известно, что болезнь вызвана новым одноцепочечным РНК(+) -вирусом SARS-CoV-2, относящимся к семейству β-коронавирусов. В настоящее время болезнь, получившая название COVID-19 (аббревиатура от англ. COronaVIrus Disease 2019 — коронавирусная инфекция 2019 года), распространилась по всему миру и приняла характер пандемии [1,2].

Проникновение вирусных частиц внутрь клетки-хозяина происходит за счет связывания гликозилированных S-белков, которые находятся на поверхности вируса, с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2). Внутри клетки происходит репликация вирусной РНК, синтез структурных белков и сборка вирусных частиц, после чего упакованные вирусные частицы высвобождаются через лизосомы [3,4].

Вирус SARS-CoV-2 вызывает развитие респираторной инфекции, оказывающей также значительное влияние на систему

кроветворения и гемостаз. Среди наиболее распространенных гематологических изменений отмечают лимфопению, нейтрофилию, эозинопению, тромбоцитопению и тромбоцитоз [5]. Кроме того, у пациентов с тяжелым течением заболевания отмечалось аномальное присутствие предшественников эритроцитов в периферической крови [6,7].

Значительным открытием стало обнаружение рецептора АПФ2 на поверхности гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников [8,9]. Важной особенностью является тот факт, что клетки-предшественники эритроцитов - ERP-S2 (CD71+ CD235A-) и ERP-S3 (CD71+ CD235a+) способны инфицироваться SARS-CoV-2, который успешно амплифицировал свой геном внутри этих клеток [9]. Именно связывание S-белка с рецептором АПФ2 является ключевым этапом инфицирования. При изучении этого процесса было показано, что S-белок, находящийся на поверхности вириона в тримерном состоянии, связывается с АПФ2 и расщепляется на субъединицы S1 и S2 [10–12]. Субъединица S1 содержит домен связыва-

ния рецептора (RBD, 319-541 а.к.), который непосредственно связывается с доменом пептидазы (PD) рецептора АПФ2, в то время как S2 отвечает за слияние мембран. В структуре RBD особо выделяют рецептор-связывающий мотив RBM (437-508 а.к.) – участок, содержащий большинство контактирующих аминокислотных остатков S-белка, которые связываются с АПФ2 рецептором. В составе S1 субъединицы важным является также N-терминальный домен (NTD), который хоть и является менее иммуногенным, чем RBD, однако, недавние исследования показали способность анти-NTD антител нейтрализовать SARS-CoV-2 [12,13].

Важно отметить, что RBD является наиболее изменчивым у родов *Coronavirinae* и рассматривается как ответственный за вирусную трансмиссивность и адаптацию [1,14]. Шесть аминокислот SARS-CoV-2 являются критическими для связывания с АПФ2 рецептором и определения видоспецифичности – L455, F486, Q493, S494, N501 и Y505. Интересным является тот факт, что 5 из шести данных аминокислот не соответствуют вирусу SARS-CoV, который также проникает в клетки за счет связывания с АПФ2 рецептором [15]. Кроме того, для SARS-CoV-2 были получены доказательства существования положительного отбора, направленного на закрепление определенных мутаций в S-гене [16]. Поэтому, совершенно неудивительно, что внимание многих ученых направлено на изучение механизмов формирования комплекса S-белок - АПФ2, отслеживание мутаций, появляющихся в S гене, создание лекарств и вакцин, блокирующих именно S-белок SARS-CoV-2 [17–19].

В решении таких задач большую роль играют методы математической биологии. Так, компьютерное моделирование белков нашло широкое применение при анализе формирования комплекса S-белок – АПФ2-рецептор [10,20–23]. Моделирование позволяет оценить влияние мутаций в S-белке на связывание с АПФ2 рецептором, что определяет патогенность и вирулентность новых штаммов [24]. Неслучайно, наиболее быстрое распространение в популяции имеют штаммы, мутации в которых повышают связывающую способность S-белка с АПФ2 рецептором [25,26].

Эпидемиологические и биохимические исследования показывают, что трансмиссивность различных штаммов SARS-CoV-2 пропорциональна аффинности связывания [11,27]. Следовательно, трансмиссивность SARS-CoV-2 может быть теоретически оценена по аффинности связывания RBM-АПФ2. Соответственно, следует отслеживать появление мутаций, повышающих аффинность данного комплекса, поскольку именно таким мутациям благоприятствует естественный отбор [28].

Алгоритмы машинного обучения активно используются в вычислительной биологии и биоинформатике для прогнозирования мутаций. Например, нейронные сети успешно применяются для прогнозирования мутаций в вирусах гриппа [29], точечных мутаций, возникающих при выравнивании последовательностей РНК [30] и мутаций в определенных сайтах [31]. Несмотря на разнообразие алгоритмов, возникает проблема с динамическим моделированием последовательных данных. Так, появление рекуррентных нейронных сетей (RNN) с долговременной и кратковременной памятью (LSTM) нашло применение для решения проблемы управления нелинейной динамикой в исследованиях временных рядов [32]. Было показано, что модели, основанные на RNN превосходят модели на основе логистической регрессии (LR) и методе опорных векторов (SVM) [33]. Это связано с тем, что модели на основе RNN в отличие от LR и SVM могут использовать свою внутреннюю память для обработки последовательностей произвольной длины. Модель на основе RNN-LSTM использовалась для предсказания возникновения мутаций в геномной последовательности SARS-CoV-2 и показала увеличение количества замен С>Т в будущем времени [34], а также легла в основу конвейера «Tempel», предсказывающего вероятность появления мутаций вируса гриппа в следующем сезоне, опираясь на временные данные о последовательностях гемагглютинина [33].

Помимо выбора модели и обучающего алгоритма необхо-

димо правильно представить входные данные. Применение нейронных сетей к численно преобразованным последовательностям аминокислот или нуклеиновых кислот демонстрирует неоднозначные результаты [30]. Поэтому одним из решений проблемы подготовки входных данных является применение методов обработки естественного языка (NLP) [33,35,36]. NLP позволяет представить аминокислотную последовательность в виде многомерных векторов. В частности, ProtVec преобразует аминокислотную последовательность в виде перекрывающихся «биологических» слов, состоящих из 3 аминокислот, представленных в векторе $1*100$ [32]. Предсказание возникновения новых штаммов с новыми свойствами, в частности, повышенной трансмиссивностью за счет более эффективного связывания вирусных частиц с рецепторами на поверхности клеток, позволяет заранее решить ряд эпидемиологических задач в период пандемии – оценить эффективность уже существующих вакцин против возможных штаммов, дает время на создание новых вакцин и на подготовку системы здравоохранения к новым «волнам» эпидемии. Разработка механизмов оценки появления новых трансмиссивных штаммов найдет свое значение и в фундаментальной науке, позволив, например, объяснить влияние SARS-CoV-2 на гематологический статус пациента. Именно поэтому целью нашей работы стало предсказание возникновения мутантных штаммов с повышенной трансмиссивностью SARS-CoV-2 на территории Санкт-Петербурга. Для этого нами была изучена вариабельность S-белка у штаммов SARS-CoV-2, выделенных на территории Санкт-Петербурга с 15 марта 2020 года по 16 июня 2021 года. На основе проанализированных последовательностей методами машинного обучения нами было предсказано появление новых мутаций и проведена оценка их влияния на связывание S-белка с АПФ2 рецептором, т.е. трансмиссивность штаммов.

Материалы и методы. Для проведения анализа использовались данные, представленные на сайте GISAID (<https://www.gisaid.org>) [37]. В анализ брали аминокислотные последовательности S-белка SARS-CoV-2, полученные из образцов клинического материала в период с середины марта 2020 года по середину июня 2021 года. По состоянию на 16 июня 2021 года в этой базе содержалось 852 полных последовательности S-белка SARS-CoV-2, полученных на территории Санкт-Петербурга. В качестве референсной последовательности использовали Wuhan-Hu-1 (EPI_ISL_402124) [38].

Филогенетический анализ проводили с использованием пакета BioPython (<https://biopython.org>) [39] для Python и свободного программного обеспечения UGENE v.39.0 (<http://ugene.net/ru/>) [40]. Множественное выравнивание последовательностей проводили с помощью алгоритма MUSCLE [41]. Для построения филогенетического дерева использовали метод максимального правдоподобия (ML).

Для предсказания мутаций использовали конвейер, основанный RNN, представленный в работах Rui Yin, а также Shashata Sawmya с соавторами [31,33].

Для предварительной подготовки входных данных следовали протоколу, представленному в работе Rui Yin [33]. Выровненные последовательности были разделены на три волны заболеваемости в соответствии с данными Роспотребнадзора. Первая волна – с марта 2020 по сентябрь 2020, вторая волна – с октября 2020 по март 2021 и третья волна – с апреля 2021 по июнь 2021. Входные данные представлены в виде $1254*100$ -мерного векторного пространства на основе ProtVec [36]. Прогнозирование мутаций проводили на фрагменте RBM мотива (437-507 а.к.).

Для прогнозирования мутировавшей аминокислоты в предсказанной позиции использовали таблицу вероятности мутаций аминокислот, представленную в работе Shaomin Yan и Guang Wu [42].

Для моделирования по гомологии фрагмента S-белка SARS-CoV-2 (331-524 а.к.), содержащей предсказанные мутации в RBM мотиве, использовали сервер SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) [43–47]. В качестве шаблона использовали структуру S-белка SARS-CoV-2 (7ddn) из базы данных PDB (<http://www>

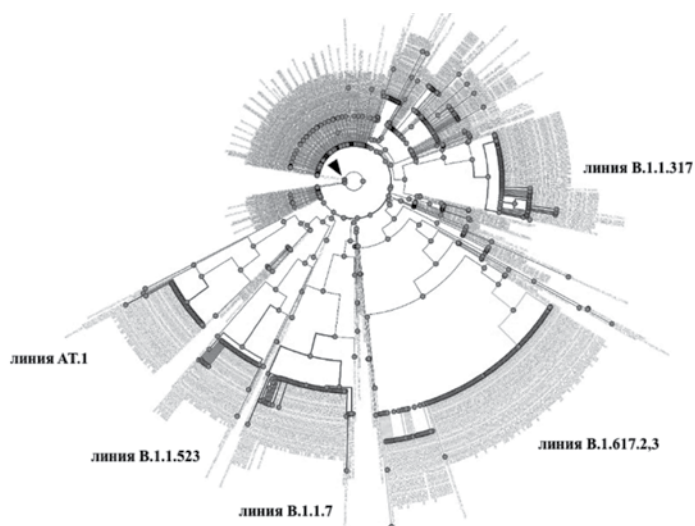


Рис. 1. Филогенетическое дерево вариантов S-белка, распространенных на территории Санкт-Петербурга. Стрелкой отмечена референсная последовательность S-белка Wuhan-Hu-1 (EPI_ISL_402124).

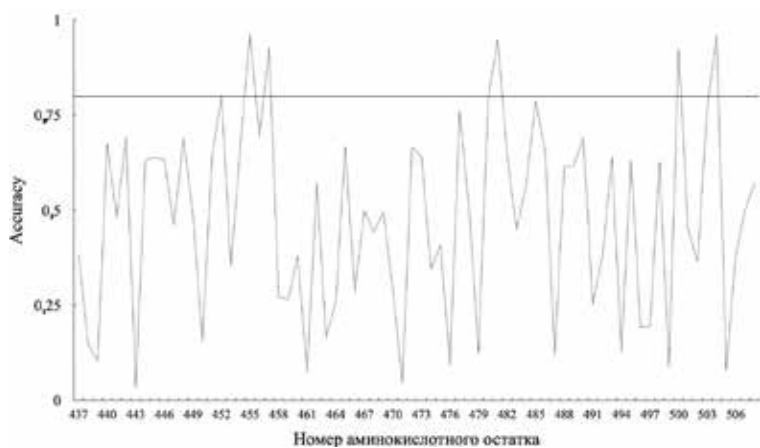


Рис. 2. Точность прогноза мутаций аминокислотных остатков. Черная линия обозначает базовую линию.

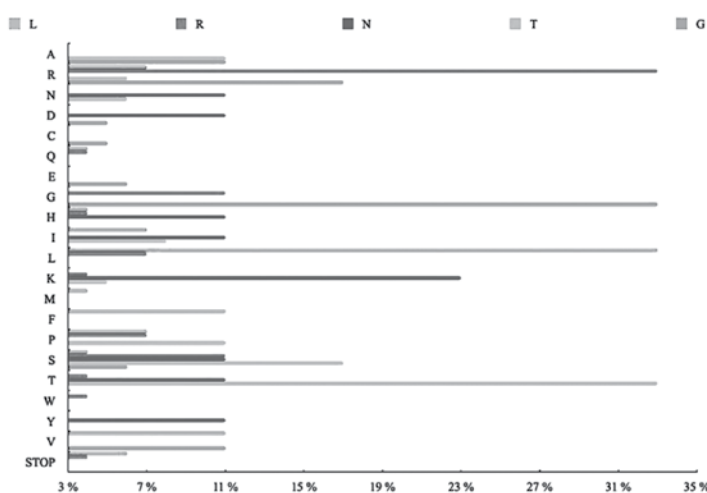


Рис. 3. Прогноз потенциальных мутаций аминокислот по позициям L455, R457, N481, T500, G504 на основе вероятности трансляции между кодонами РНК и мутированными аминокислотами. Аланин; R, Аргинин; N, Аспарагин; D, Аспарагиновая кислота; V, Валин; H, Гистидин; G, Глицин; Q, Глутамин; E, Глутаминовая кислота; I, Изолейцин; L, Лейцин; K, Лизин; M, Метионин; P, Пролин; S, Серин; Y, Тирозин; T, Треонин; W, Триптофан; F, Фенилаланин; C, Цистеин; STOP, стоп-кодон

wwpdb.org/) [48].

Для моделирования взаимодействия между фрагментами, содержащими предсказанные мутации в RBM мотиве S-белка (331-524 а.к.) и АПФ2 рецептором (6M17) использовался сервер ClusPro (<https://cluspro.bu.edu/login.php>) [49–52]. Скоринг функция для отбора наиболее правдоподобных моделей:

$$E = 0,4E_{rep} + (-0,4E_{att}) + 600E_{elec} + 1,00E_{DARS},$$

где E_{rep} и E_{att} – вклады в межмолекулярные силы Ван-дер-ваальса, E_{elec} – электростатическая энергия, E_{DARS} – потенциал, основанный на парной структуре [49–52].

Для прогнозирования аффинности в белок-белковых комплексах использовали сервер PRODIGY (<https://wenmr.science.uu.nl/prodigy/>) [53,54]. Полученные данные визуализировали с помощью программы PyMol (<https://PyMol.org/2/>) [55].

Результаты. Анализ множественного выравнивания последовательностей показал, что NTD область (139-168 а.к.) и RBD домен (319-541 а.к.) являются наиболее вариабельными. Филогенетический анализ вариантов S-белка показал, что на территории Санкт-Петербурга преобладают линии AT.1, B.1.1.523, B.1.1.7, B.1.617.2,3, B.1.1.317 (Рисунок 1). Далее работу вели только с фрагментом RBD домена (331–524 а.к.), поскольку именно он является ключевым в связывании S-белка с АПФ2 рецептором [12,13].

Конвейер, основанный на рекуррентной нейронной сети, предсказал 5 ключевых аминокислот, в которых может произойти мутация в ходе эволюции. Лейцин (L) в 455 положении, аргинин (R) в 457, аспарагин (N) в 481, треонин (T) в 500 и глицин (G) в 504. Результат точности (Accuracy) прогнозирования мутаций аминокислотных остатков представлен на рисунке 2. На рисунке 3 показана вероятность мутации аминокислот в предсказанных положениях в другую аминокислоту.

Для дальнейшего анализа были выбраны преобладающие замены: L455F, L455V, R457G, R457S, N481K, T500S, G504R.

С помощью сервера SWISS-MODEL были получены третичные структуры фрагментов (331–524 а.к.) S-белка SARS-CoV-2 линии B.1.617.2 и SARS-CoV-2 линии B.1.617.2 с внесенной мутацией в 455 положении, а также, референсного S-белка SARS-CoV-2 с мутацией в положении 455, 457, 481, 500, 504. С помощью сервера ClusPro было проведено молекулярное моделирование взаимодействия полученных фрагментов с АПФ2 рецептором. Визуализация моделей взаимодействия фрагментов S-белка линии B.1.617.2 и референсного S-белка SARS-CoV-2 с мутацией в ключевой аминокислоте L455 с АПФ2 рецептором представлена на рисунке 4.

Для всех построенных моделей была проведена оценка энергии и аффинности связывания. Средняя и низшая энергия связывания фрагментов (331–524 а.к.) S-белка SARS-CoV-2 с АПФ2 рецептором, полученная с помощью сервера ClusPro, представлена на рисунке 5А. Предсказание аффинности связывания моделей белок-белкового комплекса представлено на рисунке 5Б.

Обсуждение. Анализ геномных изменений вирусов, в частности SARS-CoV-2, является одним из ключевых этапов реагирования и борьбы с распространением заболеваний. Секвенирование решает широкий спектр задач, направленных на идентификацию и характеристику вируса (в частности, разработку диагностических тест-систем), изучение передачи и географического распространения и оценку эволюции вируса (WHO). Совместно с методами компьютерного

моделирования секвенирование позволяет оценить влияние мутаций на трансмиссивность. Подключение к таким исследованиям машинного обучения даёт возможность предсказать появление новых опасных мутаций, что позволяет заранее принимать меры для предотвращения распространения новых штаммов и даёт время на разработку новых лекарств и вакцин, что особенно актуально для пациентов с злокачественными опухолями системы крови, характеризующихся иммунодефицитом и находящихся на иммуносупрессивной терапии.

В нашей работе мы провели филогенетический анализ аминокислотных последовательностей штаммов, выделенных в Петербурге с марта 2020 по июнь 2021 гг., и оценили их генетическое разнообразие, обращая особое внимание на линии, которые имеют мутации в S-гене. Штаммы с мутациями в S гене, которые приводят к замене аминокислот в RBD домене и усиливают связывание с АПФ2, привлекают особое внимание из-за высокой скорости распространения, такие штаммы ВОЗ обозначает как «вызывающие опасения».

Так, среди линий, выявленных в Санкт-Петербурге с марта 2020 по июнь 2021, долю в 14,41% занимает линия V.1.1.317, имеющая мутации в S-белке Q675R, D138Y, S477N, A845S (Рисунок 1). Данная линия была впервые выявлена в марте 2020 во Вьетнаме и характеризуется, кроме того, мутацией в нуклеокапсиде A211V. Варианты с такой мутацией мало распространились в мире, однако в России в феврале – марте 2020 года занимали 26,9% [56]. Данный набор мутаций обеспечивает штамму эффективное связывание с АПФ2 рецептором и ускользание от иммунного ответа [56].

Линия V.1.1.523, имеющая долю в 4,28% в Санкт-Петербурге (Рисунок 1), несет в себе мутацию E484K, характерную и для других штаммов, например, V.1.351 (Южная Африка) и V.1.1.28 (Бразилия) и вызывает особый интерес, поскольку способна снижать нейтрализацию антителами [57]. Штаммы с мутацией E484K, которая влияет на формирование комплекса с АПФ2, быстро вытеснили другие варианты вируса и распространились на другие страны [58]. Варианты SARS-CoV-2. Новости о вспышках болезней 31 декабря 2020 г. – ВОЗ; Nelson et al., 2021) [59].

Важно отметить значительную долю (5,64%) линии AT-1 (V.1.1.370.1) (<https://cov-lineages.org/index.html>) [60] в анализируемых нами последовательностях (Рисунок 1). Данная линия впервые была выявлена в Северо-Западном федеральном округе и характеризуется вставкой N679delinsKGIAL и делецией по позициям C136_Y144del, находящимися в S-белке. Данные мутации могут оказывать влияние на эффективность разрезания S-белка фурином и на эффективность проникновения вируса в клетку [61]. Данный штамм распространился не только на Северо-Западе России, но и в таких странах как Финляндия, Германия, Британия (https://cov-lineages.org/lineages/lineage_AT.1.html).

На июнь 2021 года 22,87% секвенированных штаммов относятся к линии V.1.617 (Рисунок 1). Филогенетический анализ показывает наличие в Санкт-Петербурге линий V.1.617.2 и V.1.617.3. Данные линии были выделены в октябре-феврале 2020-2021 гг в Индии и несут важные замены в RBD домене – L452R и T478K. Линия V.1.617.2 характеризуется большей трансмиссивностью, а антитела и сыворотки вакцинированных людей хоть и способны нейтрализовать данный штамм, но с гораздо более низкой эффективностью [62–64]. Большая доля данных штаммов от всех секвенированных образцов связана, как с доминированием данного штамма в мире на июнь 2021, так и с увеличением количества секвенируемых образцов в Санкт-Петербурге.

При сравнении филогенетических данных штаммов из Санкт-Петербурга с данными, полученными в других регионах, выявляется ряд общих черт распространения SARS-Cov-2 в России. Так, ни в одном регионе не был выявлен исходный штамм Wuhan-Hu-1, подавляющее большинство штаммов, циркулировавших на ранних этапах пандемии, относились к линиям V.1, V.1.1 и V.1.* (кладам G, GR, и GH), также обнаруживаются штаммы с мутациями, с которым ряд исследователей связывают

уклонение от иммунного ответа [Водопьянов и др., 2020, Осина и др., 2020] [65]. Особенность филогении SARS-CoV-2 в Санкт-Петербурге является появление штамма AT-1, получившего название «северо-западный» [61].

Аминокислотные последовательности S-белка штаммов, получивших распространение на территории Санкт-Петербурга, использовались как входные данные для нейронной сети. В нашей работе мы показали возможное появление мутаций в позициях – L455, R457, N481, T500 и G504. В дальнейшем анализ брали варианты S-белка с аминокислотными заменами, имеющими наибольшую вероятность (Рисунок 3) – L455F, L455V, R457S, R457G, N481K, T500S, G504R.

На основе предсказанных мутаций были построены модели взаимодействия фрагментов S-белка (331-524 а.к.) с измененными аминокислотами с АПФ2 (Рисунок 4). Оценку влияния

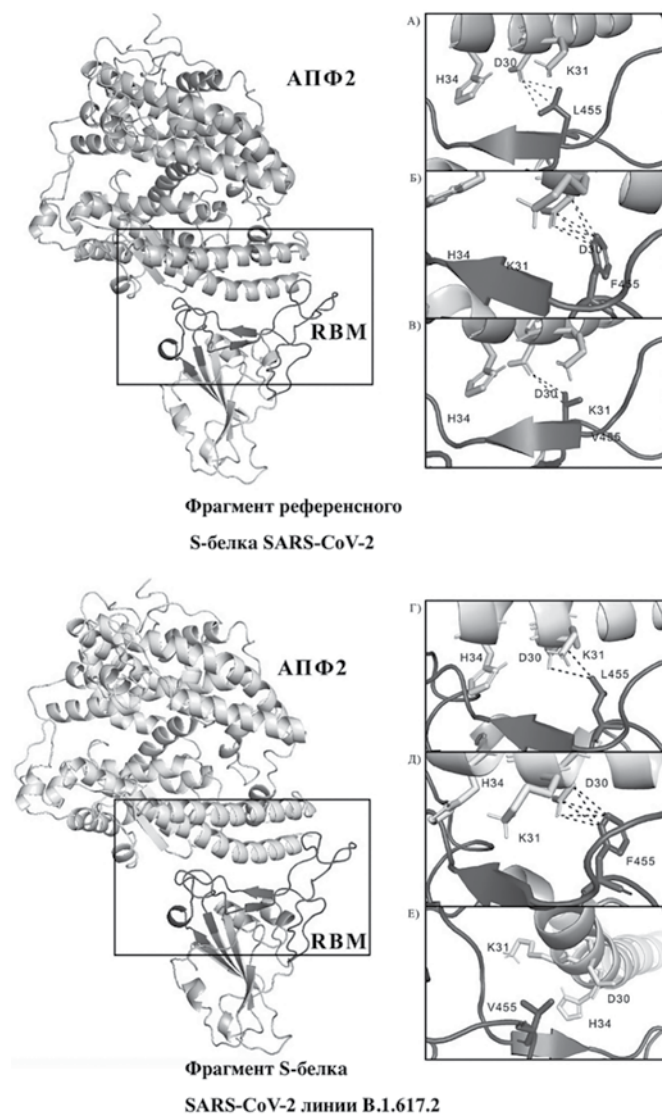


Рис 4. Визуализация моделей взаимодействия фрагмента S-белка SARS-CoV-2 линии V.1.617.2 и референсного S-белка SARS-CoV-2 с АПФ2 рецептором. Черным прямоугольником выделена область, в которой происходит взаимодействие с АПФ2. Пунктирные линии – длина связи меньше 4 Å. А) Фрагмент референсного S-белка SARS-CoV-2. Б) Фрагмент референсного S-белка SARS-CoV-2 с мутацией в L455F. В) Фрагмент референсного S-белка SARS-CoV-2 с мутацией в L455V. Г) Фрагмент S-белка SARS-CoV-2 линии V.1.617.2. Д) Фрагмент S-белка SARS-CoV-2 линии V.1.617.2 с мутацией в L455F. Е) Фрагмент S-белка SARS-CoV-2 линии V.1.617.2 с мутацией в L455V.

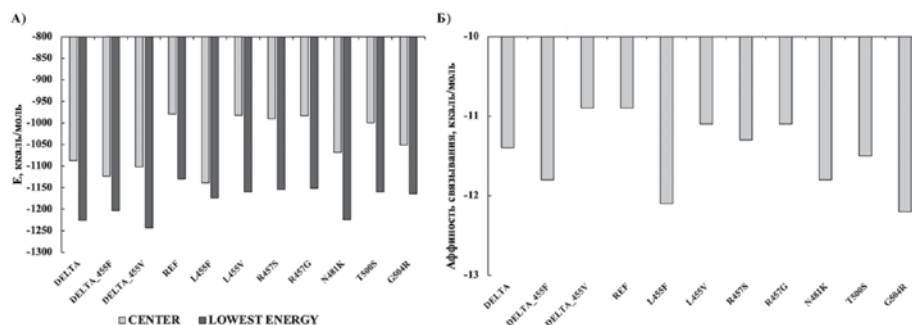


Рис. 5. А) Средняя и низшая энергия связывания фрагментов (331–524 а.к.) S-белка SARS-CoV-2 с АПФ2 рецептором. Б) Предсказанная аффинность моделей белок-белкового комплекса. DELTA - Фрагмент S-белка SARS-CoV-2 линии В.1.617.2, REF - Фрагмент S-белка SARS-CoV2 Wuhan-Hu-1.

таких мутаций проводили в сравнении с соответствующим участком S-белка исходного штамма Wuhan-Hu-1. Мы показали, что данные мутации увеличивают аффинность связывания, что свидетельствует о формировании более стабильных комплексов (Рисунок 5Б).

Мутация в позиции L455 представляет особый интерес, поскольку данная аминокислота напрямую взаимодействует с АПФ2 рецептором в позициях D30, K31 и H34 [10,66]. Наши данные говорят о возможности возникновения замен L455V и L455F, причем мутация L455F предпочтительнее исходя из значений энергии связывания (-11,1 ккал/моль-1 и -12,1 ккал/моль-1 соответственно) (Рисунок 5А). Штаммы с заменой L455F уже были идентифицированы в США [28]. Такая замена хоть и встречается с низкой частотой на территории США, однако, имеет наиболее высокие абсолютные изменения свободной энергии связывания из изученных авторами [28]. Примечательно предположение о том, что замена Туг442→Leu455 повысила способность SARS-CoV-2-RBD связываться с рецептором АПФ2 по сравнению с SARS-CoV-RBD [22].

Исходя из ключевой роли данной аминокислоты в формировании комплекса S-белок – АПФ2 и полученных нами данных о более стабильных комплексах с мутациями L455V и L455F, был проведен анализ вариантов S-белка штамма В.1.617.2 (22,87% от всех проанализированных нами последовательностей) с АПФ2 рецептором (Рисунок 4Г-4Е). Аффинность комплекса S-белок (В.1.617.2) – АПФ2 составляет -11,4 ккал/моль-1, с мутацией L455F -11,8 ккал/моль-1, с мутацией - L455V -10,9 ккал/моль-1, что говорит о том, что данные мутации не оказывают существенного влияния на формирование комплекса (Рисунок 5). Однако данные, полученные нами на основе прогнозирования мутаций, а также тот факт, что мутация L455F уже выявлялась в популяции, говорят о том, что вероятность появления новых штаммов с такой мутацией достаточно высока. Так, на-

пример, штаммы с мутацией D614G появились независимо в разных странах и закрепились в популяции, заменив исходный штамм Wuhan-Hu-1[67]. Таким образом, проанализировав вариативность S-белка у штаммов, выявленных на территории Санкт-Петербурга в период с 15 марта 2020 г. по 16 июня 2021 г., мы определили возможные сайты возникновения мутаций, предсказали преобладающие аминокислотные замены в данных сайтах и показали, что все предсказанные нами мутации оказывают влияние на связывание RBD домена S-белка с АПФ2 рецептором, увеличивая аффинность связывания. Это свидетельствует о формировании более стабильных комплексов S-белок/АПФ2-рецептор, а значит такие штаммы могут обладать большей трансмиссивностью. Полученные нами данные, а также опыт использования нейронных сетей для предсказания высококонтагиозных штаммов позволит в следующих работах оценить появление таких штаммов у когорты онкогематологических больных.

Благодарности – авторы выражают благодарность полковнику медицинской службы Мясникову В.А. за ознакомление со статьей.

Конфликты интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования

Вклад авторов

Концепция и дизайн: Кустова Д.В., Кириенко А.Н.

Сбор и обработка данных: Кустова Д.В., Кириенко А.Н.

Представление материалов исследования: Кустова Д.В., Кириенко А.Н.

Анализ и интерпретация: Кустова Д.В., Кириенко А.Н.

Подготовка рукописи: Кустова Д.В., Кириенко А.Н., Мартынкевич И.С.

Окончательное одобрение рукописи: Мартынкевич И.С.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Zhou P., Yang X. Lou, Wang X.G., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin // Nature.–2020.– Vol. 579, P.270–273.
- Huang Y., Yang C., Xu X., et al. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antivirus drug development for COVID-19 // Acta Pharmacologica Sinica.–2020.– Vol. 41, No. 9.– P.1141–1149.
- Fehr A.R., Perlman S. Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis // Coronaviruses: Methods and Protocols–2015.– Vol. 1282, No. 1.– P.1–23.
- Ghosh S., Dellibovi-Ragheb T.A., Pak E., et al. β -Coronaviruses use lysosomal organelles for cellular egress // Cell.–2020.– Vol. 183, No. 6.– P.1520–1535.
- Leticia de Oliveira Toledo S., Sousa Nogueira L., das Graças Carvalho M., et al. COVID-19: Review and hematologic impact // Clinica Chimica Acta.–2020.– Vol. 510.– P.170–176.
- Bernardes J.P., Mishra N., Tran F., et al. Longitudinal Multi-omics Analyses Identify Responses of Megakaryocytes, Erythroid Cells, and Plasmablasts as Hallmarks of Severe COVID-19 // Immunity.–2020.– Vol. 53, No. 6.– P.1296-1314.
- Shahbaz S., Xu L., Osman M., et al. Erythroid precursors and progenitors suppress adaptive immunity and get invaded by SARS-CoV-2 // Stem Cell Reports.–2021.– Vol. 16, No. 5.– P.1165–1181.
- Ropa J., Cooper S., Capitano M.L., et al. Human Hematopoietic Stem, Progenitor, and Immune Cells Respond Ex Vivo to SARS-CoV-2 Spike Protein // Stem Cell Reviews and Reports.–2021.– Vol. 17, No. 1.– P.253–265.
- Huerga Encabo H., Grey W., Garcia-Albornoz M., et al. Human Erythroid Progenitors Are Directly Infected by SARS-CoV-2: Implications for Emerging Erythropoiesis in Severe COVID-19 Patients // Stem Cell Reports.–2021.– Vol. 16, No. 3.– P.428–436.
- Lan J., Ge J., Yu J., et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor // Nature.–2020.– Vol. 581.– P.215–220.
- Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor // Cell.–2020.– Vol. 181, No. 2.– P.271-280.
- Chi X., Yan R., Zhang J., et al. A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2 // Science.–2020.– Vol. 369.– P.650–655.
- Liu L., Wang P., Nair M.S., et al. Potent neutralizing antibodies against multiple epitopes on SARS-CoV-2 spike // Nature.–2020.– Vol. 584.– P.450–456.
- Wu F., Zhao S., Yu B., et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China // Nature.–2020.– Vol. 579.– P.265–269.

15. Wan Y, Shang J, Graham R, et al. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: An Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus // *Journal of Virology*.–2020.– Vol. 94, No. 7.
16. Zhan X.Y., Zhang Y., Zhou X., et al. Molecular evolution of SARS-CoV-2 structural genes: Evidence of positive selection in spike glycoprotein // *bioRxiv*.–2020.– No. 628.– P.0–3.
17. Komissarov A.B., Safina K.R., Garushyants S.K., et al. Genomic epidemiology of the early stages of the SARS-CoV-2 outbreak in Russia // *Nature Communications*.–2021.– Vol. 12, No. 1.– P.1–13.
18. Li Q., Wu J., Nie J., et al. The Impact of Mutations in SARS-CoV-2 Spike on Viral Infectivity and Antigenicity // *Cell*.–2020.– Vol. 182, No. 5.– P.1284–1294.
19. Min L., Sun Q. Antibodies and Vaccines Target RBD of SARS-CoV-2 // *Frontiers in Molecular Biosciences*.–2021.– Vol. 8.– P.1–9.
20. Xiantian X., Ping C., Jingfang W., et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission // *SCIENCE CHINA Life Sciences*.–2020.– Vol. 63, No. 3.– P.457–460.
21. Wrapp D., Wang N., Corbett K.S., et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation // *Science*.–2020.– Vol. 367.– P.1260–1263.
22. Renhong Y., Yuanyan Z., Yaning L., et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2 // *Science*.–2020.– Vol. 367.– P.1444–1448.
23. Zhou T., Tsybovsky Y., Gorman J., et al. Cryo-EM Structures of SARS-CoV-2 Spike without and with ACE2 Reveal a pH-Dependent Switch to Mediate Endosomal Positioning of Receptor-Binding Domains // *Cell Host and Microbe*.–2020.– Vol. 28, No. 6.– P.867–879.
24. Arul Murugan N., Javali P.S., Jeyaraj Pandian C., et al. Computational Investigation of Increased Virulence and Pathogenesis of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 // *bioRxiv*.–2021.– Vol. 449.
25. Khateeb J., Li Y., Zhang H. Emerging SARS-CoV-2 variants of concern and potential intervention approaches // *Critical Care*.–2021.– Vol. 25, No. 1.– P.1–8.
26. Harvey W.T., Carabelli A.M., Jackson B., et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape // *Nature Reviews Microbiology*.–2021.– Vol. 19, No. 7.– P.409–424.
27. Walls A.C., Park Y.J., Tortorici M.A., et al. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein // *Cell*.–2020.– Vol. 181, No. 2.– P.281–292.
28. Wang R., Chen J., Gao K., et al. Analysis of SARS-CoV-2 mutations in the United States suggests presence of four substrains and novel variants // *Communications Biology*.–2021.– Vol. 4, No. 1.– P.1–14.
29. Yan S., Wu G. Application of neural network to predict mutations in proteins from influenza A viruses - A review of our approaches with implication for predicting mutations in coronaviruses // *Journal of Physics: Conference Series*.–2020.– Vol. 1682, No. 1.
30. Salama M.A., Hassanien A.E., Mostafa A. The prediction of virus mutation using neural networks and rough set techniques // *Eurasip Journal on Bioinformatics and Systems Biology*.–2016.– Vol. 2016, No. 1.– P.1–11.
31. Sawmya S., Haisam A., Rafid M. Analyzing hCov Genome Sequences : Predicting Virulence and Mutation // *bioRxiv*. –2021.– P.1–14.
32. Hochreiter S., Schmidhuber J. Long Short-Term Memory // *Neural Computation*.–1997.– Vol. 9, No. 8.– P.1735–1780.
33. Yin R., Luusua E., Dabrowski J., et al. Tempel: Time-series mutation prediction of influenza A viruses via attention-based recurrent neural networks // *Bioinformatics*.–2020.– Vol. 36, No. 9.– P.2697–2704.
34. Hossain M.S., Pathan A.Q.M.S.U., Islam M.N., et al. Genome-wide identification and prediction of SARS-CoV-2 mutations show an abundance of variants: Integrated study of bioinformatics and deep neural learning. // *bioRxiv*.–2021.
35. Hie B., Zhong E.D., Berger B., et al. Learning the language of viral evolution and escape // *Science*.–2021.– Vol. 371.– P.284–288.
36. Asgari E., Mofrad M.R.K. Continuous distributed representation of biological sequences for deep proteomics and genomics // *PLoS ONE*.–2015.– Vol. 10, No. 11.– P.1–15.
37. Elbe S., Buckland-Merrett G. Data, disease and diplomacy: GISAID's innovative contribution to global health // *Global Challenges*.–2017.– Vol. 1, No. 1.– P.33–46.
38. Okada P., Buathong R., Phuyun S., et al. Early transmission patterns of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in travellers from Wuhan to Thailand, January 2020 // *Eurosurveillance*.–2020.– Vol. 25, No. 8.
39. Cock P.J.A., Antao T., Chang J.T., et al. Biopython: Freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics // *Bioinformatics*.–2009.– Vol. 25, No. 11.– P.1422–1423.
40. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., et al. Unipro UGENE: A unified bioinformatics toolkit // *Bioinformatics*.–2012.– Vol. 28, No. 8.– P.1166–1167.
41. Edgar R.C. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // *Nucleic Acids Research*.–2004.– Vol. 32, No. 5.– P.1792–1797.
42. Yan S., Wu G. Prediction of Mutation Positions in H5N1 Neuraminidases From Influenza A Virus by Means of Neural Network // *Annals of Biomedical Engineering*.–2010.– Vol. 38, No. 3.– P.984–992.
43. Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S., et al. SWISS-MODEL: Homology modelling of protein structures and complexes // *Nucleic Acids Research*.–2018.– Vol. 46, No. 1.– P.296–303.
44. Bienert S., Waterhouse A., De Beer T.A.P., et al. The SWISS-MODEL Repository-new features and functionality // *Nucleic Acids Research*.–2017.– Vol. 45, No. 1.– P.313–319.
45. Guex N., Peitsch M.C., Schwede T. Automated comparative protein structure modeling with SWISS-MODEL and Swiss-PdbViewer: A historical perspective // *Electrophoresis*.–2009.– Vol. 30, No.1.– P.162–173.
46. Studer G., Rempfer C., Waterhouse A.M., et al. QMEANDisCo—distance constraints applied on model quality estimation // *Bioinformatics*.–2020.– Vol. 36, No. 6.– P.1765–1771.
47. Bertoni M., Kiefer F., Biasini M., et al. Modeling protein quaternary structure of homo- and hetero-oligomers beyond binary interactions by homology // *Scientific Reports*.–2017.– Vol. 7, No. 1.– P.1–15.
48. Berman H.M. The Protein Data Bank // *Nucleic Acids Research*.–2000.– Vol. 28, No. 1.– P.235–242.
49. Desta I.T., Porter K.A., Xia B., et al. Performance and Its Limits in Rigid Body Protein-Protein Docking // *Structure*.–2020.– Vol. 28, No. 9.– P.1071–1081.
50. Vajda S., Yueh C., Beglov D., et al. New additions to the ClusPro server motivated by CAPRI // *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*.–2017.– Vol. 85, No. 3.– P.435–444.
51. Kozakov D., Hall D.R., Xia B., et al. The ClusPro web server for protein-protein docking // *Nature Protocols*.–2017.– Vol. 12, No. 2.– P.255–278.
52. Kozakov D., Beglov D., Bohnuud T., et al. How good is automated protein docking? // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*.–2013.– Vol. 81, No. 12.– P.2159–2166.
53. Vangone A., Bonvin A.M.J.J. Contacts-based prediction of binding affinity in protein-protein complexes // *eLife*.–2015.– Vol. 4.– P.1–15.
54. Xue L.C., Rodrigues J.P., Kastritis P.L., et al. PRODIGY: A web server for predicting the binding affinity of protein-protein complexes // *Bioinformatics*.–2016.– Vol. 32, No. 23.– P.3676–3678.
55. Schrödinger, LLC The {PyMol} Molecular Graphics System, Version~1.8 // –2015.–
56. Klink G. V, Safina K.R., Garushyants S.K., et al. Spread of endemic SARS-CoV-2 lineages in Russia // *medRxiv*.–2021.
57. Jangra S., Ye C., Rathnasinghe R., et al. SARS-CoV-2 spike E484K mutation reduces antibody neutralisation // *The Lancet Microbe*.–2021.– Vol. 2, No. 7.– P.283–284.
58. Akkiz H. Implications of the Novel Mutations in the SARS-CoV-2 Genome for Transmission, Disease Severity, and the Vaccine Development. // *Frontiers in medicine*.–2021.– Vol. 8.
59. Nelson T.L., Fodick B.K., Biela L.M., et al. Association Between COVID-19 Exposure and Self-reported Compliance With Public Health Guidelines Among Essential Employees at an Institution of Higher Education in the US // *JAMA Network Open*.–2021.– Vol. 4, No. 7.
60. O'Toole Á., Scher E., Underwood A., et al. Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool // *Virus Evolution*.–2021.–Vol. 7, No. 2.
61. Gladkikh A., Dolgova A., Dedkov V., et al. Characterization of a Novel SARS-CoV-2 Genetic Variant with Distinct Spike Protein Mutations // *Viruses*.–2021.– Vol. 13, No. 6.
62. Planas D., Veyer D., Baidaliuk A., et al. Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization // *Nature*.–2021.– Vol. 596, No.– P.276–280.
63. Wall E.C., Wu M., Harvey R., et al. Neutralising antibody activity against SARS-CoV-2 VOCs B.1.617.2 and B.1.351 by BNT162b2 vaccination // *The Lancet*.–2021.– Vol. 397.– P.2331–2333.
64. Winger A., Caspari T. The Spike of Concern—The Novel Variants of SARS-CoV-2 // *Viruses*.–2021.– Vol. 13, No. 6.
65. Osina N.A., Krasnov Y.M., Guseva N.P., et al. Molecular-genetic monitoring of sARs-CoV-2 genovariants in the territory of the volga federal district of the Russian Federation. Communication // *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*.–2021.– Vol. 2, No. 1.– P.122–127.
66. Yi Y., Lagniton P.N.P., Ye S., et al. COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease // *International journal of biological sciences*.–2020.– Vol. 16, No. 10.– P.1753–1766.
67. Korber B., Fischer W.M., Gnanakaran S., et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus // *Cell*.–2020.– Vol. 182, No. 4.– P.812–827.

Савин А.О., Клинушкина Е.Ф., Опарина Н.В., Чукурина Ю.Ю., Митина Т.А., Голенков А.К.

Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф.Владимирского

ОСТРЫЙ ЛЕЙКОЗ ИЗ ПЛАЗМОЦИТОИДНЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК (ОПИСАНИЕ РЕДКОГО КЛИНИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ)

Savin A.O., Klinushkina E.F., Oparina N.V., Chuksina Yu.Yu., Mitina T.A., Golenkov A.K.

Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow

ACUTE LEUKEMIA FROM PLASMACYTOID DENDRITIC CELLS (DESCRIPTION OF A RARE CLINICAL OBSERVATION)

Резюме. Описанное наблюдение представляет собой редкую форму острого лейкоза из плазмацитоидных дендритных клеток. Особенностью данного случая является трудность иммунофенотипической диагностики, выраженные цитогенетические нарушения, отсутствие поражения кожи, что отличает представленное наблюдение от описаний данной формы лейкоза другими авторами. Отличительной особенностью является также длительная фаза миелодисплазии, предшествующая типичная картина острого лейкоза и прогрессирующее течение заболевания, резистентное к стандартным программам лечения острого лейкоза.

Ключевые слова. Острый лейкоз, дендритная клетка, иммунофенотипирование, химиотерапия, цитогенетика

Abstract. The described observation is a rare acute leukemia from plasmacytoid dendritic cells. The peculiarity of this case is the difficulty of immunophenotypic diagnostics, pronounced cytogenetic disorders, the absence of the presented observation of this leukemia by other authors. A distinctive feature is also a prolonged phase of myelodysplasia, a previous typical picture of acute leukemia and a progressive course of diseases that is resistant to standard treatment programs for acute leukemia.

Keywords. Acute leukemia, dendritic cell, immunophenotyping, chemotherapy, cytogenetics

Введение. Острый лейкоз из плазмацитоидных дендритных клеток (ОЛПДК) является редкой формой острого лейкоза (ОЛ). За период наблюдения в течение пяти лет, по данным нашей клиники, среди 180 случаев ОЛ, вариант ОЛПДК диагностирован у 2 больных (1,1%). Эта форма лейкоза включена в классификацию ВОЗ [1].

Согласно современным представлениям, касающихся основ кроветворения [2], плазмацитоидная дендритная клетка (ПДК) происходит из общего лимфоидного предшественника отдела стволовых клеток (СК) под влиянием интерлейкинов 1,3,4,7, фактора некроза опухоли- α и FLT-3 лиганда. Другой тип ДК возникает из миелоидного отдела СК из предшественника макрофагов под влиянием фактора некроза опухоли- α , GmCSF, интерлейкина 4.

ДК выполняют важную функцию в организме человека, являясь одновременно элементами врожденного и адаптивного иммунитета. Функция врожденного иммунитета обеспечивает защиту от патогенов за счет продукции цитокинов, таких как интерлейкин-12, интерферон I типа, активирование других лимфоцитов, таких как NK, NKT, $\gamma\delta$ T-клетки. Врожденный ответ инициируется через распознающий шаблонный рецептор, который идентифицирует эволюционно-стабильную антигенную детерминанту микробов, паразитов и вирусов [2]. Он также может активироваться при повреждении тканей и опухолевыми клетками.

Активированные ДК после взаимодействия с NK также принимают участие в реакциях адаптивного иммунитета в процессе презентации антигенов на T-лимфоцитах. Учитывая важную функцию ДК в реакциях врожденного и адаптивного иммунитета, высокую цитокиновую активность, их опухолевое перерождение с образованием бластов, как правило, сопровождается тяжелым клиническим течением.

В связи с редкостью ОЛПДК, описание новых случаев этого заболевания, в дополнение к имеющимся [4], представляет большой интерес, так как дает возможность расширить наши представления о вариантах клинического течения, особенностях иммунофенотипической, цитогенетической диагностики и выборе оптимального лечения.

Клинический случай. Пациент А., 65 лет, находился в ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф.Владимирского с 11.10.2021г. по 15.10.2021г. с диагнозом: острый лейкоз из плазмацитоидных дендритных клеток

Жалобы при поступлении на выраженную слабость, головкружение, оссалгии.

Из анамнеза: при плановом обследовании в гемограмме 2017г. впервые выявлена лейкопения $2,6 \times 10^9/\text{л}$. В июне 2018 г. лечение по поводу рака предстательной железы T2N0M0 (дистальная лучевая терапия (суммарная очаговая доза 54 Гр) + гормональная терапия по схеме максимальной андрогенной блокады). В гемограмме от 03.06.2019 г.: гемоглобин 141 г/л, эритроциты $4,74 \times 10^{12}/\text{л}$, тромбоциты $185 \times 10^9/\text{л}$, лейкоциты $2,3 \times 10^9/\text{л}$, палочкоядерные нейтрофилы 2%, сегментоядерные нейтрофилы 22%, эозинофилы 1%, моноциты 5%, лимфоциты 70%, СОЭ 7 мм/час.

10.06.2019 г. консультирован гематологом КДЦ МОНКИ, установлен диагноз лейкопения, рекомендован контроль общего анализа крови с подсчетом лейкоцитарной формулы и тромбоцитов 1 раз в 1-3 месяца, при прогрессировании лейкопении менее $2,0 \times 10^9/\text{л}$ - проведение стерильной пункции для исключения миелодисплазии. При динамическом наблюдении уровень лейкоцитов периферической крови составлял $2,3-2,5 \times 10^9/\text{л}$.

Контроль гемограммы в динамике от 16.04.2021г.: гемоглобин 128 г/л, эритроциты $4,37 \times 10^{12}/\text{л}$, тромбоциты $148 \times 10^9/\text{л}$, лейкоциты $1,9 \times 10^9/\text{л}$, абсолютное число нейтрофилов $0,2 \times 10^9/\text{л}$.

13.05.2021 г. повторно консультирован гематологом КДЦ МОНКИ, рекомендовано проведение стерильной пункции.

Цитологическое исследование аспирата костного мозга от 03.06.2021г.: исследование пунктата костного мозга из грудины показало умеренную клеточность с метаплазией бластными клетками (71,4%). Бласты преимущественно средних поколений, в основном правильные по форме, морфологически полиморфные с нежосетчатым строением ядерного хроматина, наличием 1-2 и более разнокалиберных нуклеол. В части бластов ядра с более плотной и грубой структурой хроматина. Цитоплазма небольшой и умеренной величин с присутствием в небольшой части азурофильной зернистости, а в единичных бластах видны палочки Ауэра. Азурофильная зернистость в части бластов сливается и образует более крупные блоки в виде телец. Нормальные ростки кроветворения сужены. Эритропоэз нормобластический. Встречаются единичные макрофаги.

Установлен диагноз острого лейкоза, 08.06.2021 г. Пациент госпитализирован в отделение клинической гематологии и иммуно-терапии МОНКИ.

Объективный статус: Общее состояние средней тяжести. ЕСОГ

3. Сознание ясное. Кожные покровы и видимые слизистые бледноваты. Высыпаний, геморрагий, отеков нет. Температура тела на момент осмотра в пределах нормальных значений. При пальпации периферической лимфаденопатии нет. ЧДД 17 в 1 минуту. При аускультации дыхание везикулярное, с жестким оттенком, хрипов нет. ЧСС 68. АД 115/78 мм. рт. ст. PS 68. Язык влажный, чистый. Гиперплазия десен. Живот мягкий, при пальпации безболезненный. Печень +2 см от края реберной дуги, селезенка +3 см от края реберной дуги. Физиологические отправления без особенностей. Очаговой неврологической симптоматики нет.

При обследовании:

Гемограмма от 08.06.2021г.: гемоглобин 105 г/л, эритроциты $3,48 \times 10^{12}$ /л, тромбоциты 146×10^9 /л, лейкоциты $1,5 \times 10^9$ /л, бласты 16%, палочкоядерные нейтрофилы 1%, сегментоядерные нейтрофилы 20%, моноциты 15%, лимфоциты 48%, СОЭ 13 мм/час.

Цитологическое исследование аспирата костного мозга от 08.06.2021г.: Пунктат костного мозга из грудины небольшой клеточности с бластной метаплазией (44,8%) и лимфоцитозом (35,2%). Бласты небольших и средних генераций, правильной округлой формы, морфологически полиморфные с огрублением ядерного хроматина с едва заметными нуклеолами. Цитоплазма узкая с наличием в части из них гранул розового цвета. Эритропоэз нормобластический. Мегакарициты не обнаружены.

Цитохимическое исследование бластов костного мозга от 08.06.2021г.: миелопероксидаза положительная в 7%, гликоген диффузный положительный в 60%, диффузно-гранулярный в 33%

Иммунофенотипическое исследование бластов костного мозга от 08.06.2021г.: при иммунофенотипировании клеток костного мозга выявляется бластная популяция с гетерогенной экспрессией CD45, составляющая 65,75% от всех ядродержащих клеток с фенотипом: CD34-, TdT-, HLA-DR+, CD38-, CD10-, MPO+, CD13-, CD33+, CD117+, CD15-, CD65-, CD64-, CD14-, CD4-, CD56+, CD5-, CD7-, CD19-, cytCD22+, CD79a+, CD11c-, CD11b-. Данный иммунофенотип может соответствовать острому миелобластному лейкозу с созреванием (M2). Выявлена aberrантная экспрессия антигенов CD56, cytCD22, CD79a. Экспрессия некоторых маркеров В-клеточной линии может свидетельствовать о дополнительной поломке в гене PAX5.

В биохимическом анализе крови от 08.06.2021г. отмечено повышение уровня железа до $38,2 \text{ мкмоль/л}$ (норма $10,2\text{-}28,6 \text{ мкмоль/л}$). Коагулограмма крови, общий анализ мочи от 08.06.2021 г. без патологических отклонений. Серологические RW/ВИЧ/НВsAg, anti-HCV негативны от 08.06.2021г.

Качественное определение мутаций FLT3 ITD/TKD от

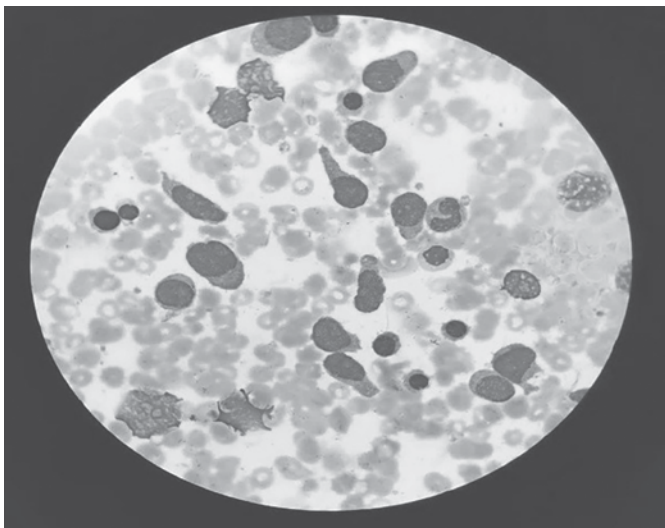


Рисунок 1. Бластные клетки преимущественно крупных размеров, с умеренным и высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, 1-2 нечеткими нуклеолами, базофильной цитоплазмой, агранулярные. Большая часть бластных клеток с большими цитоплазматическими выростами, встречаются многоядерные бластные клетки.

21.06.2021г.: мутации не обнаружены

08.06.2021г. верифицирован диагноз: острый миелобластный лейкоз (M2 по ФАБ), впервые выявленный. Диагноз сопутствующий: Рак предстательной железы T2N0M0 (дистальная лучевая терапия (суммарная очаговая доза 54Гр) + гормональная терапия по схеме максимальной андрогенной блокады). Неалкогольная жировая болезнь печени, стеатоз. Цереброваскулярное заболевание 2Б стадии на фоне атеросклероза магистральных артерий головы, правосторонняя пирамидная недостаточность, вестибуло-атактический синдром, синдром гидроцефалии, субкомпенсация. Хронический гастрит. Язвенная болезнь желудка, вне обострения.

С 08.06.2021г. по 14.06.2021г. проведен 1-й индукционный курс химиотерапии по схеме "7+3" (цитарабин 100 мг №7, доксорубин 80 мг). Дозы цитостатиков редуцированы в связи с коморбидностью. В гемограмме при выписке 01.07.2021г.: гемоглобин 89 г/л, эритроциты $2,96 \times 10^{12}$ /л, тромбоциты 444×10^9 /л, лейкоциты $0,5 \times 10^9$ /л, палочкоядерные нейтрофилы 1%, сегментоядерные нейтрофилы 40%, моноциты 6%, лимфоциты 38%, СОЭ 26 мм/час.

13.07.2021г. пациент повторно госпитализирован в отделение клинической гематологии и иммунотерапии МОНКИ для продолжения специфической терапии.

При обследовании:

Гемограмма от 13.07.2021г.: гемоглобин 99 г/л, эритроциты $3,37 \times 10^{12}$ /л, тромбоциты 184×10^9 /л, лейкоциты $1,2 \times 10^9$ /л, палочкоядерные нейтрофилы 3%, сегментоядерные нейтрофилы 42%, моноциты 13%, эозинофилы 1%, лимфоциты 41%, СОЭ 66 мм/час.

Цитологическое исследование аспирата костного мозга от 15.07.2021г.: пунктат костного мозга умеренной клеточности с бластной метаплазией (18,2%) и расширением эритроидного ростка (57,2%). Бластные клетки крупных и средних размеров, морфологически полиморфные, правильной округло-овальной формы с нежным строением ядерного хроматина, наличием 1-2 и более разнокалиберных нуклеол. Цитоплазма от небольшой и умеренной до широкой величин с присутствием в небольшой части из них азурофильной зернистости, а в единичных палочки Ауэра. Эритропоэз нормобластический, с чертами мегалобластности. Мегакарициты 7-5-6-3 и свободно лежащие группы тромбоцитов.

С 13.07.2021г. по 15.07.2021г. проведен 2-й индукционный курс химиотерапии по схеме "7+3" (цитарабин 100 мг №3, доксорубин 20 мг). Количество введений и дозы цитостатиков редуцированы в связи с нейтропенией 4 степени (в гемограмме от 16.07.2021г. абсолютное число нейтрофилов 0,02).

09.08.2021г. пациент планово госпитализирован в отделение клинической гематологии и иммунотерапии МОНКИ для проведения третьего курса химиотерапии.

Гемограмма от 10.08.2021г.: гемоглобин 126 г/л, эритроциты $4,3 \times 10^{12}$ /л, тромбоциты 92×10^9 /л, лейкоциты $1,9 \times 10^9$ /л, бласты 6%, метамиелоциты 0,5%, палочкоядерные нейтрофилы 2%, сегментоядерные нейтрофилы 51%, моноциты 12,5%, лимфоциты 28%, СОЭ 80 мм/час.

Цитологическое исследование аспирата костного мозга от 10.08.2021 г.: пунктат костного мозга из аспирата грудины для исследования достаточно большой клеточности с бластной метаплазией (54,6 %) и расширением эритроидного ростка (30%). Бластные клетки крупных и средних размеров, морфологически полиморфные, в основном правильной формы с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. Ядра бластов нежной структурой хроматина с наличием 1-2-3 и более разнокалиберных нуклеол. Цитоплазма небольшой и умеренной величин с присутствием в некоторых бластов азурофильной зернистости, а в единичных видны палочки Ауэра. Эритропоэз нормобластический. Мегакарициты 59-43-51 и свободно лежащие группы тромбоцитов.

С 10.08.2021г. по 16.08.2021г. проведен 3-й индукционный курс химиотерапии по схеме "7+3" (цитарабин 100 мг №7, доксорубин 90 мг).

В межкурсовом промежутке пациент консультирован в НМИЦ Гематологии, где при обследовании выявлено:

Цитологическое исследование аспирата костного мозга от 06.09.2021г.: пунктат костного мозга гиперклеточный. Инфильтрация костного мозга бластными клетками 50,2%. Бластные

клетки преимущественно крупных размеров, с умеренным и высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, 1-2 нечеткими нуклеолами, базофильной цитоплазмой, агранулярные. Большая часть бластных клеток с большими цитоплазматическими выростами, встречаются многоядерные бластные клетки. Гранулоцитарный росток сужен 16,8%. Эритроидный росток расширен 31,4%. Признаки дисплазии в гранулоцитарном, эритроидном и мегакариоцитарном ростках менее 50%. Среди мегакариоцитов встречаются единичные одноядерные формы.

Иммунофенотипическое исследование бластов костного мозга от 06.09.2021г.: фенотип бластной популяции: CD45+, HLA-Drbright+, NG2+, CD38+, CD33+, CD36+, CD71+, CD10+, CD20+, CyCD79a+, CD4+, CD56+, CD123bright+. Заключение: иммунофенотип опухолевой популяции соответствует бластным плазмацитоидным дендритным клеткам с коэкспрессией NG2, iCD79a, CD20, CD10, CD33.

По результатам проведенного дообследования произведен пересмотр диагноза и верифицирован диагноз: острый лейкоз из плазмацитоидных дендритных клеток.

При плановой госпитализации в сентябре 2021г.:

Гемограмма от 16.09.2021г.: гемоглобин 128 г/л, эритроциты $4,14 \times 10^{12}$ /л, тромбоциты 41×10^9 /л, лейкоциты $9,15 \times 10^9$ /л, бласты 58,5%, миелоциты 2%, метамиелоциты 0,5%, палочкоядерные нейтрофилы 2,5%, сегментоядерные нейтрофилы 24%, моноциты 3%, эозинофилы 1%, лимфоциты 8,5%, СОЭ 66 мм/час. В биохимическом анализе крови от 16.09.2021г. отмечено повышение уровня лактатдегидрогеназы до 1631 ед/л (норма 110-210 ед/л), С-реактивного белка до 116,71 мг/л (0-5 мг/л). В коагулограмме от 16.09.2021г. отмечена гиперфибриногенемия до 7,84 г/л (2,8-4,7 г/л).

С 16.09.2021г. по 20.09.2021г. проведен 4-й курс химиотерапии по схеме децитабин+цитарабин (децитабин 35 мг №5, цитарабин 200 мг №3).

В гемограмме на момент выписки от 28.09.2021г.: гемоглобин 86 г/л, эритроциты $2,89 \times 10^{12}$ /л, тромбоциты 29×10^9 /л, лейкоциты $1,11 \times 10^9$ /л, бласты 42%, миелоциты 1%, палочкоядерные нейтрофилы 4%, сегментоядерные нейтрофилы 40%, эозинофилы 1%, лимфоциты 12%, СОЭ 75 мм/час.

При плановой госпитализации в октябре 2021г. объективно отмечалось нарастание гепатоспленомегалии (пальпаторно печень +4см, селезенка +5 см от края реберной дуги).

В гемограмме от 11.10.2021г.: гемоглобин 87 г/л, эритроциты $3,09 \times 10^{12}$ /л, тромбоциты 11×10^9 /л, лейкоциты $23,4 \times 10^9$ /л, бласты 88%, миелоциты 1%, сегментоядерные нейтрофилы 1%, эозинофилы 0,5%, лимфоциты 9,5%, СОЭ 57 мм/час. В биохимическом анализе крови от 11.10.2021г. отмечено повышение уровня лактатдегидрогеназы до 2355 ед/л (110-210 ед/л), С-реактивного белка до 126,55 мг/л (0-5 мг/л). В коагулограмме от 11.10.2021г. отмечена гиперфибриногенемия до 7,14 г/л (2,8-4,7 г/л).

В дополнение к проведенному обследованию выполнено стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ) периферической крови №13421/2021 от 08.11.2021г.: СЦИ выполняли на клетках периферической крови в соответствии с общепринятым протоколом. Для визуализации бэндинга хромосом использовали GTG-метод дифференциального окрашивания. Анализировали 20 метафазных пластинок. Для визуализации метафазных GTG-окрашенных хромосом использовали микроскоп Nikon Eclipse Ci (Nikon Corporation, Япония) с программным обеспечением ВидеоТестКарио 3.1 (Видеотест, Россия). Результаты исследований записаны в соответствии с Международной цитогеномной номенклатурой. Резуль-

таты: 44~48, XY, -2, del(3). (q11.2), -7, der(17), -18, -21, -22, +2mar, inc[cp13]/46,XY[7]. При СЦИ выявлен околодиплоидный клон клеток с множественными комплексными численными и структурными перестройками хромосом, включая моносомии по хромосомам 2,7,18,21,22, делецию длинного плеча хромосомы 3, морфологически измененную хромосому 17, а также два малых, неидентифицируемых хромосомных маркера.

С 11.10.2021г. по 15.10.2021г. проводился 5-й курс химиотерапии по схеме децитабин+цитарабин (децитабин 35 мг №4, цитарабин 100 мг №4) без гематологического и клинического улучшения. В связи со сложной эпидемиологической обстановкой пациент выписан 15.10.2021г. При выписке рекомендован прием гидроксикарбамида под контролем общего анализа крови.

Заключение. Представлено наблюдение редкого случая ОЛПДК с акцентом на клинические проявления болезни, цитоморфологическую, иммунофенотипическую, цитогенетическую диагностику. По клинической картине заболевание характеризовалось как ОЛ, развившийся из миелодиспластического синдрома, по типу односторонней цитопении в течение 44 месяцев [5].

Трудность диагностики заключалась в интерпретации данных иммунофенотипического исследования костного мозга, которое включало трактование как острый миелобластный лейкоз с коэкспрессией лимфоидных антигенов. При повторном иммунофенотипическом исследовании костного мозга с использованием дополнительных диагностических моноклональных антител, выявлен ключевой признак дендритных бластов, которым является яркая экспрессия CD123.

Согласно данным литературы [4], иммунофенотипическая картина ОЛПДК характеризуется экспрессией CD45, CD56, CD123 и другими антигенами без наличия линейных антигенов лимфоидного, миелоидного и макрофагального типов. Иммунофенотипическая диагностика в представленном случае характеризуется наличием ключевых признаков с наличием коэкспрессии В-клеточных и миелоидных маркеров. При цитогенетическом исследовании выявлен околодиплоидный клон клеток с множественными комплексными численными и структурными перестройками хромосом.

В клинической картине не были представлены симптомы кожной патологии, которые описывают при этом типе лейкоза. Болезнь характеризовалась тяжелым клиническим течением от момента диагностики ОЛ до выхода из-под наблюдения. Проводимое лечение антрациклинами+Ага-С и в дальнейшем дакогеном не оказали клинического эффекта, по-видимому, по двум причинам: 1) сниженные дозировки противоопухолевых препаратов, связанные с тяжелой коморбидностью 2) возможная резистентность плазмацитоидных дендритных бластов к применяемым противоопухолевым препаратам.

Конфликты интересов отсутствует

Источник финансирования: Исследование не имело источника финансирования

Вклад авторов

Концепция и дизайн: все авторы

Сбор и обработка данных: все авторы

Предоставление материалов исследования: все авторы

Анализ и интерпретация: все авторы

Подготовка рукописи: все авторы

Окончательное одобрение рукописи: все авторы

ЛИТЕРАТУРА

1. Facchetti F., Jones D.M., Petrella T. Blastic plasmacytoid dendritic cells neoplasm. In: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. et al., eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th Edition. International Agency for Research on Cancer// Lyon. – 2008. – Vol. 2. - P. 145-147
2. Kondo M., Wagers A.J., Manz M.G. et al. Biology of hematopoietic stem cells and progenitors: implications for clinical application// Annu Rev Immunol. – 2003. - Vol. 21. – P. 759
3. Beutler B.A., TLRs and innate immunity// Blood. – 2009. – Vol. 113. – P. 1399-1407.
4. Kopecki J., Benedek E., Kákucs E. et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasia – a rare type of acute leukemia // Revista Română de Medicină de Laborator. – 2014. – Vol. 22, N.1.
5. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Современная терапия больных неходжкинскими лимфомами // Вестник гематологии – 2006 – Т.2. №1- с.10-21.

Виноградова Ю.Н., Ильин Н.В.

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» МЗ РФ
Санкт-Петербург

ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ ЛИМФОМ (ЛЕКЦИЯ) ЧАСТЬ 1

Резюме. Лучевая терапия – исторически первый излечивающий нехирургический подход к лечению больных лимфомами. В связи с развитием химиотерапии, таргетной и иммунотерапии ранее лидирующая роль лучевой терапии изменилась; она стала частью мультимодального подхода, но в ряде клинических ситуаций может эффективно применяться в качестве единственного метода лечения. Новые технологии способствуют большей конформности, ограничению размеров полей и уменьшению суммарных очаговых доз. Кроме того, ПЭТ стала, возможно, наи-

более важным методом визуализации при лимфомах. Основная цель лекции – показать пути оптимизации лучевой терапии нодальных и экстранодальных лимфом и ее место в конкретных клинических ситуациях в условиях совершенствования радиотерапевтических технологий. Лекция предназначена для гематологов, онкологов, радиотерапевтов практических онкологических и гематологических учреждений.

Ключевые слова: лимфомы, лучевая терапия

Vinogradova Y.N., Ilyin N.V.

A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies

RADIOTHERAPY FOR LYMPHOMAS

Abstract. Radiotherapy was the first curative treatment modality for the lymphomas and represented some of the earliest success stories of the non-surgical treatment of cancer. With the advent of effective multiagent chemotherapy regimens, the role of radiotherapy changed. Radiotherapy now became part of multimodality treatment, but sometimes radiotherapy remains the most effective single modality for the treatment. New techniques allow highly conformal radiotherapy, sparing large volumes of normal tissues while maintaining target coverage. Besides, PET scanning has become established as perhaps the most important imaging study for lymphoma patients. The main goal of this lecture is to optimize radiotherapy for lymphomas (nodal and extranodal) by providing clinicians who treat patients with this disease with a

comprehensive account of the background for radiotherapy for lymphomas, the rationale for radiotherapy in a modern combined modality setting and the data that document its contribution to the best outcome for patients. Special emphasis is given to the changes in volume and dose that have evolved over the past 2 decades, and the use of modern advanced technologies in imaging and radiotherapy planning and delivery in order to accurately target involved sites and protect adjacent organs.

This lecture is intended for senior trainees and fellows in hematology, oncology and radiotherapy, together with a more experienced practitioners, who regularly treat the lymphoma patients.

Key words: lymphomas, radiotherapy

История лучевой терапии лимфом. 8 ноября 1895 г. в университетской лаборатории города Вюрцбурга (Германия) 50-летний немецкий физик В. К. Рентген (рис. 1) открыл излучение, названное им X-лучами.

В декабре 1895 г. он впервые опубликовал короткое сообщение об этом открытии, которое в 1901 г. было отмечено Нобелевской премией по физике. С появлением рентгеновских лучей впервые появилась возможность увидеть органы живого человека как в норме, так и в патологии. Кроме возможностей визуализации в начале XX века одновременно изучались биологические эффекты новых лучей и они, в частности, стали немедленно использоваться в дерматологии и лечении поверхностных кожных новообразований. В Чикаго (США) в 1902 г. профессор W. A. Pusey впервые продемонстрировал выраженный положительный эффект на опухолевые лимфатические узлы шеи слева X-лучей у 4-летнего мальчика с болезнью Ходжкина (рис. 2 и рис. 3).

Подобный эффект наблюдал и профессор Senn, также из Чикаго, проведя облучение периферических лимфатических узлов у 44-летнего пациента с болезнью Ходжкина, получившего 34 сеанса по 1 минуте каждый (рис. 4 и рис. 5).

В последующие ближайшие годы лучевая терапия твердо утвердила свои позиции в качестве эффективного паллиативного лечения лимфопролиферативных заболеваний. Последующие технологические достижения начала XX века позволили облучать все большие объемы тканей, в том числе и в глубину от поверхности. Rene Gibert (Женева, Швейцария) впервые понял необходимость и начал облучение не только опухолевого лимфатического узла, но и всего лимфатического региона (Gilbert, 1925; Gilbert and Babaintz, 1931), что позволило впервые излечивать больных и достигать ремиссии при локализованных опу-

холях. В 1938 г. профессор З.А. Манкин (Ленинград, СССР) издал первую в мире монографию «Лимфогранулематоз», в которой суммировал сведения о морфологическом, клиническом течении, лучевом и симптоматическом лечении этого заболевания. В 1940 г. С. Cralt (Майями, США) провел лучевую терапию 179 больным болезнью Ходжкина, из которых 44% были живы более 3 лет, 10% – более 10 лет. В 1950 г. Vera Peters (Торонто, Канада) впервые продемонстрировала возможность излечения болезни Ходжкина путем введения профилактического облучения непораженных соседних регионов малыми дозами (400-800 R), и, напротив – пораженных участков – высокими (1800-5000R) дозами; достигнута 10-летняя выживаемость больных I стадии – 78%, II



Рисунок 1. Wilhelm Conrad Röntgen (1845-1923 гг.). Нобелевская премия по физике (1901 г.)



Рисунок 2. 11 сентября 1901 г. до лучевой терапии.



Рисунок 3. 8 января 1902 г. после лучевой терапии

стадии – 21%; при генерализованных стадиях – 0% (рис. 6).

Это свидетельствовало о необходимости системной противоопухолевой терапии, которой тогда еще не было; указанные результаты были достигнуты только благодаря киловольтной лучевой терапии.

Разработка и применение линейных ускорителей электронов (ЛУЭ), начатая в Стенфорде (США) Н. Kaplan в 1956 г., позволила согласно анатомическим регионам (рис. 7) внедрить при болезни Ходжкина крупнопольное облучение в высоких (30-40 Гр) дозах на необходимую глубину всех основных лимфатических регионов и зон субклинического распространения с защитой жизненно важных органов. Лечение с помощью расширенных полей позволило одновременно облучать многие, разные по глубине залегания лимфатические узлы и органы, сократило сроки облучения по сравнению с последовательным облучением лимфатических регионов, количество укладок за сеанс, упростило задачу стыковки полей. Появились новые термины: total lymphoid irradiation (тотальное лимфоидное облучение) и subtotal lymphoid irradiation (субтотальное лимфоидное облучение). Первый объем подразумевает полное верхнее «мантиевидное» поле с включением шейных, над-подключичных лимфатических узлов и средостения и нижнее У-инвертированное поле с включением селезенки, парааортальных и подвздошно-паховых лимфатических узлов; второй объем – тот же, но исключая подвздошно-паховые

лимфатические узлы (Rosenberg, Kaplan, 1970).

В 1962 г. были опубликованы первые результаты исследования этой методики при локализованной болезни Ходжкина (Kaplan, 1962), которые были значительно лучше предыдущих по выживаемости больных.

Тотальное и субтотальное облучение лимфатических коллекторов на ЛУЭ стало с 1960-70 гг. прошлого века стандартом лечения ранних стадий по обе стороны Атлантики. В СССР в 70-х годах этот метод был внедрен в Центральном научно-исследовательском рентгенорадиологическом институте (ЦНИРРИ, г. Ленинград) профессорами Л.П. Симбирцевой и В. Виноградовым (Симбирцева Л.П. и соавт., 1975; Ватницкий К.М., Сеницын Р.В., 1974). Впервые в СССР советские исследователи Л.П. Симбирцева и В.М. Виноградов в условиях только зарождающейся полихимиотерапии (ПХТ) и на основе методик крупнопольного облучения создали на ЛУЭ метод системной лучевой терапии – субтотальное облучение тела по 1-2 Гр до 4-6 Гр с границами от основания черепа до верхней трети бедра и головок плечевых костей. Эта методика предполагает облучение с 4-х противоположных прямоугольных полей при фиксированном расстоянии источник-стол, соответствующее геометрическим условиям при крупнопольном облучении лимфатических коллекторов (Виноградов В.М., 1985). В дальнейшем был накоплен опыт клиники ЦНИРРИ, который продемонстрировал непосредственную эф-



Рисунок 4. 11 февраля 1902 г. до лучевой терапии.

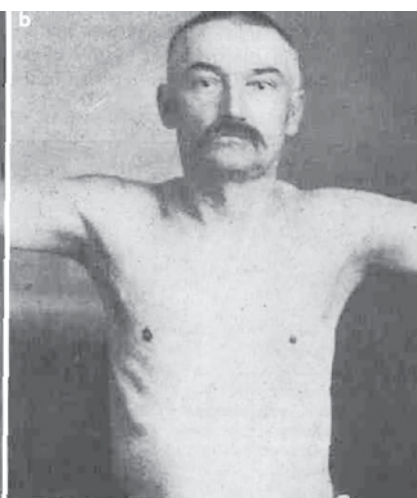


Рисунок 5. 24 апреля 1902 г. после лучевой терапии

фективность системной лучевой терапии (Корытова Л.И., Ильин Н.В. 1986; Гуменецкая Ю.В., 1999; Акимов А.А., 2000). Необходимо вспомнить, что попытки общего облучения тела, предпринятые в СССР в первой половине XX века для лечения больных с запущенным опухолевым процессом, казались обнадеживающими (Манкин З.И., 1938; Гольдштейн Н.М., 1941). Однако, из-за отсутствия мегавольтных источников излучения, пригодных для формирования крупных полей облучения, эти идеи не получили всеобщего признания в то время. Кроме того, ПХТ вообще отодвинула развитие этого метода на длительный срок. Возросший интерес к субтотальному облучению тела, как эквивалента ПХТ, был связан, кроме других причин, с обозначившимися границами эффективности ПХТ и отсутствием перекрестной резистентности между этими методами.

С середины XX века развитие химиотерапии привело к изучению комбинированного лечения болезни Ходжкина. Во-первых, профессор М. Tubiana (Париж, Франция) в исследовании EORTC показал повышение безрецидивной выживаемости при подключении к лучевому лечению монохимиотерапии винбластином (Tubiana, 1979) при I-II стадии заболевания, далее эти результаты были подтверждены в Стенфорде (Norpe et al., 1985) и позже в других центрах (Specht, 1998); при этом общая выживаемость в отличие от безрецидивной, не повышалась, но появилась возможность сократить поля облучения до только пораженных регионов (Yahalom, Mauch, 2002). С развитием новых методов визуализации и конформной лучевой терапии стали возможными очень небольшие объемы облучения, включая облучение только пораженных лимфатических узлов (involved node radiotherapy, INRT) и пораженных мест (involved site radiotherapy, ISRT) – Girinsky, 2006; Specht et al., 2013; Specht, Yahalom, 2015). Таким образом, сегодня лучевая терапия как часть мультимодального подхода в лечении лимфом с облучением значительно меньших объемов тканей, чем ранее, должна привести к выраженной редукции риска серьезных поздних осложнений с сохранением высокого противоопухолевого контроля.

Развитие технологий фотонной лучевой терапии лимфом. В середине XX века лучевая терапия по радикальной программе, т.е. подведение 36-40 Гр за 4 недели как к очагам поражения, так и к зонам субклинического распространения болезни с использованием мегавольтных источников излучения и применением или последовательного облучения небольшими полями (Байсоголов Г.Д. и соавт., 1972), или позднее более удобного крупнопольного мантиевидного или Y-инвертируемого облучения, стало ведущим и реальным излечивающим методом (Kaplan, 1962, 1980, 1982; Симбирцева Л.П. и соавт. 1979). Однако, в последующие годы и десятилетия, прежде всего у больных лимфомой Ходжкина (ЛХ) в связи со значительным увеличением продолжительности жизни, стали чаще проявляться серьезные отдаленные последствия у излеченных пациентов, приводящие к инвалидности и даже смерти: вторые опухоли, кардиоваскулярные, легочные, инфекционные осложнения, гормональные нарушения. В 2002 г. была предложена концепция облучения первично пораженных регионов (involved field radiation therapy, IFRT), по которой объем облучения здоровых тканей значительно меньше, чем при крупнопольном облучении. Вместо множества мелких анатомических зон были предложены 9 регионов облучения в условиях 2D-планирования. Пораженная область (зона) включает в себя один или более анатомических регионов (пораженных и смежных), функционально связанных друг с другом: шея (с одной стороны), средостение, включая лимфатические узлы ворот легких с обеих сторон, подмышечный регион (с одной стороны), включая над- и подключичные лимфатические узлы; селезенка, парааортальные лимфатические узлы с обеих сторон, подвздошные лимфатические узлы (с одной стороны), включая бедренные и паховые. Всего 9 регионов: шея (2) + средостение (1) + подмышечные (2) + селезенка (1) + парааортальные (1) + подвздошные, бедренные, паховые (2) со следующими границами:

Шея (одна сторона)

Поражение любого шейного лимфатического узла с или без



Рисунок 6. Доктор Vera Peters, Торонто, Канада

поражения над-, подключичных лимфатических узлов. Поражение над-, подключичных лимфатических узлов без шейных. Руки приведены или в стороны.

Верхняя граница – 1-2см выше конца pr. mastoideus

Нижняя граница – 2см ниже нижнего края ключицы.

Латеральная граница – включает границу 2/3 ключицы.

Медиальная граница – если надключичные лимфатические узлы не поражены, то граница проходит по поперечным отросткам позвонков с этой стороны, кроме ситуаций, когда шейные медиальные лимфатические узлы близки к середине шеи (по данным КТ); в этих случаях включаются все тела позвонков.

Если надключичные лимфатические узлы поражены, граница проходит по контралатеральным поперечным отросткам позвонков.

Спинальный мозг блокируется сзади только после 40 Гр. Блок на гортань спереди, если здесь нет лимфатических узлов с 20 Гр.

Средостение (можно планировать по КТ после ПХТ, т.к. хорошо виден регресс).

Поражение средостения и (или) лимфатических узлов корня (корней) легкого (легких).

Поля включают и медиальные надключичные лимфатические узлы, даже если нет их поражения. Руки приведены или в стороны;

Верхняя граница – граница между C5 и C6.

Нижняя граница – или 5см ниже карины или 2см ниже первичного поражения (до ПХТ).

Латеральная граница – отступив на 1,5см от края пораженных лимфоузлов после ПХТ. Если паракардиальные лимфатические узлы вовлечены, то все сердце облучается до 14-16Гр, и далее пораженные лимфатические узлы – до 30Гр.

Если средостение + шейные лимфатические узлы с двух сторон – то «мантия» (без подмышечной области).

Селезенка

По КТ, с запасом от края селезенки 1,5см, левая почка должна быть вне поля (блок).

Парааортальный регион

Верхняя граница – верх Th11 или на 2см выше пораженного лимфатического узла до ПХТ.

Нижняя граница – низ L4 или на 2см ниже пораженного лимфатического узла до ПХТ.

Латеральные границы – края поперечных отростков позвонков. Почка должна быть вне поля (блок). Должны быть включены лимфатические узлы ворот печени, если они поражены (КТ).

Пахово-бедренный - подвздошный регион

Верхняя граница – граница между L4 и L5, или на 2см выше пораженных первично лимфатических узлов.

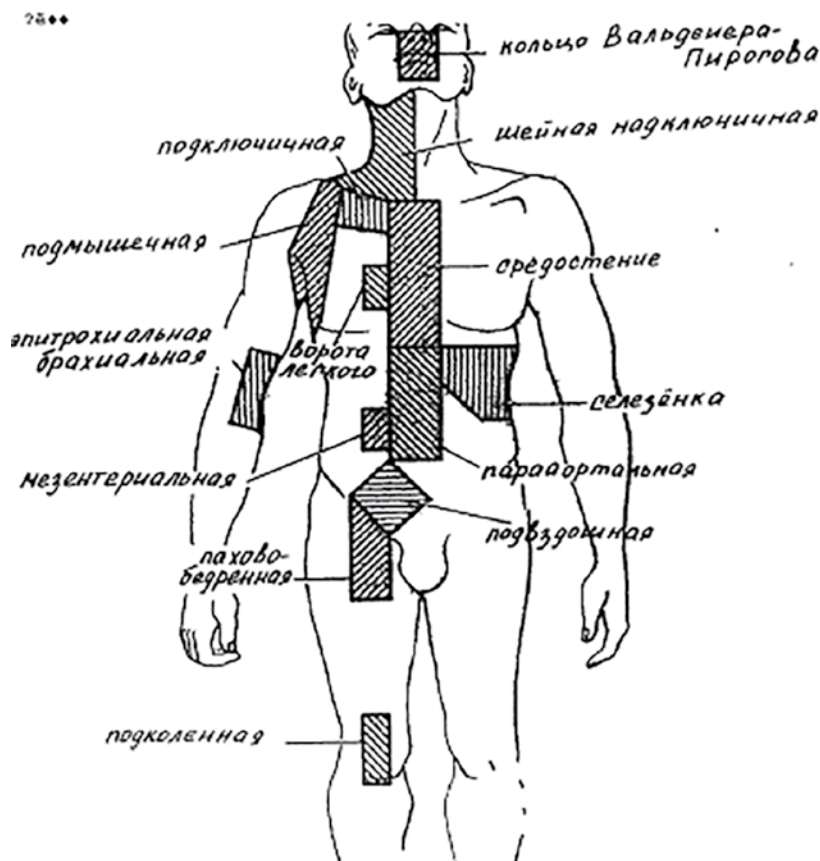


Рисунок 7. Анатомические лимфатические регионы

Нижняя граница – 5см ниже меньшего трохантера (вертела). Латеральная граница – большой трохантер или 2см латерально от первично пораженных лимфатических узлов.

Медиальная граница – медиальная граница запирающего отверстия или, по крайней мере, 2см медиальнее пораженных лимфатических узлов.

Дальнейшие исследования при ЛХ показали сопоставимую противоопухолевую эффективность этой методики с крупнопольным облучением. По результатам HD4 (GHSG) снижение СОД до 30 Гр на области, смежные с пораженными, не снижало эффективность лечения (Duhmke et al., 2001), также как и уменьшение объемов облучения с крупнопольного до IFRT (Ferme et al., 2007; Engert et al., 2003; Bonnadonna et al., 2004). Однако, в условиях 2D-планирования при концепции IFRT все же в объем облучения входит значительная часть непораженных лимфатической тканью, что совершенно излишне при химиолучевом лечении.

С введением в 1964 г. V. De Vita из Национального Онкологического института (США) схемы ПХТ МОРР стали излечиваться и первичные больные III-IV стадии, а также пациенты с рецидивами после крупнопольного облучения (V. De Vita et al., 1970; Horwich et al., 1997). Было показано, что риск возникновения рецидивов значительно уменьшается при использовании химиотерапии до лучевой терапии (Specht et al., 1998). В 1973г. D. G. Bonadonna (Милан, Италия) предложил менее токсичную схему ПХТ ABVD, которая оказалась не менее эффективной (Canellos et al., 1992; Somers et al., 1994). В дальнейшем рандомизированные исследования подтвердили улучшение отдаленных результатов по критериям не только безрецидивной, но и общей выживаемости при химиолучевом лечении по сравнению с только лучевой терапией (Specht, 2003). Эффективность лучевой терапии, как компонента комбинированного лечения, связана с разовой и суммарной очаговой дозой, размером полей, техникой планирования. Кроме того, анализ рецидивов при ранних стадиях ЛХ, леченной только ПХТ, показывает, что они преимущественно

возникают в первичных очагах поражения (Shahidi et al., 2006), которые и должны быть, прежде всего, объектом для ионизирующей радиации. В 2006 г. EORTC/GELA группа (Girinsky et al., 2006) предложила и опубликовала новую концепцию – облучение пораженных лимфатических узлов (involved node radiation therapy, INRT), которая предполагает еще более значительное уменьшение облучаемого объема по сравнению с IFRT путем развития 3D-конформной лучевой терапии с применением программного обеспечения, позволяющего реконструировать данные компьютерной томографии в трехмерное изображение.

Современная лучевая терапия при лимфомах основана на принципах определения объемов (GTV, CTV, PTV), которые установлены Комиссией по радиационным единицам и измерениям (ICRU report 83; De Luca et al., 2010), рис. 8.

GTV - Gross tumor volume, основной опухолевый объем. Отсутствует после полной ремиссии. При определении GTV используются все доступные методы клинической оценки и визуализации, включая позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ) с фтордезоксиглюкозой (18F-ФДГ).

CTV - clinical target volume, клинический объем мишени. Составляет GTV (когда он есть) и отступа с расчетом субклинического (микроскопического) распространения заболевания, которое должно быть излечено. Его размер зависит от биологической характеристики опухоли, возможностей локального рецидива и опыта радиационного онколога.

ITV – internal target volume, внутренний объем мишени определяется как CTV плюс отступ с учетом позиции, размера движущейся мишени. Применяется, в основном, в грудной клетке и верхних отделах живота, связанных с дыханием. Определение ITV – оптимальный путь для проведения 4D КТ-симуляции. В некоторых случаях ITV может быть определено визуально опытным клиницистом. В грудной клетке и верхних отделах живота используется отступ 1,5-2 см в верхне-нижнем направлении. В других местах, например, на шее, положение очагов может не из-

меняться в течение или между сеансами облучения и определения ITV не требуется.

PTV – planning target volume, планируемый объем мишени. Учитывает движения больного и органа. Движения органа могут быть незначительными (головной мозг), большими, но предсказуемыми (легкие при дыхании, работа сердца), или непредсказуемыми (прямая кишка, мочевого пузыря при наполнении, предстательная железа).

Кроме того, иногда используются дополнительные объемы (TrV, IrV, OAR).

TrV - treated volume, лечебный объем в противоопухолевой дозе 80-95%. Врач должен учитывать, как избежать локального рецидива, а с другой стороны – осложнений со стороны нормальных тканей.

IrV - Irradiated volume. Это объем вообще облучаемой ткани с учетом количества пучков, полей; отображает интегральную дозу. Как TrV так и IrV могут быть уменьшены с применением новых методик планирования.

OAR — organ at risk – критически не пораженные ткани (органы риска), которые радиочувствительны и могут значительно влиять на объем планирования и предписанную дозу. Любые

движения органов риска и неопределенность их положения должны учитываться при планировании и должен быть подсчитан объем органа риска, получающего дозу излучения — PRV, planning risk volume, планируемый объем органа риска. В случаях тесной анатомической связи PTV и PRV должно быть принято клиническое решение с учетом противоопухолевого контроля и риска лучевых осложнений. При этом используются гистограммы доза-объем (DVHs) для подсчета дозного распределения в нормальных тканях.

Для определения CTV, PTV и объемов облучения органов риска необходимо 3D-планирование.

Современные сложные методы визуализации, 3D-планирование и конформная доставка излучения открыли новые возможности к безопасной редукции облучаемых объемов. При технологии INRT CTV включает только ткани, содержащие исходно пораженные лимфатические узлы. Размер PTV в различных анатомических зонах может варьировать, но, в основном, отступ 1 см считается достаточным. В таблице 1 представлены типичные отступы при 3D-планировании в концепции INRT и ISRT.

Таблица 1.

Отступы при конформной лучевой терапии при лимфомах (нодальные поражения)

INRT, ISRT	ОТСТУП (мм)	
Облучаемые регионы	GTV-CTV	PTV
Шея, средостение, парааортальные лимфоузлы	20 мм в краниокаудальном измерении; 10 мм в других измерениях	+ 5-10 мм
Ворота легких, общие подвздошные лимфоузлы, над/подключичные лимфоузлы	10 мм в передне- заднем измерении; 20 мм в других измерениях	+ 5-10 мм
Подмышечные, наружные и внутренние подвздошные лимфоузлы, паховые, бедренные лимфоузлы	20 мм во всех направлениях	+ 5-10 мм

В средостении — определяется верхняя и нижняя граница до ПХТ, другие границы — после ПХТ; в остальных регионах — только после ПХТ; при частичной ремиссии в CTV входят только остаточные очаги; при полной ремиссии в CTV входят суммарно все области, где локализовались пораженные лимфоузлы.

Введение INRT и ISRT значительно сокращает облучаемый объем. Несмотря на то, что пока нет рандомизированных исследований по сравнению INRT и IFRT, основные крупные Европейские центры уже используют эту концепцию в рутинной практике вне клинических протоколов.

GTV основан на исходном (до ПХТ) макроскопически видимом объеме заболевания и определяется исходными данными КТ и ПЭТ. Если исходно пораженные лимфатические узлы уже не видны после полного ответа, то CTV определяется по исходному местоположению поражения. Для шеи, средостения и парааортальных л/узлов GTV-CTV отступ – на 20 мм от очага в краниокаудальном и на 10 мм в других измерениях. Для ворот легких, над - подключичных и общих подвздошных л/узлов GTV-CTV отступ – на 10 мм от очага в переднезаднем и 20 мм в других направлениях. Для подмышечных, наружных и внутренних подвздошных, паховых и бедренных л/узлов GTV-CTV отступ на 20 мм от очага во всех направлениях. Эти различные отступы основаны на необходимости исключить последствия нормального смещения анатомических структур при изменении положения тела. При оценке PTV к CTV добавляется к анатомическому расположению очага еще 5-10 мм отступа с учетом ошибки измерений.

Последовательность планирования лучевой терапии, следующая:

1. ПЭТ/КТ перед ПХТ с внутривенным (в/в) контрастированием, больной в лечебной позиции. Если качество ПЭТ/КТ неудовлетворительное, то КТ делают отдельно в той же лечебной позиции. Выполнение КТ с контрастированием крайне необходимо для выявления поражения лимфатических узлов: их трудно оценить без этого, т.к. лимфоузлы могут быть ошибочно

определены как мышцы, кровеносные сосуды или даже полость сердца.

2. КТ после ПХТ делают больному в той же позиции, как и до нее.

3. КТ до и после ПХТ регистрируют и сравнивают (в одинаковых лечебных позициях). Информация об уменьшении объема поражения может быть дополнительным доказательством начального тканевого вовлечения.

Оценка и очерчивание первично пораженных лимфатических узлов.

Пораженный лимфоузел трудно надежно очертить, поэтому используют отступ 1-1,5 см по длиннику лимфатического узла. Однако, это может приводить к ошибкам, т. к., во-первых, изменение лимфатического узла при лимфоме не обязательно ведет к увеличению его размера. Маленькие лимфатические узлы также могут быть поражены; во-вторых, поперечные КТ-сканы менее надежны по критерию размера лимфатического узла, т. к. могут пересекать лимфатические узлы в различных направлениях. Сегодня оценка пораженных лимфатических узлов и очерчивание IN-полей может быть выполнена с большой точностью. Это связано с ПЭТ/КТ сканерами. Однако, ПЭТ может использоваться только в диагностических целях: оконтуривание не предполагает применение ПЭТ по 3 причинам: первое – большие опухолевые массы могут проявлять различную ФДГ-авидность; второе – ФДГ-авидные зоны могут не быть лимфатическими узлами; третье – некоторые пораженные лимфатические узлы имеют низкую ФДГ-авидность.

Асимметрия по КТ лимфатических узлов должна считаться возможным поражением лимфатических узлов. При ПЭТ даже слабая авидность может сигнализировать о вовлечении лимфатических узлов, особенно маленьких (слабый сигнал). На них особенно необходимо обращать внимание при сравнительном анализе ПЭТ/КТ до и после ПХТ. ПЭТ может давать дополнительную информацию. Иногда по КТ до ПХТ трудно высказаться о по-

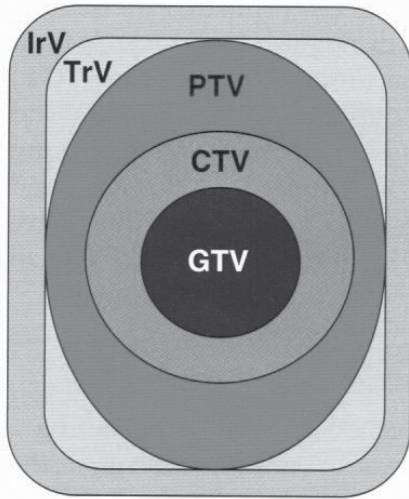


Рисунок 8. Облучаемые объемы

ражении лимфатических узлов, если не было в/в контрастирования. В таких случаях ПЭТ исключительно полезна, т. к. может в 25-36% случаев обнаружить скрытые очаги.

Итак, в большинстве случаев исходные базовые данные КТ подкрепляются данными ПЭТ. Иногда возникают противоречия, и тогда окончательное решение – поражены эти лимфатические узлы или нет – основывается на анализе КТ после ПХТ. Полное исчезновение или частичное уменьшение размера лимфатического узла равносильно его исходному поражению. Несмотря на это, они должны быть включены в INRT-поля.

Контур по исходным КТ сканам наносится на область, где все исходно пораженные лимфатические узлы локализируются. Есть 3 простых причины сделать именно такой контур. Первое – невозможно, утомительно и надо много времени оконтуривать каждые пораженный лимфатический узел. Второе – неблагоприятно допускать, что точная позиция конкретного пораженного лимфатического узла может быть аккуратно воспроизведена на КТ сканах, сделанных через несколько месяцев после ПХТ. Третье – неблагоприятно предполагать, что ионизирующее излучение будет точно доставлено к очерченным лимфатическим узлам при каждой фракции облучения.

При оконтуривании после ПХТ контур, выполненный до ПХТ (исходно), переделывают и наносят согласно нормальным структурам анатомического региона. Нормальные структуры, которые были смещены исходно увеличенными и лимфатическими узлами или опухолевыми массами, не должны включаться в облучаемый объем. Кроме того, когда возможно, должны быть защищены шейные кровеносные сосуды (например, когда исходно пораженные лимфатические узлы были на близком расстоянии от них).

При полной ремиссии после ПХТ должен быть определен CTV. В принципе CTV – это первично пораженный объем каждого лимфатического узла перед ПХТ. С практической точки зрения, как указывалось выше, CTV – это сумма всех пространств, где были исходно локализованы пораженные лимфатические узлы.

PTV – это CTV с отступом, который учитывает движения органа в различных вариациях. В большинстве случаев достаточно 1 см. При поражении средостения длина CTV (по вертикали) – это длина опухолевых медиастинальных масс до ПХТ, а ширина CTV – после ПХТ. В случае полной ремиссии латеральная граница не должна переходить границу нормального средостения. Далее, где возможно, коронарные сосуды и полости сердца должны быть исключены из CTV (например, в случае полной ремиссии или выраженного регресса опухолевых масс, которые изначально прорастали в органы риска).

При частичной ремиссии из прагматических соображений в CTV должен входить GTV начально пораженных лимфатических

узлов, но в состоянии частичного регресса; затем $PTV = CTV + 1\text{см}$. PTV должен включать 95% изодозу. Если этот объем не входит и очаг поражения находится далеко, надо формировать отдельный облучаемый объем. Должны быть портальные изображения всех полей в первые 2 дня лечения и далее еженедельно.

3D-конформная ЛТ опирается на так называемое «перспективное планирование» при создании дозного распределения в момент облучения. План проведения лечения разрабатывается усилиями врача и медицинского физика, при этом определяются количество, направление, вклад и форма пучков излучения. Оценка плана осуществляется с помощью инструментов для 3D-планирования, включая рисунок изодозного распределения в различных плоскостях, а также гистограмму «доза-объем», которая является графическим представлением поглощенной дозы.

Модулированная по интенсивности лучевая терапия (intensity-modulated radiotherapy, IMRT) – следующая технологическая ступень, которая была разработана на основе 3D-планирования. В случае IMRT используются пучки излучения с различной интенсивностью. Карта интенсивности каждого пучка определяется сложным алгоритмом оптимизации по методу «инверсного планирования». Чтобы начать процесс планирования для модулированной по интенсивности лучевой терапии, ответственный за планирование сотрудник определяет количество и направление полей облучения, что, скорее напоминает метод планирования конвенциональной лучевой терапии. Вместо указания вклада и формы каждого пучка, ответственный за планирование вносит в систему данные, отражающие необходимые дозы после того, как врач определил (оконтурил) мишень и нормальные ткани. Специализированное программное обеспечение оптимизирует дозное распределение. Таким образом, программа выдает шаблоны интенсивности излучения для каждого поля, что позволяет получить необходимое дозное распределение. Дозное распределение, созданное за счет модулированной по интенсивности лучевой терапии, является высоко конформным и может содержать несколько участков значительного снижения дозы, которые необходимы для сохранения (защиты) нормальных тканей. Планы для проведения модулированной по интенсивности лучевой терапии характеризуются наличием большого количества полей облучения (обычно от пяти до восьми), что улучшает конформность, а также способствует распределению дозы на больший объем ткани. Испускание пучков нерегулярной интенсивности, которые являются необходимым условием для IMRT, как правило, достигается за счет динамического нерегулярного перемещения листьев мультилепесткового коллиматора (сегментарный тип IMRT или пошаговая методика «step-and-shoot»).

Хотя технология IMRT получила широкое признание в сфере лечения различных злокачественных новообразований, среди которых были опухоли предстательной железы, опухоли головы и шеи, ее использование для лечения лимфом было ограничено по причине необходимости применения больших по объему полей облучения, требующих подведения относительно невысокой дозы. Тем не менее, IMRT при лечении лимфом может иметь значительные преимущества, а в некоторых случаях даже лучше подходит для облучения пораженных зон или лимфоколлекторов. За счет IMRT можно добиться значительного снижения дозы на область сердца и легких у пациентов с массивной лимфаденопатией средостения. Уменьшение дозы на легочную ткань может также иметь немаловажное значение для пациентов, которые подвергаются более высокому риску лучевого пневмонита после трансплантации стволовых клеток или курса химиотерапии с применением блеомицина. Многие из пациентов, которые направляются на лучевую терапию после трансплантации стволовых клеток, уже проходили курс лучевой терапии прежде. Таким больным не показано повторное лучевое лечение с помощью конвенциональных методик, однако, повторное облучение можно провести при использовании IMRT благодаря максимальному щажению нормальных тканей в процессе лечения.

При применении технологии IMRT наблюдаются довольно

крутые графики дозно-объемного распределения при планировании облучения объема мишени по сравнению с методиками конвенциональной и 3D-конформной лучевой терапии. Это повышение конформности приводит к повышенному риску геометрических упущений и подчеркивает необходимость максимально четкого ограничения мишени. Достижения в области визуализации помогают более точно определять объемы опухоли. Кроме того, многочисленные диагностические методики теперь могут быть интегрированы непосредственно в процесс планирования лечения с использованием сложных комбинированных изображений и специального программного обеспечения, которое позволяет более четко определиться с границами целевого объема. Тем не менее, по-прежнему, необходимо дожидаться клинических результатов, указывающих на долгосрочные перспективы лечения по таким методикам.

ILROG (International Lymphoma Radiation Oncology Group, США) представила новую концепцию лучевой терапии при лимфомах — involved site radiation therapy (ISRT), в которой по сравнению с IFRT уменьшены объемы облучения при сохранении эффективного локального контроля. Концепция облучения пораженных областей - involved field radiation therapy (IFRT) при которой, кроме пораженных очагов, облучаются и не пораженные смежные лимфоузлы, не может считаться современной в силу необходимости редукции облучения нормальных тканей. Различие между ISRT и INRT — это качество и точность данных визуализации, полученных до ПХТ, при ISRT они могут быть неполными. Используется или КТ, или МРТ-симулятор. Если КТ или ПЭТ выполнены отдельно или перед симуляцией, то электронным путем можно совместить изображения; если это невозможно, то аккуратно зоны интереса можно переместить ручным способом.

Рекомендовать, какую технологию нужно использовать в конкретной клинической ситуации, сложно: это выбор радиотерапевта, предполагающий минимальный риск поздней токсичности для данного пациента. Для определения CTV, PTV и объемов облучения органов риска необходимо 3D-планирование и стандартная 3D-конформная лучевая терапия, которая применима в большинстве случаев. При планировании IMRT средняя доза на опухоль покрывает 95% ее объема и показана при поражении средостения; при этом уменьшается доза на сердце и коронарные артерии. Это особенно заметно при большом средостении и преимущественно переднем его поражении. При этом, однако, увеличивается риск недостаточного опухолевого контроля из-за крутого перехода дозы между опухолью и нормальными тканями, который не наблюдается при обычной 3D-конформной терапии. При облучении средостения путем IMRT может быть важным применение 4D-КТ симуляции для контроля дыхательных движений.

Много лет назад было замечено, что при лучевой терапии на область средостения больных лимфомами достигается значительное щажение легочной ткани за счет проведения терапии на вдохе по сравнению с проведением процедур на свободном дыхании (Willett et al., 1987); при этом указывают на относительное снижение облученного объема легких почти на 25% (Stromberg et al., 2000; Claude et al., 2007). Техническое развитие и клиническое применение лучевой терапии с модуляцией интенсивности пучка на вдохе при облучении средостения показало, что она позволяет снизить лучевую нагрузку на молочные железы, сердце и легкие (Dabaja et al., 2011; Aznar et al., 2015) по сравнению с той же методикой, но на свободном дыхании. Все же только дальнейшие клинические исследования могут точно определить категорию больных, могущих иметь преимущество при использовании этих методик. Слабой стороной этих техник (модулированной по интенсивности пучка и модулированного по объему пучка) является прежде всего большой объем ткани, получивший средние и малые дозы облучения, что может увеличивать риск возникновения вторых опухолей и кардиоваскулярных осложнений.

Крупнопольное облучение и относительно высокие дозы, применявшиеся в последние 50 лет, способствовали значительному риску заболеваемости и смертности больных в ремиссии. Технология ISRT ведет к снижению риска поздних лучевых ос-

ложений для конкретного пациента. При этом следует принимать во внимание пол, возраст и сопутствующую патологию у больного. Риск поздних лучевых осложнений должен быть сбалансирован с риском локального рецидива из-за недооблучения. Во многих случаях, например, у больных старшей возрастной группы, риск смертности от основного заболевания во многом превышает таковой от поздних лучевых осложнений.

ISRT развивалась на основе концепции INRT. В обеих технологиях GTV до ПХТ есть основа CTV, а объем облучаемых тканей значительно меньше, чем при IFRT. Однако, ISRT может применяться шире, чем INRT. Это касается множества случаев, когда радиотерапевту недоступны точные данные по очагам до химиотерапии и нет возможности значительно уменьшить CTV, как при INRT. Клиническое решение при ISRT выносится в пользу наибольшего CTV с учетом неопределенности GTV до ПХТ. В ситуациях, когда имеются полные данные (РКТ, ПЭТ, МРТ) по всем исходным очагам лимфомы, но невозможно совмещение с КТ-сканом, полученным после химиотерапии, радиационный онколог должен проводить оконтуривание мишени по планировочным КТ-сканам, полученным до химиотерапии. При этом должен быть сделан допуск на неопределенность позиции очага и, следовательно, будет допущен больший объем оконтуриваемой мишени.

Если нет доступных исходных изображений вообще, то ситуация более ответственная. Радиационный онколог должен максимально больше собрать информации об исходных поражениях из медицинских документов, от больного, от родственников и РКТ после химиотерапии и оконтуривать с учетом всех этих неопределенностей.

Крупнопольное облучение по-прежнему может использоваться для спасительной терапии при неэффективности лекарственного лечения или невозможности применения высокодозной химиотерапии. Лучевая терапия в различных объемах до доз 40 Гр может применяться при рецидивах, после высокодозной ПХТ с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток, при рефрактерном течении лимфом.

Таким образом, концепция ISRT, как частный случай INRT, основанная на современных методах визуализации и высококонформной технике облучения пораженных мест, является важным способом комбинированного лечения и способствует значительному сокращению облучения нормальных тканей и, соответственно, риску серьезных поздних осложнений по сравнению с таковыми ранее применяемых крупнопольной методикой и IFRT.

Протонная терапия лимфом. Более 100 лет назад В. Брэгг (W. Vregh, 1904) обнаружил, что протоны теряют почти всю свою энергию в самом конце своего пробега в веществе. В 1946 г. Р. Вильсон отметил, что этот феномен может быть полезным и важным фактором при лечении опухоли, что является преимуществом перед фотонами, не обладающих подобными свойствами. Протоны высоких энергий (200 МэВ и более) имеют приблизительно такую же относительную биологическую эффективность (0,8=1,1) как и широко применяющееся рентгеновское или гамма-излучение. Серьезным недостатком протонной терапии является ее стоимость: одна фракция протонной терапии примерно в 2,5 раза дороже, чем таковая при лечении фотонами (Delaney et al., 2011). При лучевой терапии протонами – положительно заряженными частицами – максимальная энергия выделяется в конце пробега (пик Брэгга) и локализуется в ограниченном объеме опухоли; после этого происходит резкое снижение энергии, что позволяет щадить расположенные позади опухоли здоровые ткани. Меняя энергию пучка протонов (70-230 МэВ) можно точно определить место пика Брэгга. Доставка протонов может быть осуществлена с помощью конформных методик (3D, IMRT, VMAT), как это делается и при фотонном излучении. Однако, для облучения опухоли необходимо создать расширенный пик Брэгга, который достигается с помощью ряда методик; технологически самой современной является техника карандашного сканирования (pencil beam scanning), при которой точность доставки дозы в опухоль сочетается с низкой ра-

диационной нагрузкой на персонал. Несмотря на теоретическое преимущество протонной лучевой терапии над фотонной по качеству дозовых распределений, массового перехода на этот источник излучения в клинику вряд ли стоит ожидать в ближайшие годы. Это связано, в том числе, и с большим прогрессом в плане создания конформных дозовых распределений при терапии фотонами: модуляция интенсивности пучка, стереотаксис, дуговая лучевая терапия с модуляцией интенсивности, томотерапия, лучевая терапия с управлением по изображениям. Однако, при этих технологиях достижение конформности достигается, в основном, за счет применения большого количества пучков с разных направлений, что значительно увеличивает интегральную дозу и теоретический риск поздних осложнений.

В настоящее время только для меланомы глаза и некоторых опухолей основания черепа получены результаты рандомизированных клинических исследований, подтверждающие преимущества протонной лучевой терапии перед фотонной 3D- и IMRT. Нельзя не учитывать и экономическую эффективность этих двух видов ионизирующего излучения, которая может быть разной при отдельных локализациях злокачественных новообразований.

При лимфомах часто поражается наддиафрагмальный регион, который содержит много структур (щитовидная и слюнные железы, пищевод, сердце, легкие, спинной мозг, молочные железы, коронарные артерии), подвергаемых риску острых и поздних лучевых осложнений, особенно в условиях 2D-планирования и IFRT. При протонной лучевой терапии можно избежать облучения спинного мозга, пищевода, аорты, легкого, задних отделов сердца и перикарда. Так, Schneider et al., (2000) сравнили дозиметрические планы облучения средостения в условиях 2D-планирования (IFRT): с фотонным 9-польным – IMRT; с облучением протонами с 1 поля и протонами с 9 полей IMRT. Оказалось, что при 100% покрытии PTV обоих протонных планов, при них была как наименьшая интегральная доза, так и средняя доза на молочные железы, спинной мозг, легкое и позвонки по сравнению с 2D-IFRT и с 3D-IMRT фотонными планами; а также более низкая средняя доза на сердце, щитовидную железу и пищевод по сравнению с 2D-IFRT.

В дозиметрическом исследовании Chera et al., (2009) из Университета штата Флорида (США) у 9 больных ЛХ продемонстрирован меньший объем тканей, получивших ≥ 4 , ≥ 10 , ≥ 16 , ≥ 24 и ≥ 30 Гр, меньшая средняя доза и на V10 на легкие, меньшая средняя доза на молочные железы, меньшая средняя интегральная доза при 3D протонной лучевой терапии по сравнению с таковыми показателями 3D-IMRT и конвенциональной лучевой терапией.

При лучевой терапии ниже диафрагмы преимущества протонов в случаях облучения с переднего поля не так очевидны из-за непредсказуемых неконтролируемых движений желудка и кишечника; заднее протонное поле может быть использовано при соответствующей защите спинного и костного мозга. Исходя из суммарных данных 11 исследований, представленных в обзоре Y. Tseng et al. (2017), по дозиметрической оценке наддиафрагмального облучения больных лимфомами следует, что более четкие показатели в пользу протонной лучевой терапии наблюдаются в средостении, чем в других регионах над диафрагмой. При протонном облучении по сравнению с 3D- конформной лучевой терапией ниже средняя интегральная доза на 3,2 Гр, средняя доза на пищевод на 3,9 Гр; сердце на 3,6 Гр; щитовидную железу на 1,5 Гр; молочные железы на 1,5 Гр; легкие на 2,8 Гр; V20 на легкое меньше на 9%. Первые клинические результаты лечения больных протонами при лимфомах получены в Университете Флориды (США). Профессор В. Норре в августе 2014г. опубликовал данные 15 первичных пациентов I-III стадии, которые после ПХТ

получили INPT (involved node proton therapy); 3-летняя безрецидивная выживаемость при медиане наблюдения 37 мес. составила 93%; рецидив был у 1 больного как в поле облучения, так и вне его. Серьезных побочных реакций не наблюдали. В работе из Бостона Winkfield et al., (2015) представлены 8-летние результаты протонной консолидирующей терапии 46 больных ЛХ и НХЛ (34 и 12 пациентов соответственно, из них 3 – с рецидивами) при медиастинальном облучении. В условиях более низкой интегральной дозы, дозы на сердце, легкие, спинной мозг, по сравнению с 3D-фотонным лечением, получили хороший локальный контроль при медиане наблюдения 50 мес.: 5-летняя беспрогрессивная выживаемость – 80% с отсутствием побочных токсических эффектов. В более крупном исследовании из нескольких академических центров (Norpe et al., 2017) 135 больных ЛХ получили консолидирующую протонную терапию; достигнута 3-летняя беспрогрессивная выживаемость – 92%. Авторы из Университета Флориды (Sachman et al., 2015) поделились небольшим опытом протонной терапии больных неходжкинскими лимфомами (первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома, лимфома орбиты, плазмобластная и НК/Т-клеточная лимфома); при медиане наблюдения 38 мес. 2-летний локальный контроль составил 91% без серьезных токсических осложнений. Техника карандашного сканирования пучка (pencil beam scanning) еще только начинает внедряться в клинику. Она дает более конформное распределение дозы, но требует дополнительной точности. В протонном центре Праги (Чехия) по этой методике получили терапию 35 больных с медиастинальной лимфомой (Dedeckova et al., 2016); при медиане наблюдения 10 мес. не было серьезных токсических проявлений, у 2 пациентов были рецидивы вне поля облучения. 10 больных облучали протонами на максимальном вдохе; пульмонитов не наблюдали.

По данным всех исследований видно отсутствие протон-индуцированной острой или поздней токсичности 3 и более степени. Легкие (1-2 степени) лучевые реакции (эзофагит, дерматит) встречаются, но не имеют клинического значения. Для оценки поздних осложнений потребуются десятилетия, но что касается противоопухолевого эффекта и планирования протонного пучка очевидно отсутствие маргинальных рецидивов и хороший локальный контроль, сравнимый с методикой IMRT при фотонной терапии (Lu et al., 2012; Filippi et al., 2014).

По данным P. Nanda et al. (2017), 59 больных лимфомами с поражением средостения (из них 30 детей) получали протонную терапию (в среднем 30,6 Гр). Средняя легочная доза была 7,2 Гр. Легочная токсичность 1 степени выявлена у 21 пациента, 2 степени у 2 больных; что сравнимо с лучевыми легочными реакциями при IMRT.

Таким образом, протонная лучевая терапия в настоящее время относится к числу прогрессивных технологий в лучевом лечении больных лимфомами, которые могут дать клинически значимое существенное преимущество в щадящем воздействии ионизирующего излучения на жизненно важные органы при сопоставимом с фотонами противоопухолевым эффекте. Техника, связанная с клинически значимой минимизацией облучения критических структур при условии сохранения эффективности облучения опухоли, должна приниматься во внимание без учета того, что в наличии нет результатов рандомизированных клинических исследований. Появление последних маловероятно, т.к. для оценки результатов потребуются сроки 10 лет и более. В настоящее время есть дозиметрические и клинические предпосылки для углубленного изучения результатов протонной терапии лимфом при облучении различных анатомических регионов.

Романенко Н.А.

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

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ. МЕМБРАНОПАТИИ (ЛЕКЦИЯ) ЧАСТЬ 1

Резюме. Гемолитическая анемия (ГА) является патологией, характеризующейся ускоренным разрушением эритроцитов с образованием продуктов их распада, развитием анемии и реактивного усиления эритропоэза. В 1-й части лекции даны общие понятия о гемолитических анемиях и основных клинико-лабораторных критериях постановки диагноза, рассмотрена физиология и регуляция эритропоэза, представлены общие аспекты патогенеза ГА, клинической картины, приведена подробная классификация. В этой части статьи детально рассмотрены наследственные гемолитические анемии, обусловленные дефектами мембраны эритроцитов. Рас-

сматриваются эпидемиология, патогенез, клиническая картина, дифференциальный диагноз и лечение приведенных заболеваний.

Лекция представляет особый интерес для аудитории врачей-гематологов, трансфузиологов, терапевтов, педиатров, повышающих квалификацию, а также – клинических ординаторов и студентов медицинских вузов.

Ключевые слова: гемолитическая анемия, гемоглобин, ретикулоциты, наследственный сфероцитоз, билирубин, хелаторы железа, эритроцит, эритропоэз, мембранопатии

Romanenko N.A.

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

HEREDITARY HEMOLYTIC ANEMIA. MEMBRANOPATHY (LECTURE) PART 1

Abstract. Hemolytic anemia (HA) is a pathology of erythrocytes and is characterized by their accelerated destruction and the formation of erythrocyte breakdown products, the development of anemia and reactive erythropoiesis. In the 1st part of the lecture are presented the general concepts of hemolytic anemia, the main clinical and laboratory diagnostic criteria, the physiology and regulation of erythropoiesis, general aspects of the pathogenesis of HA and also are presented the clinical picture and a detailed classification. In this part of the article, hereditary hemolytic anemia caused by defects in the erythrocyte

membrane is considered in detail. In the presented is diseases shown epidemiology, pathogenesis, clinical picture, differential diagnosis and treatment.

The lecture is of particular interest to the audience of hematologists, transfusiologists, therapists, pediatricians, advanced training, as well as clinical residents and students of medical universities.

Keywords: hemolytic anemia, hemoglobin, reticulocytes, hereditary spherocytosis, bilirubin, iron chelators, erythrocyte, erythropoiesis, membranopathy

Введение. Гемолитическая анемия (ГА) – это патология, отличительным признаком которой является ускоренное разрушение красных кровяных телец (эритроцитов) с последующим высвобождением непрямого (неконъюгированного) билирубина. Гемолитические анемии представлены как самостоятельными нозологическими формами, так и возможными проявлениями других системных аутоиммунных, онкологических и гематологических заболеваний.

Основными чертами гемолитических анемий являются наличие анемического синдрома (АС) в сочетании с такими симптомами как:

- 1) желтуха или иктеричность (кожных покровов, склер, видимых слизистых);
- 2) гипербилирубинемия (за счет непрямого фракции билирубина);
- 3) уробилирубинурия (потемнение мочи), гиперхолия (темная расцветка) кала;
- 4) спленомегалия, реже гепатомегалия;
- 5) гиперретикулоцитоз (свыше 5% или 50%).

Анемия может носить гипохромный (при талассемии), нормохромный (при аутоиммунной гемолитической анемии) или гиперхромный (при дефиците витамина В12 и/или фолиевой кислоты – В9) характер. Нередко выявляются симптомы клеточного цитолиза (повышение температуры тела, астенический синдром, абдоминальные боли и боли в поясничной области), особенно ярко проявляющиеся при кризовом течении и при остром гемолизе, с резким падением гемоглобина (Hb), что может даже привести к риску для жизни больного.

Лабораторные признаки гемолиза можно подразделить:

- 1) на связанные с повышенным разрушением эритроцитов: билирубинемия за счёт непрямого (неконъюгированного, токсич-

ческого) билирубина, уробилина в моче, повышение содержания сывороточного железа в крови;

- 2) на связанные с компенсаторной повышенной продукцией эритроцитов: полихромазия эритроцитов, ретикулоцитоз, наличие в периферической крови ядросодержащих эритроидных клеток (нормобластов), гиперплазия костного мозга (КМ) с расширением эритроидного ростка.

Для уточнения характера гемолиза необходимо проведение тестов на определение в крови уровня лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гаптоглобина, связывающего свободный гемоглобин, гемосидерина в моче. Данные тесты являются индикаторами внутрисосудистого гемолиза, позволяющими дифференцировать его от внесосудистого (преимущественно, внутриклеточного).

Морфологическое изучение мазков крови позволяет выявить полихромазию, макроцитоз, сфероцитоз, эллиптоцитоз, фрагментированные или серповидные клетки, мишеневидные, а также ядросодержащие эритроциты, что дает возможность определить дальнейшее направление диагностического поиска. При сочетании анемии с другими цитопениями возникает подозрение на системные иммунные нарушения, а наличие костномозговой недостаточности и/или в сочетании с бластными элементами – на гемобластоз.

Осмотр пациентов дает возможность выявить нарушения, свойственные той или иной патологии. Так, при тяжелых формах наследственных гемолитических анемий у больных (гомозиготы) могут определяться деформации скелета: башенный череп, высокое «готическое» твердое небо, микрофтальмия, аномалии расположения зубов, укорочение мизинцев. В случаях микроциркуляторных нарушений вследствие изменения формы эритроцитов при некоторых вариантах патологии мембраны клеток или нарушения структуры гемоглобина с его полимеризацией, в определенных условиях

возникают трофические язвы на коже нижних конечностей, могут развиваться микроциркуляторные нарушения в головках крупных костей, внутренних органов с соответствующей симптоматикой.

Для дифференциальной диагностики различных гемолитических анемий часто используются специальные лабораторные тесты, например, на осмотическую резистентность (стойкость) эритроцитов, при подозрении на дефицит ферментов в эритроцитах – определение их содержания в клетках. Для выявления специфических мутаций используются молекулярно-биологические методы, например, полимеразная цепная реакция (ПЦР). Один из основных тестов, проводимых при дифдиагностике – антиглобулиновый тест Кумбса. Его можно проводить в двух вариантах: 1) прямой тест Кумбса, определяющий фиксацию антител и комплемента на поверхности эритроцитов, и 2) непрямой, выявляющий антитела (АТ) в сыворотке крови. Положительный прямой и непрямой тест Кумбса обычно указывают на иммунную причину гемолита. Однако при положительном прямом тесте Кумбса выявляют антитела, фиксированные на эритроците, что характерно для аутоиммунной гемолитической анемии (АИГА). В то же время, положительная непрямая реакция Кумбса указывает на наличие АТ в сыворотке крови, что более характерно для наличия аллоиммунных (изоиммунных) или трансиммунных (у плода) антител, выявляемых, например, после переливания донорских эритроцитов или при конфликте по антигенам резус или АВ0 у матери и у плода.

Важно подчеркнуть, что своевременная диагностика ГА позволяет правильно подобрать адекватную терапию у таких пациентов и не допустить развития неблагоприятного исхода.

Физиология эритропоэза и его регуляция

Эритроцит в периферической крови живет около 90-120 суток. Для поддержания постоянного количества эритроцитов в крови необходима достаточная их продукция в КМ, которая составляет порядка $1,8 \times 10^9$ в минуту или около 2×10^{11} молодых эритроцитов в сутки. При максимальной естественной стимуляции эритроидного роста в условиях гипоксии, например, нахождение человека в условиях высокогорья, при кровопотере, гемолитическом, продукция эритроцитов увеличивается в десятки раз, что обусловлено гипоксией почек и повышенной продукцией эндогенного гормона – эритропоэтина, являющимся ключевым регулятором эритропоэза. Эритропоэтин продуцируется перитубулярными клетками (фибробластоподобные клетки), локализованных в интерстициальных пространствах между извитыми канальцами коркового вещества почек (более 70-90%) и в небольшом количестве – клетками печени (10%). Ген эритропоэтина расположен в виде одиночной нуклеотидной последовательности на 7 хромосоме в регионе 11q-22q. В ходе транскрипции гена происходит образование (процессинг) мРНК, которая транспортируется из ядра в цитоплазму и транслируется в аминокислотную последовательность, состоящую из 193 аминокислот. При переходе в секреторный аппарат удаляется 27 аминокислот и С-концевой аргинин, но добавляется углеводородная цепь. И 30 кДа гликопротеин зрелый гормон эритропоэтина выходит в межклеточное пространство и поступает в кровь.

Концентрация эндогенного эритропоэтина в сыворотке периферической крови в организме здорового человека составляет, в среднем, 5-30 мМЕ/мл (20 мМЕ/мл – 100 пг/мл) или 2,6-34,0 нмоль/л. Такой уровень гормона необходим для образования и поддержания постоянного количества эритроцитов. В случае повышения концентрации эритропоэтина в сыворотке крови увеличивается образование эритроцитов. Максимальное повышение числа эритроцитов достигается при его уровне в сыворотке 500-1000 мМЕ / мл. В то же время при низком содержании эритропоэтина возрастает апоптоз эритроидных клеток, скорость которого в норме составляет 0,8-1,0% от всех эритроцитов в сутки. А длительность жизни или более правильно сказать период нахождения ретикулоцитов (последних предшественников зрелых эритроцитов) в периферической крови – составляет не более 1-2 суток, следовательно, оборот эритроцитов и происходит за сто дней; при гемолитическом – еще быстрее.

В костном мозге среди гемопоэтических клеток первой комитированной (специализированной) клеткой эритропоэза являет-

ся эритроцитная бурсобластулирующая единица (БОЕ-Э). Количество таких клеток составляет около 40-120 на каждые 100000 миелокариоцитов КМ. БОЕ-Э созревает в колониеобразующую единицу эритроцитарную (КОЕ-Э). Таких элементов насчитывается уже до 200-600 клеток на каждые 100000 миелокариоцитов. Лишь в КОЕ-Э начинается синтез гемоглобина, эти клетки дифференцируются в эритробласты, а далее в нормоциты, которые в ходе созревания «теряют» ядра, и «превращаются» в ретикулоциты. В ретикулоцитах в течение нескольких дней митохондрии и ретикулин разрушаются, полностью исчезает хромосомный аппарат, теряется возможность к пролиферации (делению), и такие клетки превращаются в зрелые эритроциты. Это клетки, основная функция которых обеспечивать транспорт кислорода тканям. Важно отметить, что регуляторное действие эритропоэтина распространяется преимущественно на КОЕ-Э, эритробласты и нормоциты, в то время как на пролиферацию БОЕ-Э этот гормон может воздействовать лишь в комплексе с рядом других ростовых факторов и цитокинов.

Кто же регулирует эритропоэтин? Регулятором продукции эритропоэтина в крови является гипоксия любого генеза, в том числе при анемии. Гипоксия стимулирует выработку 2-х субъединиц, называемых факторами, индуцированными гипоксией (HIF-1 и HIF-2), которые регулируют экспрессию гена эритропоэтина и тем самым запускают транскрипцию мРНК эритропоэтина. Противоположным действием обладает рост напряжения кислорода в крови, так как высокое напряжение кислорода снижает концентрацию субъединиц HIF-1 и HIF-2 за счет гидроксирования их в протеасомах с помощью фермента HIF-PH (HIF-пролил-гидроксилаза), являющегося «сенсором эритропоэтина»: происходит «выключение» транскрипции мРНК эритропоэтина, а уровень эндогенного эритропоэтина в сыворотке крови снижается. То есть, активность фермента HIF-PH возрастает при увеличении напряжения кислорода в крови, что приводит к снижению концентрации эритропоэтина. Следовательно, содержание эритропоэтина прямолинейно зависит от степени тяжести анемии и обратно – от уровня гематокрита и гемоглобина. Поэтому при анемии уровень собственного эритропоэтина увеличивается, что усиливает пролиферацию клеток эритрона (КОЕ-Э, эритробластов, нормоцитов), которые могут обнаруживаться в периферической крови, и последующую дифференцировку в ретикулоцит и зрелый эритроцит. При этом число ретикулоцитов может увеличиваться в 10-50 раз по сравнению с нормой. Именно такой феномен и наблюдается при гемолитических анемиях.

Общие аспекты патогенеза гемолитических анемий

В развитии гемолитической анемии большую роль играют те или иные механизмы разрушения эритроцитов и регуляции эритропоэза. Поэтому и наличие анемии или ее отсутствие у конкретного пациента будет зависеть от того, на сколько преобладает скорость деструктивного процесса (гемолита) над скоростью пролиферации и дифференцировки эритроидной клетки в зрелый эритроцит. Детальное изучение генеза гемолита у таких больных имеет важное значение для выбора тактики коррекции и лечения анемии.

Патогенез ГА зависит от ее варианта, и может быть обусловлен:

- 1) врожденным дефектом мембраны эритроцита;
- 2) отсутствием того или иного фермента в самом эритроците;
- 3) врожденной аномалией гемоглобина;
- 4) воздействием внешнего физического фактора, разрушающего эритроцит;
- 5) действием химических веществ (лекарственных препаратов, гемолитических ядов);
- 6) иммунным фактором;
- 7) действием паразитов с последующим разрушением эритроцитов, а также сочетанием нескольких факторов одновременно.

Важно подчеркнуть, что будет анемия или нет, во многом зависит от скорости гибели и скорости образования новых эритроцитов. Если в нормальных условиях эритроциты живут 100-120 дней и скорость их продукции равна количеству ретикулоцитов в периферической крови (1%-1,2% или 10-12‰), то и обновление происходит в течение этих 100-120 дней. Однако, если эритроцит живет 10-15 дней, то скорость обновления должна составлять не менее

10-14 дней. А, соответственно, и ретикулоцитоз должен составлять около 70-100%, чтобы обеспечить достаточным содержанием эритроцитов и гемоглобином. Если же скорость пролиферации эритроидного ростка будет недостаточной, например, менее 40-50%, то разовьется анемия.

Учитывая тот факт, что «оборот» всего пула эритроцитов при гемолитической анемии очень высокий и обновление эритроцитов происходит за короткий период, например, 10-14 дней, происходит большая трата витаминов, микроэлементов, аминокислот и других веществ, что может привести к дефициту их и усугублению клинических проявлений анемии. Так, дефицит фолиевой кислоты очень часто наблюдается при ГА, особенно врожденного генеза, и ее дефицит усугубляет и гемолиз, и течение анемии вследствие нарушения синтеза гемоглобина.

На развитие и течение анемического синдрома большую роль оказывает угнетение эритроидного ростка, как лекарственными препаратами (цитостатические препараты), провоспалительными цитокинами (при воспалении, при опухолях), так и патогеном, например, инфекцией, вызванной парвовирусом В19.

При гемолитических анемиях в связи с высоким «оборотом» клеток крови, в частности, гибели большого количества эритроцитов, высвобождаются продукты обмена гемоглобина, основная деградация и инактивация которых происходит в печени. Последней приходится перерабатывать в 10-15 раз больше разрушенных эритроидных клеток, чем у здорового человека. Поэтому в последующем эти продукты обмена гемоглобина в виде желчных пигментов, проход по печеночным протокам в желчный пузырь, могут застаиваться и постепенно формировать желчные камни. Следовательно, у пациентов с хроническим гемолизом, особенно при врожденной ГА, часто выявляется желчнокаменная болезнь или в анамнезе у них имеет место холецистэктомия.

Гемолиз при ГА принято подразделять на внутрисосудистый и внутриклеточный (внесосудистый).

1. Внутрисосудистый гемолиз характеризуется гибелью эритроцитов, происходящей преимущественно внутри сосудистого русла; содержимое эритроцита (свободный гемоглобин, ферменты, содержимое цитоплазмы, обломки стенки эритроцитов) попадают в кровотоки, где происходит активация каллекреин-кининовой системы, гемостаза (факторов свертывания, противосвертывающей системы, фибринолитической системы) вплоть до развития ДВС-синдрома и почечной недостаточности. Такой гемолиз носит острый характер, сопровождается лихорадкой, резким ухудшением состояния, тромбозами, органной недостаточностью. Для данного вида гемолиза характерно увеличение ЛДГ, темный цвет мочи (цвета кофе).

В основе внутрисосудистого гемолиза лежит повреждение мембраны эритроцита активированным комплементом, например, при пароксизмальной гемоглобинурии, или антителами – иммуноглобулинами класса М при переливании несовместимой по АВО группе крови эритроцитов, а также при аутоиммунной ГА с тепловыми гемолизинами. Кроме того, острый гемолиз вызывают и гемолитические яды от укусов некоторых змей (гюрза, гремушья змея, гадюка, эфа и другие).

2. Внутриклеточный гемолиз характеризуется разрушением эритроцитов клетками ретикулоэндотелиальной системы, преимущественно в селезенке. Такой вариант гемолиза чаще носит более спокойный характер – хронический или подострый. Может возникать при аутоиммунных ГА, при переливании несовместимых эритроцитов по Резус-фактору, Келл, Даффи или другим групповым антигенам. При иммунном варианте участвуют в основном иммунные неполные антитела класса IgG или IgA. Особенностью их является то, что такие антитела фиксируются одним Fa фрагментом на мембране эритроцита, «метят» эритроцит. Но гибель происходит в макрофагальной клетке селезенки.

У пациентов с врожденными мембранопатиями гемолиз также происходит в селезенке: эритроциты с дефектной мембраной, проходя через синусы, где диаметр просвета сосудов в 1,5-2 раза меньше размера эритроцитов, не могут деформироваться или, деформировавшись, не способны восстанавливать свою двояковогнутую форму после деформации, поэтому гибнут. Помимо дефектов

мембраны могут быть и ферментопатии, при которых происходит гибель эритроцитов в селезенке в одних случаях за счет постепенного их пожирания («покусывания») макрофагами, а также за счет нарушения осмолярной стойкости эритроцитов. Более детально аспекты патогенеза будут приведены в соответствующих разделах.

Клиника и диагностика гемолитических анемий

Для врача-клинициста важно знать три основных синдрома, позволяющих заподозрить у пациента гемолитическую анемию.

1. Анемический синдром.

Характеризуется:

- снижением толерантности к физической нагрузке, привычной для повседневной жизни,

- тахикардией и тахипноэ (компенсаторно – при физической нагрузке),

- потемнением в глазах при принятии вертикального положения из горизонтального (ортостатическая проба),

- снижением уровня гемоглобина, гематокрита и количества эритроцитов в крови,

- бледностью,

- шумом Волчка, шумом в проекции легочной артерии.

2. Синдром гемолиза.

Характеризуется:

- желтухой, иктеричностью склер и других видимых слизистых оболочек,

- увеличением селезенки (реже печени),

- повышением свободного (неконъюгированного) билирубина в сыворотке крови,

- повышением ЛДГ (при внутрисосудистом гемолизе),

- уробилиногенурия в моче, гиперхолия кала (нормальный темный цвет кала).

3. Синдром повышенной регенерации эритроидного ростка.

Характеризуется:

- ретикулоцитозом (обычно в периферической крови свыше 5% или 50‰),

- наличием нормобластов и нормоцитов в периферической крови,

- гиперплазией костного мозга с увеличением количества эритроидных элементов КМ (часто выше 35-40%, иногда достигает более 70-90%).

При постановке диагноза гемолитической анемии целесообразно проводить ряд, наиболее значимых для диагноза лабораторных тестов, к которым относятся:

- клинический анализ крови с подсчетом ретикулоцитов и изучением морфологии эритроцитов и их предшественников (эри-
тробласты, нормобласты, нормоциты),

- исследование резистентности эритроцитов,

- прямая проба Кумбса – для подтверждения аутоиммунного характера ГА,

- непрямая проба Кумбса – для определения наличия аллоантител в крови,

- проба Хема,

- ЛДГ,

- исследование билирубина и его фракций,

- сывороточное железо, ферритин,

- оценка миелограммы,

- общий анализ мочи (уробилин).

- морфологическое исследование костного мозга (миелограмма), полученного путем аспирации из рукоятки или тела грудины, или подвздошной кости, а также при исследовании трепанобиопсии подвздошной кости.

Важным дополнительным методом исследования является электрофорез гемоглобина, позволяющий выявить патологические фракции глобина, например, при врожденной гемоглобинопатии – HbF или HbA2.

При внутрисосудистом гемолизе определяется в моче гемосидерин, а при остром гемолизе, например, обусловленном переливанием эритроцитов отличных по АВО – свободный гемоглобин.

В диагностике ГА большую роль играет анамнез заболевания и анамнез жизни. Врожденные гемоглобинопатии преимущественно встречаются у жителей Африки, Средних и Южных районов Азии,

Юго-Восточной Европы; в России – в основном Республика Дагестан, Чеченская Республика, Северная Осетия, Республика Ингушетия. У этих пациентов, особенно при гомозиготном наследовании, часто выявляются аномалии скелета (башенный череп, готическое небо, монголоидный тип лица, укорочение мизинца). Для врожденной гемолитической анемии характерно наличие анемии с детства или младенчества. Такая анемия часто не поддается лечению патогенетическими методами терапии (препаратами железа, витаминами). Кроме того, при опросе взрослых пациентов могут быть в анамнезе холецистэктомия в молодом возрасте, у родителей, дедушек, бабушек. Поэтому лишь только комплексный подход позволяет верифицировать диагноз заболевания.

Классификация гемолитических анемий

Гемолитические анемии подразделяются на врожденные (наследственные) и приобретенные. Приобретенные принято разделять в зависимости от механизма их возникновения – иммунные, механические, воздействие физического, химического, биологического факторов, а также соматическими мутациями. Ниже приведена подробная патогенетическая классификация ГА (Идельсон Л.И., 1979).

A. Наследственные (врожденные) гемолитические анемии:

I. Наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением мембран эритроцитов:

1) нарушение структуры белка мембраны: а) наследственный микросфероцитоз, б) наследственный эллиптоцитоз, в) наследственный стоматоцитоз, г) гемолитические анемии, связанные с наследственным отсутствием резус-фактора;

2) нарушение липидов мембран: а) наследственный акантоцитоз, б) наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением обновления фосфадитилхолина, в) наследственные анемии с внутрисосудистым гемолизом, связанные со снижением количества полиненасыщенных жирных кислот мембраны.

II. Наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением активности ферментов эритроцитов:

1) недостаток активности ферментов пентозофосфатного цикла: а) дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, б) дефицит фосфоглюконатдегидрогеназы;

2) недостаток активности ферментов гликолиза: а) дефицит пируваткиназы, б) дефицит гексокиназы и др.;

3) недостаток активности ферментов обмена глутатиона: а) дефицит синтазы глутатиона, б) дефицит редуктазы глутатиона, в) дефицит пероксидазы глутатиона;

4) нарушение активности ферментов, участвующих в использовании АТФ: а) дефицит АТФ-азы, б) дефицит аденилатциклазы;

5) нарушение активности ферментов обмена нуклеотидов;

6) нарушение активности ферментов, участвующих в синтезе порфиринов.

III. Наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением структуры или синтеза гемоглобина:

1) анемии, связанные с нарушением синтеза цепей глобина: а) бета-талассемия (гомозиготная, гетерозиготная), б) бета-дельта-талассемия, в) альфа-талассемия (гомозиготная, гемоглобинопатия Н, гетерозиготная средняя, гетерозиготная малая, бессимптомное носительство гена альфа-талассемии);

2) анемии, связанные с нарушением структуры цепей гемоглобина: а) анемии, обусловленные носительством стабильных аномальных гемоглобинов (S, C, D, E и др.), б) анемии, обусловленные носительством нестабильных аномальных гемоглобинов.

B. Приобретенные гемолитические анемии:

I. Гемолитические анемии, связанные с воздействием антител:

1) изо(алло)иммунные;

2) трансиммунные;

3) гетероиммунные (гаптенные);

4) аутоиммунные анемии с антителами против антигенов эритроцитов периферической крови: а) с неполными тепловыми агглютинидами, б) с тепловыми гемолизинами, в) с полными холодными агглютинидами, г) с двухфазными гемолизинами;

5) аутоиммунные гемолитические анемии с антителами против антигенов нормобластов костного мозга.

II. Гемолитическая анемия, связанная с изменением структуры

мембраны, обусловленным соматической мутацией (болезнь Маркафавы-Микели).

III. Гемолитическая анемия, связанная с механическим повреждением оболочки эритроцита:

1) механический гемолиз при протезировании сосудов и клапанов сердца;

2) маршевая гемоглобинурия;

3) микроангиопатическая гемолитическая анемия: а) тромботическая тромбоцитопеническая пурпура; б) гемолитико-уремический синдром; в) анемия: обусловленная злокачественной гипертонией; г) анемия, обусловленная гемангиомой; д) анемия при спленомегалии.

IV. Гемолитические анемии, обусловленные химическим повреждением эритроцитов:

1) при воздействии свинца и других тяжелых металлов;

2) при отравлении кислотами;

3) при воздействии органических гемолитических ядов;

4) при избыточном приеме алкоголя и поражении печени.

V. Гемолитические анемии: обусловленные недостатком витаминов (например, E).

VI. Гемолитические анемии: обусловленные разрушением эритроцитов паразитами (малярия).

I. Наследственные (врожденные) гемолитические анемии, связанные с нарушением мембраны эритроцитов (мембранопатии)

К врожденным нарушениям мембраны эритроцита относятся следующие группы заболевания: белковозависимые и липидзависимые мембранопатии.

1. Белковозависимые мембранопатии

Наследственный микросфероцитоз (код по МКБ10 – D 58.0)

Наследственный микросфероцитоз или синдром Минковского-Шофара – это группа наследственных гемолитических анемий, характеризующихся появлением шаровидных эритроцитов (микросфероцитов) и обусловленных дефектом белков цитоскелета эритроцитов. При наследственном микросфероцитозе вследствие нарушения цитоскелета эритроцит не способен удерживать двояковогнутую форму и приобретает форму микросфероцита с уменьшенным отношением площади поверхности к объему.

Эпидемиология

Распространенность заболевания составляет 1:2000 – 1:5000. У 20% пациентов нарушения со стороны периферической крови отсутствуют, что указывает либо на аутосомно-рецессивное наследование, либо на возможную спонтанную мутацию, что наблюдается редко. Наследственный микросфероцитоз диагностируют в любом возрасте, нередко в зрелом возрасте при спокойном течении, но иногда он проявляется вскоре после рождения. Однако желчнокаменная болезнь (ЖКБ) может выявляться уже в возрасте 2-4 лет, а к 18 годам частота ее выявляемости увеличивается, достигая 30%.

Патогенез

Функцией цитоскелета эритроцита является поддержание его формы и эластичности, следовательно, и устойчивости к деформации при прохождении в узких и извилистых участках мелких сосудов, например, в красной пульпе селезенки (в синусах). Цитоскелет эритроцита представлен белковой сетью, основу которой составляет до 65% белок спектрин, расположенный на билипидном слое цитоплазматической мембраны. Спектрины состоят из α - и β -единиц, которые образуют димеры спектрина (в ходе их связывания). Другими концами эти димеры связываются белком полосы 4.1 и актином. В вертикальное соединение с двойным липидным слоем вовлечено два трансмембранных белка – белок полосы 3 и гликофорин C. Кроме того, белок полосы 3 взаимодействует с белком полосы 4.2, обеспечивая дополнительную стабильность цитоскелета. Гликофорин C взаимодействует с белком p55 и белком полосы 4.1, который в свою очередь связывается с β -единицей спектрина. Если возникает дефицит или дисфункция одного из этих мембранных компонентов, то происходит ослабление или дестабилизация цитоскелета, что приведет к нарушению морфологии эритроцита и укорочению его жизни. На рисунке стрелка показывает locus, где нарушено вертикальное взаимодействие при наследствен-

ной сфероцитозе (Рис. 1).

В периоде новорожденности фетальный гемоглобин (HbF) содержится в большом числе эритроцитов, что создает условия для нестабильности мембраны эритроцитов, так как HbF не способен связывать свободные 2,3-дифосфоглицераты, которые оказывают дестабилизирующее влияние на взаимодействие спектрина и белка полосы 4.1.

Тип наследования заболевания аутосомно-доминантный (до 75%), реже – аутосомно-рецессивный (до 25%). Врожденный сфероцитоз ассоциирован с мутациями в нескольких хромосомах, из которых ген α -спектрина расположен на 1 хромосоме, ген актина – на 8, ген β -спектрина – на 14, ген белка полосы 4.2 – на 15, ген белка полосы 3 – на 17. Генетические дефекты при наследственном микросфероцитозе затрагивают белки цитоскелета эритроцитов, преимущественно те из них, которые связывают цитоскелет с мембраной.

Почти у всех больных обнаружена выраженная недостаточность спектрина (количественный дефект), и лишь у части – обусловленная наследственными дефектами самого спектрина (качественный дефект).

Среди основных мутаций выделяют следующие:

1) у 50% пациентов выявляются мутации гена анкирина – белка, соединяющего трансмембранный белок полосы 3 со спектрином. Наследуется как аутосомно-рецессивно (реже, но анемия тяжелее), так и аутосомно-доминантно. Ген анкирина (ANKRI) локализуется на 8 хромосоме человека в положении p11.2;

2) у 25% больных обнаружены мутации белка полосы 3 – транспортный трансмембранный белок. Белок носит название полосы 3, поскольку при электрофорезе в полиакриламидном геле он занимает соответствующее положение относительно других белков. Белок полосы 3 принимает участие в переносе кислорода из легких к тканям, а углекислого газа – из тканей к легким. Делеция гена белка полосы 3 делает мембрану эритроцита ригидной, но при этом защищает эритроцит от внедрения малярийных плазмодиев. Недостаточность этого белка наследуется аутосомно-доминантно и приводит к легкой анемии;

3) у 25% пациентов выявлены мутации гена спектрина (нарушен синтез цепей спектрина, либо самосборка его гетеродимеров). Недостаточность α -цепи спектрина наследуется аутосомно-доминантно и обычно протекает легко. Недостаточность β -цепи спектрина – тяжелое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования.

Таким образом, дефект белков цитоскелета приводит к утрате стабильности мембраны эритроцита и отщеплению ее участков. Эритроцит превращается в микросфероцит, совершенно неспособный к изменению формы, т.е. деформации. Микросфероцит не может пройти через красную пульпу селезенки, в особенности протиснуться через щели в стенках ее синусов. Оказавшись в условиях гипоксии, в которых невозможно поддерживать метаболизм, микросфероцит теряет еще часть мембраны. В результате в крови появляется субпопуляция совершенно круглых эритроцитов, имеющих шаровидную форму и малые размеры. Такие эритроциты разрушаются, что ведет к развитию анемии.

Клиническая картина

Наследственный микросфероцитоз чаще проявляется анемией, желтухой, спленомегалией, деформациями скелета и возможными осложнениями в виде апластического криза и желчнокаменной болезни.

1. Анемия обусловлена внутриклеточным распадом эритроцитов, преимущественно в селезенке. Поэтому для нее показатель ЛДГ обычно в норме. Гемолиз носит хронический или кризовый характер.

2. Желтуха вызвана непрямой гипербилирубинемией, бывает непостоянной и, как правило, слабее выражена в раннем детском возрасте. Цвет мочи часто бывает насыщенный желтый или цвета чая.

3. Спленомегалия наблюдается почти всегда. Во время системных инфекций интенсивность гемолиза может усиливаться, что приводит к дальнейшему увеличению селезенки.

4. Стигмы дисэмбриогенеза, аномалии развития скелета более характерны для детей с тяжелой формой наследственного микросфероцитоза. Они могут проявляться в виде башенного черепа, микрофтальмии, широкой переносицы, готического неба, также может изменяться расположение зубов. У некоторых больных бывают укорочены мизинцы.

Осложнения

Среди осложнений, характерных для наследственного сфероцитоза и большинства других наследственных гемолитических анемий, могут наблюдаться:

- гемолитические кризы (в период инфекций),
- апластические кризы (парвовирус В19),
- мегалобластный криз (дефицит фолиевой кислоты),
- ЖКБ (у половины пациентов и их родителей диагностируется в молодом возрасте),

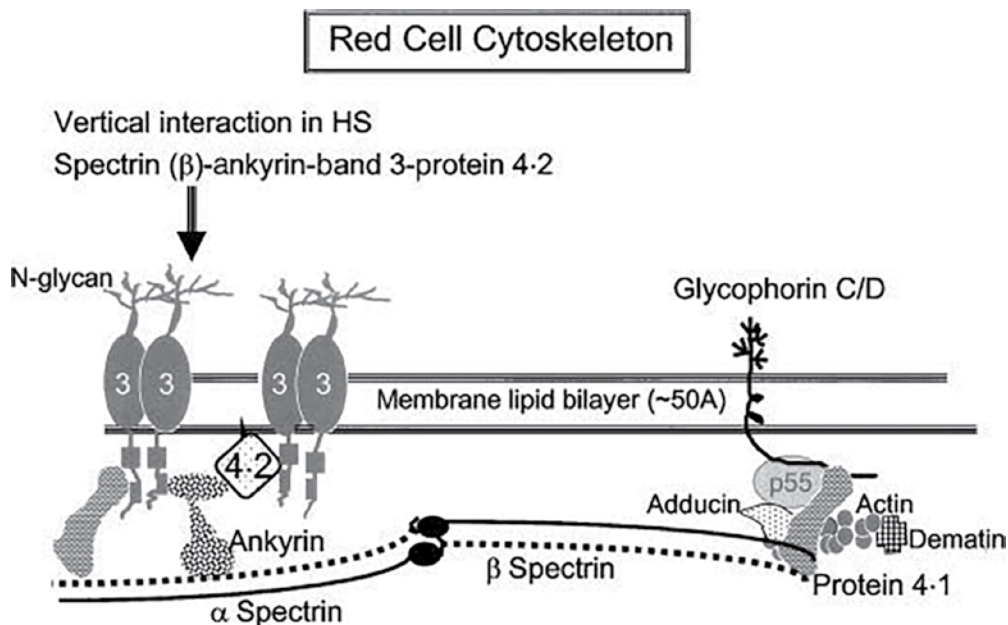


Рисунок 1. Схематическое изображение цитоскелета мембраны эритроцита [Bolton-Maggs P.H.B., 2011].

- трофические язвы на нижних конечностях и дерматиты.

1. Апластический криз.

Данное осложнение характерно для наследственного микро-сфероцитоза и других врожденных ГА.

Этиологическим фактором, провоцирующим апластический криз, является парвовирусная инфекция – парвовирус В19. Это мелкий вирус диаметром 20-25 нм без внешней оболочки (для сравнения, вирус гриппа имеет размер 80-120 нм, герпес-вирус – 100-300 нм). Парвовирус В19 устойчив во внешней среде и сохраняет жизнеспособность при нагревании до 60°C в течение 16 часов. Вирус имеет тропность к клеткам-предшественникам эритроцитов, репродуцируется в них и вызывает их лизис.

Клинически апластический криз сопровождается: 1) тяжелой анемией (гемоглобин 40-60 г/л); 2) лихорадкой (повышение температуры тела выше 38-39°C); 3) симптомами интоксикации и полиартропатии (рвота, боль в животе, боли в коленных, лучезапястных, локтевых, пястно-фаланговых суставах); 4) эритемой (часто гиперемия на щеках, симптом носков, перчаток); 5) в миелограмме при исследовании костного мозга выявляются гигантские эритробласты (клетки, зараженные парвовирусом), на периферии – глубокая ретикулоцитопения (появляется на 5-й день и продолжается в течение 5-10 дней). В этот период гемоглобин снижается менее 40 г/л. Клетки эритроидного ростка в миелограмме отсутствуют, в то время как содержание нейтрофилов и тромбоцитов обычно в норме. Спустя 10 дней, если появляется ретикулоцитоз и выявляются в периферической крови нормобласты, то это указывает на период наступления выздоровления.

Диагноз парвовирусной инфекции В19 устанавливают при обнаружении антител класса IgM в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) «Parvavirus B19 IgM / Parvavirus B19 IgG». Иммуноглобулин IgM обнаруживается одновременно с появлением симптомов заболевания, и достигается максимум через 4 недели. Для большей достоверности (при отрицательных тестах) применяют парвовирус В19 иммуноблот IgM / IgG «RIA@ Blot Parvavirus B19». С помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) определяют одноцепочечную ДНК антигена вируса. Появление и увеличение содержания IgG к парвовирусу В19 указывает на выздоровление.

Лечение сводится к оказанию экстренной помощи в виде трансфузий эритроцитов. В качестве терапии может использоваться терапия глюкокортикоидами, внутривенным иммуноглобулином.

2. Мегалобластный криз.

Данный вид осложнения обусловлен дефицитом фолиевой кислоты, которая потребляется в огромном количестве на синтез новых эритроцитов. В биохимических процессах при участии витамина В12 (метилкобаламин) фолиевая кислота переходит в активную форму – тетрагидрофолиевая кислота, которая и принимает участие в синтезе нуклеиновой кислоты – тимидина. При ее дефиците нарушается синтез ДНК и теряется способность клеток к делению и созреванию; в костном мозге возникает мегалобластический тип кроветворения, появляются гигантские клетки миелопоэза и мегакариоцитопоэза. Это приводит к тому, что у таких пациентов течение заболевания значительно ухудшается, клиника стремительно может прогрессировать, а в анализах крови наряду с микроцитозом выявляются мегалобласты. Кроме того, в периферической крови может нарастать лейкопения и тромбоцитопения. Поэтому пациентам с врожденными гемолитическими анемиями любой природы показано назначение курсов фолиевой кислоты.

3. Желчнокаменная болезнь.

Ввиду хронического гемолиза с «оборотом» эритроцитов (и гемоглобина) за короткий период (в 5-10 раз выше) увеличивается содержание билирубина в крови, который проходит (для детоксикации) через печень, где осуществляется соединение с глюкуроновой кислотой, вследствие чего непрямо билирубин переходит в прямой. Далее билирубин в большом количестве поступает в составе желчи в желчный пузырь, где и происходит образование пигментных желчных камней. Образование камней желчного пузыря может наблюдаться, в том числе, и у детей, начиная с 4-5 летнего возраста. Поэтому при данном заболевании характерна желчнокаменная болезнь, которую часто диагностируют в молодом возрасте и для

лечения которой нередко требуется хирургическое удаление желчного пузыря.

4. Трофические язвы.

Чаще наблюдаются трофические нарушения кожи ног (преимущественно в области голени). Причиной трофических язв являются тромботические явления в сосудах, нарушения микроциркуляции и гипоксия тканей, обусловленная самой анемией. Трофические язвы характерны для большинства наследственных гемолитических анемий.

Диагностика

При исследовании мазка крови выявляются характерные микросфероциты, которые имеют вид мелких клеток без центрального просветления. Обнаружение в мазках микросфероцитов нестро-го специфично для наследственного сфероцитоза. Этот признак встречается при аутоиммунной гемолитической анемии (АИГА) с неполными тепловыми агглютининами, при наследственных дизэритропоэтических анемиях. Средний эритроцитарный объем (MCV) обычно в норме или слегка снижен, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH) нормальное или слегка выше нормы, средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC) увеличена или на верхних границах нормы у половины больных.

Количественным показателем сферичности эритроцитов служит их осмотическая стойкость. В связи с тем, что у микросфероцитов снижено отношение площади поверхности к объему, поэтому они не способны вместить много воды и, следовательно, легко гемолизируются в менее гипотоничных растворах, чем нормальные эритроциты. В норме максимальная осмотическая стойкость составляет от 0,32% до 0,34%, минимальная – от 0,46% до 0,48%, при микросфероцитозе – более 0,60%. Однако пока содержание микросфероцитов не превышает 1-2%, результаты этого исследования остаются в пределах нормальных значений.

Характерен ретикулоцитоз более 50%. В период гемолитического криза ретикулоцитоз может достигать 150-300%. Количество лейкоцитов при данном заболевании чаще нормальное, но во время кризов отмечается лейкоцитоз. Количество тромбоцитов нормальное, но после спленэктомии может быть повышенным свыше $400-650 \times 10^9/\text{л}$.

В миелограмме – красный росток резко раздражен. Иногда после гемолитического криза появляются мегалобласты, что связано с быстрым расходом фолиевой кислоты и ее дефицитом.

При нормальном функциональном состоянии печени и небольшом распаде эритроцитов содержание билирубина у больных наследственным микросфероцитозом вне криза может быть нормальным или незначительно выше нормы. Если у больного нет обтурационной желтухи (желчными конкрементами), уровень билирубина повышается за счет непрямо фракции. Однако при наличии обтурационной желтухи повышается и фракция прямого билирубина. В моче повышается содержание уробилина.

Дифференциальный диагноз

Необходимо проводить дифференциальную диагностику с АИГА, для которой характерна положительная проба Кумбса, отсутствие данных о начале заболевания с детства, отсутствие подобного заболевания у родственников. Также важно дифференцировать с несфероцитарными ГА, изучая мазки периферической крови и реакций, выявляющих нестабильные гемоглобины. Следует проводить дифференциальный диагноз с «печеночной» желтухой (при гепатитах, в частности, вирусной этиологии). Для вирусных гепатитов характерно повышение содержания аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспаратаминотрансферазы (АсАТ), общего билирубина (преимущественно прямой его фракции), а также обнаружение антител к вирусам гепатита, либо определение ДНК вируса методом ПЦР. При наличии же лабораторных признаков гемолиза (анемия, повышение непрямо билирубина, ретикулоцитоз) устанавливают диагноз «гемолитическая анемия». Если у больного определяется анемия, гипербилирубинемия за счет непрямо фракции и ретикулоцитопения, необходимо исключить наследственную дизэритропоэтическую анемию. Микросфероциты наблюдаются также при гемолизе, вызванном спленомегалией у больных циррозом печени, при кластридиальных инфекциях (столбняк, ботулизм, газовая гангрена, кластридиальные пищевые токсикоинфекции) и

укусом некоторых змей (вследствие действия гемолитического яда (фосфолипазы) на мембрану клеток).

Лечение

1. Спленэктомия является патогенетически обоснованным методом лечения анемии при наследственном микросфероцитозе, устраняющий анемию, но не дефект морфологии эритроцитов. Спленэктомия показана при: 1) тяжелой форме заболевания у детей не ранее 3-х летнего возраста; 2) средне-тяжелой форме – в возрасте 6-12 лет; 3) легкой форме, если у пациента выявлены камни в желчном пузыре и ему планируется одновременно выполнить спленэктомию и холецистэктомию, то оперативное вмешательство проводят в любом возрасте старше 6 лет; 4) при высокой билирубинемии и значительном ретикулоцитозе с нормальным содержанием Hb – в возрасте старше 6 лет (для предотвращения развития ЖКБ). Спленэктомия не показана лицам, у которых гемолиз компенсирован и нет кризового течения.

После спленэктомии могут развиваться следующие осложнения:

1) повышение уровня тромбоцитов с риском возникновения тромбозов легочных и мезентериальных сосудов; 2) повышенный риск инфекций, так как селезенка играет большую роль в формировании иммунитета, а ее удаление в детском возрасте может привести к увеличению частоты инфекционных заболеваний. Поэтому для профилактики тромбозов назначают гепарин, а для профилактики инфекций за 2 недели перед спленэктомией больным вводят подкожно или внутримышечно 0,5 мл очищенного полисахарида 23 штаммов микроба *Streptococcus pneumoniae*. Также рекомендуется проводить вакцинацию, особенно детям, с *Haemophilus influenzae* (тип b) и *Neisseria meningitidis* (трех типов – A, B и C). Пациентам, перенесшим спленэктомию, рекомендуется принимать антибиотики (феноксиметилпенициллин, препараты амоксициллина, эритромицин) от нескольких месяцев до 2 лет.

2. Трансфузии эритроцитов показаны при тяжелой анемии с уровнем гемоглобина менее 60 г/л во время гемолитического криза.

3. Хелаторная терапия может потребоваться пациентам, имеющим посттрансфузионную перегрузку организма железом, обусловленной многократными переливаниями эритроцитов. Применяют препараты: дефиразинокс (эксиджад по 20-40 мг/кг массы тела внутрь или джадену по 14-28 мг/кг), дефирозамин (десферал) по 40 мг/кг ежедневно в виде суточной инфузии капельно в/в, но может быть использован и для подкожного введения в виде недельных инфузий. Дозу дефирозамина можно увеличивать до 100 мг/кг в сутки.

4. Фолиевая кислота обязательно назначается больным врожденными ГА в связи с ее большим потреблением во время гемолиза и высокой регенерацией эритронов для профилактики, а иногда и лечения ее дефицита. Фолиевую кислоту назначают внутрь короткими, но постоянными курсами по 1-2 мг в день по 3 недели с перерывом на 1-2 месяца.

Наследственный эллиптоцитоз (код по МКБ10 – D 58.1)

Наследственный эллиптоцитоз (овалоцитоз) – врожденная гемолитическая анемия, характеризующаяся аутосомно-доминантным типом наследования с наличием высокого процента овальных (эллиптической формы) эритроцитов в периферической крови.

Эпидемиология

В крови здоровых лиц в норме может содержаться не более 5% овалоцитов (физиологический овалоцитоз). Для овалоцитоза характерно выявление более 5% овалоцитов, но гемолитическая анемия развивается при повышении их выше 25-75%. Заболевание распространено повсеместно, общая распространенность считается 1:1000 – 1:4000. Однако, вероятно, ее частота выше, так как встречаются пациенты с бессимптомным течением, у которых овалоцитоз в крови менее 30%. В эндемичных по малярии районах распространенность значительно выше и может составлять в Южно-Азиатском до 1:20, в Западной и Центральной Африке – до 1:50.

Патогенез

Заболевание относится к аутосомно-доминантному типу наследования. Характерными молекулярными дефектами являются мутации генов ответственных за белки – α - и β -спетрины.

В основе развития заболевания лежит дефицит белка, игра-

ющего роль в стабилизации взаимосвязи спектрина и актина в цитоскелете эритроцита. При прохождении через мелкие сосуды красной пульпы селезенки такой эритроцит деформируется, приобретая форму овала или эллипса без восстановления прежней дисковидной формы. Такое нарушение эластичности мембраны происходит вследствие дефицита белка в цитоскелете овалоцита.

Наиболее тяжелые формы заболевания обусловлены структурной аномалией спектрина с последующим нарушением сборки цитоскелета эритроцита. В то же время в некоторых семьях у пациентов обнаружен дефицит или дисфункция другого белка цитоскелета – протеина полосы мембраны эритроцита 4.1, связывающего спектрин и актин. Если имеет место гомозиготная форма, то у больного будет полное отсутствие этого белка, проявляющееся тяжелым гемолизом.

В Юго-Восточной Азии широко распространен наследственный эллиптоцитоз (овалоцитоз), обусловленный делецией гена протеина полосы мембраны эритроцита 3, который делает мембрану эритроцита ригидной и защищает эритроциты от проникновения малярийного плазмодия.

Клиническая картина

Врожденный эллиптоцитоз – гетерогенная группой заболеваний, среди которой наиболее часто встречаются:

- наследственный эллиптоцитоз с дискоидальными эллиптоцитами;
- сфероцитарный или овалоцитарный наследственный эллиптоцитоз;
- наследственный эллиптоцитоз с наличием стоматоцитов (называемый также меланезийским или южноазиатским овалоцитозом), при котором эритроциты имеют округлую форму с неокрашенным участком в центре эритроцита, ограниченным двумя изогнутыми линиями, соединенными по бокам.

Латентное течение наблюдается у 80–90% лиц с эллиптоцитозом (овалоцитоз) при котором нет клинических признаков, а заболевание обнаруживается случайно при исследовании клинического анализа крови и сборе семейного анамнеза. При латентном эллиптоцитозе может отмечаться укорочение продолжительности жизни эритроцитов, компенсаторное повышение ретикулоцитов в периферической крови и увеличения клеточности костного мозга за счет увеличения нормально созревающих эритробластов, а также незначительное повышение непрямого билирубина до 18-25 мкмоль/л. Часто отсутствуют анемия и желтушная окраска склер и кожных покровов. Описаны виды эллиптоцитоза с полиглобулией – увеличение числа эритроцитов с нормальным или незначительно сниженным содержанием гемоглобина.

Явное течение наблюдается у 5–10% больных и проявляется рядом симптомов.

1. Анемия носит легкое течение, но иногда чередуется короткими периодами тяжелой анемии в период гемолитического криза. Выраженный гемолиз (носит транзиторный характер) часто возникает после вирусной, бактериальной или протозойной инфекции, при дефиците витамина B12, у женщин – в период беременности).

2. Спленомегалия, обусловлена секвестрацией и гибелью эритроцитов (выраженная эллиптическая форма эритроцитов нарушает внутриселезеночное кровообращение).

3. Образование камней в желчном пузыре (ЖКБ).

4. Трофические язвы на голенях (редкое проявление болезни).

5. Костные аномалии.

Возможны даже апластические кризы, обусловленные парвовирусной инфекцией.

Диагностика

В периферической крови обнаруживаются овальные эритроциты (более 25%), срок жизни эритроцитов уменьшен. У здоровых лиц количество овалоцитов обычно не превышает 5%. В период отсутствия гемолиза содержание ретикулоцитов и билирубина в норме; при гемолизе отмечается ретикулоцитоз, повышение непрямого билирубина. Независимо от наличия или отсутствия анемии, 25-75% эритроцитов составляют овалоциты. При гемолизе часто обнаруживают микроовалоциты, пойкилоциты, шизоциты (обломки эритроцитов, они имеют остrokонечные выступы, которые образуются из-за неправильного соединения краев разорванной

мембраны). Число их увеличивается после спленэктомии. Между выраженностью гемолиза и содержанием овалочитов четкого соответствия нет. Осмотическая стойкость эритроцитов обычно в норме. Таким образом, в основе диагностики лежит увеличенное количество характерных форм эритроцитов и семейный анамнез. Генетическая диагностика в настоящее время не используется.

Дифференциальный диагноз

Дифференциальную диагностику следует проводить с В12-дефицитной анемией, при которой, в отличие от наследственно-овалоцитоза, отмечается поражение периферической нервной системы, заболевание возникает в более старшем возрасте, в миелограмме отмечается мегалобластический тип кроветворения. Симптоматический овалоцитоз часто наблюдается при первичном миелофиброзе. Однако исследование трепанобиопсии и пунктата костного мозга позволяют поставить диагноз гемобластоза.

Лечение

1. Спленэктомия – это патогенетический метод, позволяющий уменьшить гемолиз и выраженность анемии, но дефект морфологии эритроцитов сохраняется. Его применяют аналогично по тем же показаниям, что и при наследственном сфероцитозе.

2. Трансфузии эритроцитов показаны лишь при тяжелой анемии с уровнем гемоглобина менее 60 г/л во время гемолитического или апластического криза.

3. Фолиевая кислота также назначается короткими, постоянными курсами по 1-5 мг в день по 3 недели с перерывом.

Наследственный пиропойкилоцитоз (код по МКБ10 – D58.1 или D58 – другие наследственные гемолитические анемии)

Наследственный пиропойкилоцитоз – заболевание, характеризующееся аутосомно-рецессивным типом наследования, выраженным микросфероцитозом и микропойкилоцитозом (MCV ниже 50 фл), а также термической нестабильностью эритроцитов.

Патогенез

Наследственный пиропойкилоцитоз имеет ту же природу, что и наследственный овалоцитоз: недостаточность спектрина и нарушение его самосборки. Однако гемолитическая анемия протекает более тяжело, чем при овалоцитозе. При наследственном пиропойкилоцитозе у димеров спектрина снижена способность формировать тетрамеры. Этот дефект коррелирует с повышенной чувствительностью α -субъединиц к протеолизу.

Оба заболевания (пиропойкилоцитоз и овалоцитоз) встречаются в одних и тех же семьях, правда, наследственный пиропойкилоцитоз наблюдается редко, так как тип наследования аутосомно-рецессивный. Для него характерны пойкилоцитоз, микроцитоз и разрушение эритроцитов при нагревании до 45°C (нормальные эритроциты деформируются при температуре выше 50°C).

Клиническая картина

Гемолитическая анемия при наследственном пиропойкилоцитозе обычно тяжелая, проявляется с детства. У детей до года анемия часто протекает тяжело, с уровнем гемоглобина 50-55 г/л. Но после года (с возрастом) интенсивность гемолиза снижается. Чаще, чем при овалоцитозе, отмечается образование камней в желчном пузыре. При наследственном пиропойкилоцитозе описаны тяжелые апластические кризы, обусловленные парвовирусом В19.

При пиропойкилоцитозе в анализах периферической крови обнаруживаются эритроциты необычной причудливой формы, фрагментированные эритроциты, базофильная пунктация эритроцитов. Осмотическая стойкость эритроцитов снижена. При нагревании эритроцитов до 45-46°C происходит денатурация спектрина и последующая фрагментация эритроцитов, в то время как у здоровых детей и взрослых денатурация наблюдается при 49-50°C.

Лечение.

Если отсутствует анемия, лечение не требуется.

1. При развитии анемии с уровнем гемоглобина менее 60-65 г/л показаны трансфузии эритроцитов.

2. Многократные трансфузии могут приводить к перегрузке организма железом и развитию гемосидероза внутренних органов. Следовательно, эта категория пациентов должна быть расценена в качестве кандидатов на хелаторную терапию. Назначают дефиразирокс (эксиджад) по 20-40 мг/кг массы тела или джадену по 14-28 мг/кг внутри) или дефирозамин (десферал) по 40 мг/кг ежедневно

в виде суточной инфузии капельно внутривенно или подкожно.

3. При хроническом гемолизе даже без признаков анемии может развиваться дефицит витамина В9, что требует периодически приема фолиевой кислоты по 0,5-1 мг ежедневно по 3 недели с перерывом в 2 месяца.

4. В случае кризового течения и развития выраженной анемии рекомендуют проведение спленэктомии по тем же показаниям, что и при наследственном микросфероцитозе.

Наследственный стоматоцитоз (код по МКБ10 – D58.8)

Наследственный стоматоцитоз – группа заболеваний, наследуемых по аутосомно-доминантному типу, при которых повышается проницаемость мембраны эритроцитов для ионов калия и натрия, вследствие чего компенсаторно усиливается активный транспорт этих катионов.

Патогенез

Стоматоцитами называются эритроциты, имеющие с одной стороны вогнутую, с другой – выпуклую форму. В окрашенном мазке крови они имеют щелевидное просветление в центре.

У части больных эритроциты набухшие (гипергидратированные эритроциты), с высоким содержанием ионов Na^+ и воды и низким содержанием ионов K^+ , что обусловлено компенсаторным повышением активного транспорта натрия и калия $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ -азным насосом, функция которого в норме обеспечивает высокий уровень K^+ и низкое содержание Na^+ внутри клетки. При наследственном стоматоцитозе имеет место недостаточная работа этого насоса. При стоматоцитозе наблюдается относительно низкая концентрация гемоглобина в эритроците вследствие гидроцитоза (характерный признак наследственного стоматоцитоза). Такие эритроциты имеют низкую осмотическую стойкость в виду того, что у них и так уже гипергидратированное состояние, следовательно, добавление внутрь эритроцита воды приводит к гемолизу. У большинства больных генез заболевания обусловлен отсутствием в мембране эритроцитов белка полосы 7.2 – стоматина.

У другой части пациентов эритроциты сморщенные, с низким содержанием ионов и воды и высокой средней концентрацией гемоглобина (дегидратированные стоматоциты) – наследственный ксероцитоз. Для ксероцитов характерна нормальная или незначительно повышенная осмотическая стойкость. Тип наследования данного заболевания – аутосомно-доминантный.

Стоматоциты с укороченным сроком жизни встречаются у людей, у которых полностью отсутствуют антигены системы Rh (Rh-null).

Клинические проявления

1. Гемолитическая анемия при стоматоцитозе носит средний или тяжелый характер.

2. Спленомегалия выявляется у большинства больных.

3. Часто осложняется желчнокаменной болезнью.

4. При длительном течении, особенно у пациентов получающих многократные трансфузии эритроцитов, возникает избыток железа в организме.

5. Часто развивается дефицит фолиевой кислоты, что усиливает гемолиз эритроцитов и тяжесть анемии.

6. Иногда осложняется присоединением парвовирусной инфекции с развитием апластического криза.

Наследственный ксероцитоз в основном протекает нетяжело. Описаны проявления этого заболевания, сопровождающиеся самопроизвольными абортами, отеком плода.

Диагностика

В окрашенных мазках крови гипергидратированные эритроциты выглядят как типичные стоматоциты, для них характерно повышение MCV (в некоторых случаях до 150 fl) и снижение MCHC. В то же время дегидратированные эритроциты (ксероциты) имеют вид мишеней, а MCHC – повышено. В нативном препарате оба вида эритроцитов имеют чащеобразную форму. Осмотическая стойкость снижена у гипергидратированных стоматоцитов и повышена у дегидратированных. Спонтанный гемолиз усилен, но при добавлении перед инкубацией глюкозы – устраняется. Содержание ретикулоцитов повышено. Увеличен уровень непрямой фракции билирубина.

Дифференциальный диагноз

Наследственный стоматоцитоз следует дифференцировать с симптоматическим стоматоцитозом, наблюдаемым при употребле-

нии одномоментно большого количества алкогольных напитков и при лечении некоторыми химиопрепаратами, например, винкристином, винбластином, цитозаром, тиогуанином.

Лечение

1. Спленэктомия уменьшает выраженность гемолиза, но полностью его не устраняет. Показания к операции те же, что и при наследственном микросфероцитозе. Следует помнить, что при наследственном стоматоцитозе и наследственном ксероцитозе риск тромботических осложнений выше у больных, перенесших спленэктомию. Тромбозы не связаны с тромбоцитозом и плохо купируются непрямыми антикоагулянтами.

2. При анемии с гемоглобином менее 65 г/л показаны трансфузии эритроцитов.

3. Часто при ксероцитозе отмечается дефицит фолиевой кислоты, требующий ее коррекции.

4. При многократных трансфузиях может требоваться назначение хелаторной терапии, аналогично как при наследственном сфероцитозе.

2. Липидзависимые мембранопатии

Наследственный акантоцитоз (код по МКБ10 – D58 – другие наследственные гемолитические анемии)

Наследственный акантоцитоз – наследственная гемолитическая анемия, при которой характерным признаком является наличие эритроцитов с измененными формами в виде акантоцитов и эхиноцитов. Это вариант липидзависимой мембранопатии, при которой изменения структуры мембраны происходят вследствие нарушения включения свободного холестерина в мембрану эритроцита.

Патогенез, морфология

Акантоциты – это разновидность эритроцитов с 5-6 шиповидными выростами (острые зубчатые отростки) цитоплазмы различной длины и неравномерным их расположением на поверхности мембраны, которые определяются в периферической крови. Эхиноциты – эритроциты с большим числом отростков – до 30, распределенных по всей поверхности клетки. В центре такого эритроцита есть центральное просветление. Чаще акантоциты и эхиноциты встречаются в одном мазке крови у одного больного.

Акантоциты образуются путем активного включения (аккумуляции) свободного (неэстеризованного) холестерина в мембрану эритроцита, что приводит к уменьшению ее проницаемости. При прохождении через синусы селезенки, происходит ремоделирование патологически измененной мембраны, что приводит к ее выпячиванию в отдельных участках с образованием акантоцитов, а при повторном прохождении через синусы селезенки из-за сниженной способности к изменению формы акантоцитов происходит их гемолиз.

Встречается при: 1) тяжелом циррозе, 2) панкреатите,

3) абеталипопротеинемии (аутосомно-рецессивное заболевание, при котором невозможно переваривать пищевые жиры в кишечнике; в клинике анемия сочетается с неврологической симптоматикой и стеатореей).

Клинические проявления

1. Анемия характеризуется быстро прогрессирующим гемолизом, с низким содержанием гемоглобина, часто менее 50 г/л.

2. Выраженная желтушность кожных покровов, слизистых, склер.

3. Нередко наблюдается спленомегалия.

Дифференциальный диагноз

Дифференциальный диагноз наследственного акантоцитоза необходимо проводить у больных, которым проведена спленэктомия, при алкоголизме, после приема лекарственных препаратов (салицилаты, индометацин, фуросемид), при тяжелом поражении печени, при застойной спленомегалии, при абеталипопротеинемии (характеризуется стеатореей, неврологической симптоматикой), при синдроме Бассена-Корнцвейга, при синдроме Мак-Лауда (в мазках крови будет выраженный акантоцитоз, обусловленный отсутствием белка Кх, предшественника антигенов системы Келл), а также иногда наблюдается у новорожденных детей, особенно при недоношенности, что может расцениваться как вариант нормы.

Лечение

1. При тяжелой анемии с уровнем гемоглобина менее 60 г/л, а также при быстром прогрессировании анемии показаны трансфузии донорских эритроцитов.

2. С учетом снижения продолжительности жизни эритроцитов при акантоцитозе из-за повышенной секвестрации их в селезенке, таким больным может быть рекомендована спленэктомия, которая способствует значительному улучшению течения заболевания (см. раздел 2.1.1).

Тем не менее, если акантоцитоз обусловлен заболеванием печени с портальной гипертензией (цирроз), спленэктомия может резко ухудшить течение заболевания, что необходимо учитывать при принятии решения о спленэктомии.

3. Фолиевая кислота по 0,5-1 мг ежедневно, курсами по 3 недели с перерывами в 2-3 недели.

Таким образом, в данной части лекции изложена информация по патогенезу, диагностике, особенностям клинической картины, классификации гемолитических анемий, а также представлены детальные описания отдельных нозологических форм наиболее часто встречаемых наследственных гемолитических анемий, связанных с нарушением мембраны эритроцита. В следующей части лекции будет продолжено изложение группы наследственных гемолитических анемий, обусловленных нарушением активности ферментов эритроцита, а также нарушением структуры или синтеза гемоглобина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анемии. Клиника, диагностика и лечение / Стуклов Н.И., Альпидовский В.К., Огурцов П.П. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2013. – 264 с.
2. Анемии. Краткое руководство для практических врачей всех специальностей под ред. О.А. Рукавицына 2-е издание, переработанное и дополненное. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 352 с.
3. Клинические рекомендации: Наследственный сфероцитоз у детей/ М., 2016 [Электронный ресурс] <https://kiberis.ru/?p=50195> (дата обращения 25.01.2022).
4. Клинические рекомендации по диагностике и лечению аутоиммунной гемолитической анемии (АИГА) у взрослых/ Национальное гематологическое общество. М.: 2018. – 22 с. [Электронный ресурс] https://npngo.ru/uploads/media_document/291/84cbcae5b-518f-4a7d-b081-88f7fb016fc.pdf (дата обращения 12.03.2021).
5. Рациональная фармакотерапия в гематологии / под ред. профессора О.А. Рукавицына. – Москва: Литера, 2021. – 784 с.
6. Танкаева Х.С., Е.Б. Жибурт. Переливания крови при талассемии у детей// Вестник ДГМА. – 2018. – Т. 26, №1. – С. 71-77.
7. Шабалов Н.П. Неонатология: в 2 т. Том 1: учебное пособие – 6-е изд., испр. и доп. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 704 с.
8. Bolton-Maggs P.H.V., Langer J.C., Iolascon A. et al. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis. – Br. J. Haematol. – 2011. – Vol. 156. – P. 37-49.

**VII ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ИНФЕКЦИИ И ИНФЕКЦИОННАЯ
БЕЗОПАСНОСТЬ В ГЕМАТОЛОГИИ И СЛУЖБЕ КРОВИ»
14-15 АПРЕЛЯ 2022 ГОДА, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ**

Абдрахманова С.А.¹, Имашпаев Д.М.¹, Савчук Т.Н.¹, Саусакова С.Б.^{1,2}, Садвакасова Д.Г.¹

УРОВЕНЬ АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В КРОВИ ДОНОРОВ

¹ Научно-производственный центр трансфузиологии Министерства здравоохранения Республики Казахстан, г. Нур-Султан, Казахстан

² Медицинский университет Астана, г. Нур-Султан, Казахстан

Введение. Аланинаминотрансфераза (АЛТ) является суррогатным маркером вирусных гепатитов (ВГ). Определение активности АЛТ входит в обязательные скрининговые исследования всех донаций крови в Китае, Австралии, Израиле, Японии (8-49 Ед/л), Корею (мужчины <30 Ед/л и женщины <19 Ед/л), Индии (<30 Ед/л). Повышение уровня АЛТ может быть вызвано в том числе различными гетерогенными факторами образа жизни, не связанными с вирусными инфекциями и не представляющими прямой угрозы безопасности крови.

Цель. Определить активность АЛТ в крови доноров.

Материалы и методы. Данное кросс-секционное исследование проводилось в 2021 году на базе Научно-производственного центра трансфузиологии Министерства здравоохранения Республики Казахстан. Образцы крови доноров были обследованы на АЛТ. Референсные значения для мужчин <43 Ед/л, женщин <36 Ед/л. Также для изучения культуры питания была разработана специальная анкета.

Статистическая обработка полученных в ходе исследования данных проводилась с помощью программы SPSS 23.0. Статистически значимыми результатами считались показатели ниже $p < 0.05$.

Результаты. В исследовании приняли участие 2703 человек в возрасте от 18 до 66 лет, удельный вес мужчин и женщин составил 66,82% (1806) и 33,18% (897), соответственно. Средний возраст участников составил 35,7 лет.

Отмечается повышение уровня АЛТ выше нормы у 5,55% (150) доноров, в том числе у 5,2% (94) и 6,24% (56) из общего числа мужчин и женщин, соответственно. Уровень АЛТ был выше у мужчин 25,7 Ед/л (20,7-32,9), чем у женщин – 21,3 Ед/л (16,8-25,8) ($p < 0.05$).

Среди всех возрастных групп, показатель АЛТ был выше у доноров от 30 до 39 лет – 25,6 Ед/л (20,40-32,90), низкий показатель в группе от 18 до 29 лет – 22,4 Ед/л (18,05-28,20). Обнаружена прямая взаимосвязь между возрастом и уровнем АЛТ в крови, коэффициент корреляции $r = 0.126$ ($p < 0.05$).

Анализ культуры питания показал статистически значимые различия между донорами с нормальным и повышенным уровнем АЛТ ($p < 0.05$). Повышенный уровень АЛТ отмечается среди доноров, которые придерживаются двухразового питания в день – 48,2 Ед/л (46,0-70,8) против трехразового питания 46,0 Ед/л (39,7-56,3), потребляют овощи несколько раз в день – 51,53±13,52 Ед/л против доноров, редко включающих их в рацион 49,25 Ед/л (46,00-67,43), имеют проблемы с холестерином – 72,0±16,97 Ед/л против доноров без проблем 46,0 Ед/л (36,0-57,3).

Необходимо отметить, что после внедрения скрининга АЛТ до донации, показатель ВГВ, выявляемого у доноров, снизился с 433 случаев в 2014 году до 141 в 2018 году.

Выводы. В Казахстане предварительное обследование, включающее определение уровня АЛТ, входит в медицинское освидетельствование доноров, при производстве продуктов крови для медицинского применения. Повышение активности АЛТ может являться одной из причин медицинских отводов от донорства и абсолютного брака. Однако, отдельное исследование активности АЛТ не позволяет точно определить, инфицирован ли пациент вирусными гепатитами или другими заболеваниями. В связи с этим, необходим комплексный подход при выявлении ВГВ у доноров.

Альшаник Л.П.¹, Маслова Н.А.², Афиногенова А.Г.¹

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (2019-NCOV)
НА ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И ИХ ЦИРКУЛЯЦИЮ В СПБ ГБУЗ ДГБ № 2 СВЯТОЙ
МАРИИ МАГДАЛИНЫ В 2019-2021 ГОДАХ**

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

²СПб ГБУЗ ДГБ №2 Святой Марии Магдалины, Санкт-Петербург, Россия

Цель исследования. Оценить влияние новой коронавирусной инфекции на циркуляцию патогенных микроорганизмов и изучить изменение их чувствительности к антибиотикам в многопрофильном детском стационаре.

Материалы и методы. Материал от больных детского стационара. Видовую идентификацию бактерий, оценку их этиологической значимости, определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводили классическими бактериологическими методами и на бактериологическом анализаторе Microscan AutoScan-4.

Результаты. Получены данные по чувствительности для Enterococcus faecium устойчивых к ванкомицину; Staphylococcus aureus устойчивых к цефокситину; Acinetobacter baumannii,

Pseudomonas aeruginosa устойчивых к меропенему, имипенему; Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae устойчивых к меропенему. Показано, что у S. aureus за 2020 год снизилась высеваемость, но увеличилось количество устойчивых штаммов с 3% до 4,8%. Высеваемость у K. pneumoniae, E. coli увеличилась с 30% до 37% при неизменных данных чувствительности. Для P. aeruginosa в 2020 году отмечено снижение высеваемости при росте устойчивости к меропенему. В 2021 году отмечена тенденция к снижению высеваемости и устойчивости указанных патогенов к антибиотикам, но при этом наблюдали активный рост A. baumannii и усиление его устойчивости к меропенему (mer) и имипенему (imp).

№ п/п	Микро-организм	2019 год		2020 год		2021 год	
		% высеваемости	% устойчивости	% высеваемости	% устойчивости	% высеваемости	% устойчивости
1.	Staphylococcus aureus	48,4%	3 %	28,1 %	4,8 %	23,5 %	2,4 %
2.	Enterococcus faecium	45,7 %	0 %	20 %	0 %	34,3%	0 %
3.	Klebsiella pneumoniae	29,6 %	0 %	37 %	0 %	33,4 %	0 %
4.	Acinetobacter baumannii	0 %	0 % mer 0 % imp	33,4 %	0 % mer 0 % imp	66,4 %	25 % mer 25 % imp
5.	Escherichia coli	30,1 %	0 %	37,4 %	0,4 %	32,5 %	0 %
6.	Pseudomonas aeruginosa	42,6 %	8,7 % mer 56,5 % imp	27,8 %	26,7 % mer 7,7 % imp	29,6 %	0 % mer 0 % imp

Заключение. Отмечено влияние пандемии новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV) в 2020 году на циркуляцию и изменение антибиотикорезистентности этиологически значимых изолятов. Число основных патогенных микроорганизмов стало значительно меньше, чем в 2019 году, но при этом увеличилась их устойчивость к антибиотикам. Видимо, это связано с тем, что оказание медицинской помощи в 2020 году было затруднено, количество пациентов сокращено, плановая госпитализация и перевод пациентов из стационара в стационар частично приостановлены, более тщательно

проводилась дезинфекция и обработка поверхностей. При этом в 2021 году отмечена негативная тенденция к увеличению циркуляции штаммов *A. baumannii* в детском многопрофильном стационаре и их устойчивость к карбапенемам. Считаем, что в дальнейшем возможно усиление этих процессов, что требует постоянного мониторинга этиологически значимых изолятов и наблюдение за сложившейся ситуацией.

Асланов Б.И., Долгий А.А.

БАКТЕРИОФАГИ В ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ В ГЕМАТОЛОГИИ В УСЛОВИЯХ ГЛОБАЛЬНОЙ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Текущая глобальная тенденция к росту устойчивости бактерий к антибиотикам существенно ограничивает арсенал средств для борьбы с устойчивыми микроорганизмами. Угрожающие масштабы приобретает развитие антибиотикорезистентности и у возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), в том числе у пациентов гематологического профиля.

Цель. Обоснование целесообразности и эффективности применения бактериофагов для профилактики и лечения ИСМП.

Материалы и методы. Анализ собственных и литературных данных по проблеме.

Результаты. Инфекционные осложнения, обусловленные полиантибиотикорезистентными штаммами, являются одной из основных причин летальности у пациентов с онкогематологическими заболеваниями. Пониженный иммунный статус, часто наблюдающийся среди пациентов онкогематологического профиля, приводит к высокому риску возникновения инфекционных осложнений. Факторами, ассоциированными с развитием инфекционных осложнений, также являются тяжелое состояние, перевод из другого стационара, гуморальный иммунодефицит, почечная недостаточность. Учитывая выраженную иммуносупрессию у данной группы пациентов, вероятность развития смешанных инфекций также достаточно высока (Martin R.M., 2018; Чеботкевич В.Н. и др., 2016).

В исследованиях В.Н. Чеботкевича и др., 2016 было показано, что инфекционные осложнения у пациентов онкогематологического профиля вызывают как грамположительные, так и грамотрицательные микробы. Среди грамположительных бактерий наиболее частыми патогенами были коагулазонегативные стафилококки и золотистый стафилококк (58,8 %), среди грамотрицательных – кишечная палочка (13,0 %), *Klebsiella spp.* (3%) и *Pseudomonas spp.* (1,5%). При этом часто терапия и профилактика инфекционных осложнений у онкогематологических больных сопровождаются

развитием нарастающей резистентности возбудителей к антибиотикам (Багирова Н.С., 2015).

В сложившихся условиях одним из эффективных компонентов борьбы с бактериальными инфекциями, в том числе вызванными антибиотикорезистентными штаммами, может стать использование бактериофагов.

Накоплен большой практический опыт, демонстрирующий возможность одновременного использования бактериофагов с другими антимикробными препаратами. Предупреждение формирования антибиотикорезистентных штаммов при помощи сочетанного применения фагов и антибиотиков является высокоперспективной задачей.

В наших исследованиях (Асланов Б.И., Зуева Л.П., 2012, 2016, 2017) проводилась оценка терапевтической и противоэпидемической эффективности бактериофагов среди пациентов различного профиля, в том числе в отделениях реанимации для взрослых и новорожденных. У всех пациентов, получавших фаготерапию, был отмечен выраженный клинический эффект. Помимо достижения положительных клинических результатов, целью применения высокоактивных фагов было также достижение эпидемиологического эффекта. После начала применения фагов наблюдались существенные изменения в эпидемической ситуации в стационарах вплоть до полной элиминации штаммов микроорганизмов, вызвавших вспышки ИСМП.

Выводы. В условиях значительного повышения устойчивости к антибиотикам возбудителей ИСМП особенно остро стоит вопрос о необходимости применения других антимикробных средств – препаратов бактериофагов, перспективных для лечения и профилактики ИСМП, в том числе в гематологии. При условии бактериологического контроля бактериофаги могут быть эффективным лекарственным средством против полиантибиотикорезистентных штаммов возбудителей ИСМП.

Афиногенова А.Г.^{1,2}, Афиногенов Г.Е.², Спиридонова А.А.¹, Матело С.К.³

АНТИСЕПТИЧЕСКАЯ ПОЛИМЕРНАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛОКАЛИЗАЦИИ ИНФЕКТА И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ БАКТЕРИЕМИИ

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

² ФГБОУ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

³ ООО «Диарси Центр», Москва

Введение. Несмотря на достаточно широкий набор материалов для иммобилизации лекарственных веществ, наибольший интерес представляют биодegradуемые носители на основе высокомолекулярного поливинилпирролидона (ПВП), обладающие сорбционными свойствами, обеспечивающие длительное присутствие антибактериальных веществ в ране, их местное использование как в целях профилактики при металлоостеосинтезе, так и для лечения хирургических инфекций.

Цель исследования состояла в создании антимикробной композиции на основе ПВП, антиоксидантного компонента и антисептиков и оценке ее способности предупреждать бактериемию и локализовать инфекцию.

Материалы и методы. Исследования проводили в эксперименте *in vivo* на модели дермонекроза у кроликов. α -токсин (гемолизин) *S. aureus* обладает, наряду с гемолитическим действием, нейротоксическим и дермонекротическим эффектом, участвует в образовании биопленок. Кроликам вводили внутривенно 0,1 мл гемолизина (надсадочная жидкость после центрифугирования суточной бульонной референс-культуры *S. aureus* 209 P «Оксфорд» на физрастворе) для проведения теста на дермонекроз. Через 48 часов животных выводили из эксперимента и проводили гистологическое исследование кожи в области поражения токсином стафилококка. В дальнейшем в опытах по оценке способности антимикробной полимерной композиции препятствовать проникновению условно-патогенных микроорганизмов из раны в кровь на модели дермонекроза кроликам вводили внутривенно суточную взвесь бульонной культуры *S. aureus* 209 P «Оксфорд» в дозе 1×10^9 КОЕ/мл на физиологическом растворе. В опыте животным вводили взвесь культуры стафилококка на разработанной композиции на основе ПВП. Через 6 часов, 24 часа и 48 часов после введения микроба у

всех экспериментальных животных забирали кровь из ушной вены и проводили микробиологический анализ гемокультур для выявления роста тест-штамма стафилококка. Посевы осуществляли во флаконах для аэробных бактерий на микробиологическом анализаторе BacT/Alert фирмы bioMerieux, Франция. Выросший во флаконах стафилококк идентифицировали с помощью бактериологического анализатора Vitek2 фирмы bioMerieux, Франция.

Результаты. Разработана антисептическая композиция на основе высокомолекулярного ПВП, унитиола, антисептиков бензалкония хлорида, повидона, диоксида (патент RU2649785). В контроле после введения гемолизина на физрастворе гистологический препарат лоскута кожи свидетельствует о наличии острого гнойно-некротического воспаления со слабым отграничением от окружающей ткани молодыми грануляциями и признаками дистрофии, отека и некроза. В опыте после введения токсина на разработанной композиции гистологический препарат фрагмента кожи демонстрирует участок разрастания созревающей грануляционно-фиброзной ткани с мелкими очаговыми скоплениями макрофагов и плазмочитов. Результаты патоморфологического исследования подтверждают высокий антиинфекционный (детоксицирующий) эффект композиции на высокомолекулярном поливинилпирролидоне. Анализ бактериологических посевов венозной крови животных через 6, 24 и 48 часов показал отсутствие роста тест-штамма стафилококка после введения микробной культуры на разработанной антисептической композиции с ПВП в отличие от контрольных животных, у которых наблюдали рост стафилококка в крови во всех случаях.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что антимикробная композиция на основе высокомолекулярного поливинилпирролидона обладает антиоксидантным эффектом и способностью предупреждать бактериемию за счет локализации инфекта.

Баховадинов Б.Б.², Одиназода А.А.¹, Певцов Д.Э.¹, Кубиддинов А.Ф.¹, Барышев Б.А.², Кулагин А.Д.²

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ВСТРЕЧАЕМОСТИ ИНФЕКЦИЙ СРЕДИ ДОНОРОВ РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН И ГОРОДА САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

¹ ГУ «Республиканский научный Центр крови», г. Душанбе, Таджикистан

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург

Введение. Инфицирование вирусными инфекциями реципиентов донорской крови и ее компонентов все еще остается серьезнейшей проблемой современной медицины. Данные об инфицированности гемотрансмиссивными инфекциями в зарубежных странах как правило рассчитывают на 100 000 человек в связи с этим в ежегодные отчеты о деятельности учреждений службы крови включают показатели распространенности (prevalence) и встречаемости (incidence). Распространенность инфекции определяют как отношение числа первичных доноров с полученными положительными результатами скрининга к числу первичных доноров. Встречаемость – отношение числа повторных доноров с выявленными положительными результатами скрининга к числу повторных.

Цель исследования. Изучить распространенность и встречаемость маркеров гемотрансмиссивных инфекций среди различных категорий доноров Республиканского научного Центра крови (РНЦК) Республики Таджикистан и отделения переливания крови ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Минздрава России (ПСПбГМУ) за 2019-2021 годы.

Методы исследования. Образец крови от каждой донорки обследовали на маркеры четырех гемотрансмиссивных инфекций иммуноферментным методом: вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) (антиген р24 ВИЧ-1 и антитела к ВИЧ-1/2), вирус гепатита В (ВГВ) (поверхностный антиген ВГВ, HBsAg), вирус гепатита С (ВГС) (антитела к ВГС); сифилис (антитела класса М и G к бледной трепонеме). Исследовали пробы крови 162776 доноров РНЦК, из них 85662 первичных доноров и 77114 регулярных доноров, 21755 доноров ОПК ПСПбГМУ, из них 11850 первичных и 9905 регулярных. Методом ПЦР образцы крови всех доноров РНЦК и ОПК были исследованы в отдельных пробах без пулирования.

Результаты и обсуждение. Как видно из приведенных в таблице 1 результатов, показатель распространенности инфекций у первичных доноров РНЦК значительно выше по сравнению с донорами ОПК ПСПбГМУ. Показатель распространенности гепатита С среди первичных доноров РНЦК составил 1568,9, ОПК ПСПбГМУ – 244,7, т.е. был больше в 6,41 раза, по гепатиту В – 2759,6 и 92,8, соответственно больше в 29,7 раза, по сифилису – 1705,5 и 211, т.е. больше в 8,08 раза, по ВИЧ, соответственно, больше в 7,7 раза (250,9 и 92,8).

Таблица 1

Распространенность гемотрансмиссивных инфекций у первичных доноров крови

Маркеры инфекций	Первичных доноры РНЦК (n=85 662)		Первичные доноры ОПК (n=11 850)	
	Абсолют.	Распространенность	Абсолют.	Встречаемость
HCV	1344	1568,9	29	244,7
HBV	2364	2759,6	11	92,8
Anti-pallidium	1461	1705,5	25	211,0
HIV	215	250,9	11	92,8
Всего	5 384	6285,2	76	641,3

Как видно из приведенных в таблице 2 результатов, встречаемость инфекций среди доноров РНЦК оказалась меньше по сравнению с донорами ОПК, по гепатиту С соответственно 19,4 и 181,7,

меньше в 9,36 раза, по гепатиту В 16,8 и 50,4, меньше в 3 раза, по ВИЧ 0 и 10,0, по сифилису 28,5 и 141,3 или меньше в 4,95 раза.

Таблица 2

Встречаемость гемотрансмиссивных инфекций у регулярных доноров крови

Маркеры инфекций	Повторные доноры РНЦК (n=77 114)		Регулярные доноры ОПК (n=9 905)	
	Абсолют.	Встречаемость	Абсолют.	Встречаемость
HCV	15	19,4	18	181,7
HBV	13	16,8	5	50,5
Anti-pallidium	22	28,5	14	141,3
HIV	0	0	1	10,0
Всего	50	64,8	38	383,6

Заключение. Высокие показатели распространенности гемотрансмиссивных инфекций у первичных доноров РНЦК связано с их высокой распространенностью среди населения Таджикистана. Низкие показатели встречаемости инфекций у регулярных доноров являются результатом укомплектования регулярными донорами из группы населения с более низким риском по инфекциям, возможно меньшим рискованным поведением в результате просве-

дательской работы сотрудников учреждений службы крови. Низким показателям встречаемости инфекций способствовала также практика ПЦР тестирования крови доноров в отдельных пробах без пулирования. Считаем возможным обсуждение проблемы внедрения ПЦР тестирования крови доноров в индивидуальных пробах с прекращением практики иммуноферментного тестирования.

Бойченко Э.Г.

ИНФЕКЦИОННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ХИМИОТЕРАПИИ ГЕМОБЛАСТОЗОВ У ДЕТЕЙ

СПбГБУЗ «Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий», Санкт-Петербург

Введение. Проблема дальнейшего улучшения выживаемости при острых лейкозах у детей остается актуальной, и одной из возможностей является снижение летальности от токсических осложнений химиотерапии. Вторичная иммуносупрессия является причиной высокого риска развития инфекционных осложнений, особенно у детей, получающих протоколы высокого риска (Kaul S, van Tiburg CM). Инфекциям принадлежит основная роль в структуре летальных осложнений (Lex C, Rahiala J).

Цель. Изучить особенности и распределение летальных осложнений на разных этапах программной терапии острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей.

Материалы и методы: Проведен анализ летальности на протоколе ОЛЛ-Москва-Берлин с использованием клинических, микробиологических, статистических методов исследования для изучения клинических исходов инфекционных осложнений химиотерапии. Проведен анализ литературы.

Результаты. Анализ летальности в исследовании ОЛЛ-Москва-Берлин 2015, в которое за период с 2015 по 2020 было включено 4031 пациента, продемонстрировал, что показатель «смерть в индукции» составил 2,76% (80% – инфекции), «смерть в ремиссии» – 2,1% (90% – инфекции).

Существует отчетливая зависимость частоты и тяжести осложнений от глубины и продолжительности нейтропении. Поскольку

больные в состоянии нейтропении не способны сформировать очаговой инфекции как таковой, на первый план выступает такое состояние как фебрильная нейтропения (ФН). Вероятность трансформации ФН в сепсис нарастает по мере возрастания кратности цитопенических состояний, осложнившихся формированием воспалительного очага. Ведущее значение в развитии сепсиса принадлежит иммуносупрессии, особенно неспособности иммунной системы локализовать возбудителя в месте первичного очага инфекции.

Особенности инфекций у больных с нейтропениями:

- слабый локальный воспалительный ответ;
- небольшое число локализаций (пневмонии, целлюлиты, периодонтиты, синуситы);
- склонность к фульминантному течению;
- самое частое проявление – лихорадка неясной этиологии.

Сепсис представляет собой генерализованную форму гнойно-воспалительной инфекции, вызванную условно-патогенной бактериальной микрофлорой, основой патогенеза которой является бурное развитие системной воспалительной реакции организма в ответ на первичный септический очаг [Goldstein B., et al., 2005].

Анализ индукционной летальности: ведущими причинами летальных исходов были инфекционные (86%) и геморрагические (14%) осложнения в состоянии депрессии кроветворения (92%). Анализ летальных исходов в ремиссии: основная причина – тяжелая ге-

нерализованная инфекция, вызванная устойчивой к антимикробной терапии госпитальной флорой. Терапия сепсиса проводится одновременно в двух основных направлениях:

I. Воздействие на инфекционное начало заболевания: – санацию первичного и метастатических очагов, – антибактериальная терапия и коррекция измененного биоценоза локусов тела ребенка, контактирующих с внешней средой.

II. Воздействие на организм больного: терапия, направленная на восстановление расстройств гомеостаза, включая нарушения иммунного гомеостаза (иммунокорректирующая терапия) и органные расстройства.

Рациональная антибактериальная терапия предусматривала: максимально раннее начало (в первые 2-3 часа); максимальные дозы

и кратность введения; внутривенный путь введения; использование бактерицидных антибиотиков; комбинированную антибактериальную терапию.

Выводы:

1. Постцитостатическая нейтропения является частым и серьезным последствием цитостатической терапии.

2. ФН ассоциируется с высокой заболеваемостью, летальностью и стоимостью терапии, приводит к потенциальному компромитированию результатов терапии.

3. Совершенствование стандартов сопроводительного лечения в отношении профилактики и лечения инфекционных осложнений на всех этапах программной терапии является резервом улучшения выживаемости и исхода у больных с острыми лейкозами.

Вяткина О.И.

СТРАТЕГИЯ МИНИМИЗАЦИИ РИСКА МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ОДНОГО ЦЕНТРА

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», Минск, Республика Беларусь

Введение. Проблема микробиологической безопасности сохраняет свою актуальность для организаций, заготавливающих донорскую кровь. Оптимизация скрининга, антисептическая обработка кожи локтевого сгиба донора в месте венопункции, отвод первой порции донорской крови, внедрение патогенредуцирующих технологий привело к снижению частоты бактериальной контаминации компонентов крови, но не устраняет риск полностью. Поэтому разработка актуальной стратегии по многоэтапному мониторингу рисков микробной контаминации в процессе заготовки и хранения компонентов крови до их реализации и её совершенствование являются актуальной задачей службы крови.

Цель. Оценить эффективность используемой стратегии по оценке риска микробной контаминации компонентов крови в государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» (далее – РНПЦ ТМБ) Министерства здравоохранения Республики Беларусь (далее МЗ РБ) с учётом существующих в настоящее время рекомендаций FDA и EDQM.

Материалы и методы. Материалом исследования служили результаты оценки риска микробной контаминации тромбоцитных, эритроцитных компонентов крови и компонентов плазмы, отобранных для проведения испытания через 24 часа от момента заготовки и в конце срока хранения в отделении заготовки крови и её компонентов в стационарных условиях РНПЦ ТМБ. Проанализированы результаты испытаний компонентов крови в период с 2011 по 2021 год. Всего исследовано 4614 доз эритроцитных, 4333 дозы тромбоцитных компонентов крови и 4595 доз компонентов плазмы. В течение анализируемого периода стратегия по оценке риска микробной контаминации компонентов крови была следующей:

2011 – 2018 – одноэтапная стратегия (отбор образцов через 24 часа от момента заготовки, объём образца - не менее 15 мл, метод испытания – автоматический анализатор гемокультур BacT/ALERT 3D с использованием двух культуральных флаконов: флаконы SA Culture Bottles (для выделения аэробных гемокультур) и флаконы SN Culture Bottles (для выделения анаэробных гемокультур), длительность инкубации – 7 суток;

2019 – 2021 - двухэтапная стратегия (отбор образцов через 24 часа от момента заготовки и в конце срока хранения, объём образца на каждом этапе контроля - не менее 15 мл, метод испытания – автоматический анализатор гемокультур BacT/ALERT 3D с использованием двух культуральных флаконов: флаконы SA Culture Bottles (для выделения аэробных гемокультур) и SN Culture Bottles (для выделения анаэробных гемокультур), длительность инкубации – 7 суток.

Результаты. Была проанализирована частота положительных результатов микробиологического анализа компонентов крови, отобранных в процессе их заготовки и в конце срока хранения в РНПЦ ТМБ.

В период с 2011 по 2015 год ежегодно регистрировалось от 3 до 5 случаев бактериальной контаминации компонентов крови (в основном за счёт эритроцитных компонентов, в меньшей степени тромбоцитных компонентов и компонентов плазмы), в 2016-2017 году регистрировались единичные случаи, а с 2018 года случаев бактериальной контаминации компонентов крови не фиксировалось, что явилось причиной пересмотра стратегии по оценке риска микробной контаминации компонентов крови в связи с возможным снижением её эффективности. После внедрения в 2019 году двухэтапной стратегии оценки риска микробной контаминации компонентов крови случаев бактериальной контаминации компонентов также не фиксировалось, однако было отмечено увеличение количества ложноположительных результатов при проведении испытаний тромбоцитных и эритроцитных компонентов крови в конце срока хранения с использованием флаконов SN Culture Bottles (для выделения анаэробных гемокультур) на 11,3 % в сравнении с количеством ложноположительных результатов испытаний при проведении оценки риска микробной контаминации компонентов крови, отобранных через 24 часа от момента заготовки.

Выводы. Использование двухэтапного подхода, включающего отбор и анализ образцов для исследования через 24 часа от момента заготовки и в конце срока хранения, является эффективной стратегией микробиологического мониторинга компонентов крови в процессе заготовки.

Голованова И.С., Касьянов А.Д.

К ВОПРОСУ О БАКТЕРИАЛЬНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КОНЦЕНТРАТА ТРОМБОЦИТОВ

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии федерального медицинского биологического агентства»

Введение. Трансфузии концентрата тромбоцитов являются в настоящее время общепринятым методом профилактики и коррек-

ции геморрагического синдрома при тромбоцитопении у гематологических, онкологических, кардиохирургических пациентов, а так-

же при проведении химио- и лучевой терапии, при трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток. В 2019 году в Российской Федерации (РФ) заготовлено 1012883 дозы концентрата тромбоцитов (КТ), что на 12,8% больше, чем в 2018 г. Поэтому большое внимание уделяется качеству и безопасности КТ. Качество и безопасность КТ складываются из нескольких аспектов: – соответствие и сохранность параметров в период хранения; – иммунологическая безопасность, – бактериальная безопасность, которая включает отсутствие бактериальной контаминации и снижение рисков передачи гемотрансмиссивных инфекций. Поэтому актуален поиск оптимальных способов заготовки и методов обработки концентрата тромбоцитов для максимального снижения риска посттрансфузионных реакций у пациентов связанными с бактериальной контаминацией и аллоиммунизацией. В значительной степени это достигается эффективным применением современного оборудования, рациональным использованием донорского потенциала, а также внедрением новых трансфузиологических технологий. Лейкодеплеция является одним из самых доступных методов повышения качества КТ, позволяющим снизить частоту трансфузионно-опосредованной иммуномодуляции, аллоиммунизации к HLA антигенам класса I, развитию фебрильных посттрансфузионных негемолитических реакций, а также уменьшить риск передачи лейкоцитассоциированных инфекционных агентов.

Цель. Контроль качества концентрата тромбоцитов с целью недопущения бактериальной контаминации

Материалы и методы. Материалом для исследования являлись образцы КТ, полученные методом афереза, лейкоредуцированные, заготовленные производственными подразделениями института. Образцы компонентов крови предназначались для выполнения лабораторных исследований контроля по безопасности и качеству, предусмотренными Правилами № 797. Исследуемыми параметрами КТ являлись: остаточные клетки (лейкоциты); количество тромбоцитов; рН (при +22 °С) в конце рекомендованного срока хранения, стерильность. Определение содержания тромбоцитов проводили на гематологическом анализаторе «Medonic M-Series» (Boule Medical AB, Швеция). Измерение рН КТ проводили с помощью

рН-метра (Starter 2100). Определение остаточных лейкоцитов проводили на аппарате для подсчета остаточных лейкоцитов «ADAM-rWBC». Стерильность

Результаты. В 2021 г. проведен контроль 28 компонентов КТ, полученных методом афереза, лейкоредуцированных, 9 компонентов, полученных методом афереза в добавочном растворе, 2 компонента патогенредуцированных. Все КТ полностью соответствуют требованиям отраженным в Правилах №797.

Технология двухэтапного лабораторного скрининга (серологический и тестирование нуклеиновых кислот (NAT) снижают, но не исключают вероятность передачи остаточного риска инфицирования. Это связано с ограничением чувствительности тест-систем, наличием «серонегативного окна». В мире регистрируется постоянное появление новых патогенов с фактическим или потенциальным риском трансфузионной передачи. Для снижения бактериальной и вирусной контаминации, повышения безопасности концентрата тромбоцитов при хранении, снижения аллоиммунизации у пациентов, получающих многократные трансфузии КТ, применяется технология патогенредукция. В 2019 г. в РФ заготовлено 15,8% патогенредуцированных КТ от общего количества. Основными задачами патогенредукции является максимальное снижение патогенной нагрузки на компонент, инактивация остаточных донорских лейкоцитов, максимальная сохранность клеток и белков крови. В 2019 году в РФ заготовлено 7,9% облученных ТК от общего количества. Считается, что гамма- или рентгеновское облучение в дозе от 25 до50 Гр предотвращает развитие реакции «трансплантат против хозяина» за счет блокирования пролиферации тромбоцитов, при этом жизнеспособность и функции тромбоцитов сохраняются. В 2021 г. группой контроля качества проведен контроль 13 облученных компонентов КТ, но оценить качество в полном объеме невозможно. В руководящих документах отсутствуют критерии оценки данного компонента.

Выводы. Лейкофилтрационные технологии направлены на уменьшение риска передачи лейкоцитассоциированных инфекций. Для снижения бактериальной и вирусной контаминации наиболее надежно применение технологии инактивации патогенов.

**М.В. Демин¹, Д.С. Тихомиров¹, Б.В. Бидерман¹, О.А. Глинщикова¹, М.Ю. Дроков¹, А. Б. Судариков¹,
Т.А. Туполева¹, Ф.П. Филатов^{2,3}**

МУТАЦИИ В ГЕНЕ UL97 ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГАНЦИКЛОВИРУ, У РЕЦИПИЕНТОВ АЛЛОГЕННЫХ СТВОЛОВЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», г. Москва

Введение. Инфекция, вызываемая цитомегаловирусом (ЦМВ), является серьезной проблемой для больных с ослабленным иммунитетом. В ходе естественного мутационного процесса, а также при проведении длительной специфической противовирусной терапии, вирус может приобрести устойчивость к действию противовирусных препаратов, что не только осложняет течение инфекционного эпизода, но и требует коррекции терапевтической тактики. Большинство случаев возникновения устойчивых штаммов относятся к мутациям в вирусном гене UL97, кодирующем фосфотрансферазу. У иммунокомпрометированных пациентов (реципиенты органов и тканей, ВИЧ-инфицированные) наиболее частыми являются следующие мутации: M460I/V, C592G, A591V, A594T/V, L595F/S, C603W.

Цель. Определение мутаций в гене фосфотрансферазы цитомегаловируса, ассоциированных с устойчивостью к действию противовирусных препаратов у пациентов с гемобластомами после трансплантации аллогенных стволовых гемопоэтических клеток.

Материал и методы. В исследование были включены 9 образцов ДНК ЦМВ, выделенных из периферической крови 8 реципиентов алло-ГСК с ЦМВ-инфекцией, находившихся на лечении в клиниках ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с 2016

по 2017 гг. Для поиска мутаций применяли метод секвенирования по Сенгеру. Полученную последовательность ДНК анализировали с помощью программного обеспечения nucleotide BLAST и Genome compiler. Поиск мутаций осуществлялся в программе MRA mutation resistance analyzer. С помощью данного программного обеспечения сравнивали последовательности нуклеотидов с референтной последовательностью UL97 штамма Merlin.

Результаты. Показано, что частота детекции вирусов с мутациями, потенциально ведущими к устойчивости, довольно высока – три случая из восьми. Были обнаружены следующие ранее описанные мутации: C592G, C607F и C603W. Был установлен временной промежуток, когда мутация возникла в геноме вируса. Полученные данные показали, что наличие и характер мутации влияет на вирусную нагрузку и длительность выявления в крови реципиентов ДНК ЦМВ.

Выводы. В статье представлены результаты определения в крови реципиентов аллогенных стволовых гемопоэтических клеток (алло-ГСК), ДНК цитомегаловируса и мутаций в гене вирусной фосфотрансферазы UL97, приводящих к устойчивости к действию противовирусных препаратов. В ходе исследования у трех пациен-

тов из восьми в крови была обнаружена ДНК цитомегаловируса с мутацией в участке гена UL97, которая потенциально может привести к устойчивости к действию ганцикловира. Показано, что наличие мутации в гене UL97 влияет на вирусную нагрузку и длитель-

ность выявления вирусной ДНК в крови пациента. Обнаруженные мутации различались по фактору устойчивости, что тоже имело влияние на течение инфекции.

Н.Н. Иванов

КЛИНИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ ГЕМОТРАНСФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ У ДЕТЕЙ С ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения "Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий", Санкт-Петербург

Введение. По объемам потребления компонентов и препаратов крови отделения, проводящие терапию гемобластозов, занимают одно из первых мест. Ввиду того, что онкогематологические заболевания поражают кроветворную ткань, а химиотерапевтическое лечение приводит к глубокой и зачастую затяжной депрессии кроветворения, каждый пациент получает множественные трансфузии компонентов крови. Вследствие этого вопросы безопасности гемотрансфузий имеют критическое значение у данной категории больных.

Цель работы. Описать основные аспекты обеспечения клинической безопасности гемотрансфузионной терапии у детей, получающих специфическое лечение гемобластозов.

Результаты. Для обеспечения максимальной безопасности гемотрансфузий у детей с онкогематологическими заболеваниями необходимо соблюдение нескольких условий. В первую очередь, компоненты крови должны назначаться только при наличии показаний. К сожалению, на сегодняшний день отсутствуют единые клинические рекомендации по применению компонентов крови у детей с онкологическими заболеваниями, что зачастую приводит к «лишним» трансфузиям. Ввиду выраженной депрессии кроветворения и иммуносупрессии во время проведения химиотерапевтиче-

ского лечения, имеется повышенный риск развития реакции трансплантат против хозяина при попадании в организм реципиента лимфоцитов донора, поэтому все компоненты крови должны быть подвергнуты лейкоредукции и облучению. С целью снижения рисков развития инфекционных осложнений, переливаемый концентрат тромбоцитов должен быть подвергнут патогенинактивации. Для предотвращения аллоиммунизации необходимо проводить подбор эритроцитсодержащих компонентов с учетом совместимости по АВ0, резус, С, с, Е, е, Kell. При выборе концентрата тромбоцитов следует отдать предпочтение компоненту крови, полученному от одного донора методом афереза. Следует отказаться от применения свежзамороженной плазмы в тех случаях, когда возможно провести коррекцию коагулопатии криопреципитатом либо препаратами крови. Свежзамороженная плазма не должна использоваться для коррекции гипопротейнемии и гипоальбуминемии.

Выводы. Благодаря применению новых технологий в производстве компонентов и препаратов крови, совершенствованию методов обеспечения инфекционной безопасности, за последние десятилетия удалось значительно снизить количество негативных эффектов гемотрансфузий, что значительно улучшило отдаленные результаты лечения детей с онкогематологической патологией.

Калеко С.П., Ромашова Ю.Е., Вильянинов В.Н.

В.Н. ШАМОВ: ПРОДВИЖЕНИЕ ТРЕБОВАНИЙ БЕЗОПАСНОСТИ НА ЭТАПАХ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ В РОССИИ

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург

Введение. Безопасность гемотрансфузий, как неотъемлемая часть лечебной эффективности изначально рассматривалась как главное направление в становлении трансфузиологии. Естественно, заповеди первопроходцев в этой области являются своеобразным маяком в определении перспектив развития трансфузионной медицины.

Цель. Изучение и анализ литературных источников и документов, связанных с деятельностью профессора В.Н. Шамова по становлению и развитию трансфузиологии.

Материалы и методы. Методом системного анализа творчества профессора В.Н. Шамова изучен его вклад в развитие переливания крови в стране в мирное и военное время.

Результаты. Первая научно обоснованная безопасная гемотрансфузия в нашей стране выполнена 20 июня 1919 года в Военно-медицинской академии на кафедре госпитальной хирургии доктором медицины В.Н. Шамовым при участии адъютанта Н.Н. Еланского и студента И.Р. Петрова. Выбор безопасного решения такой операции основывался на ознакомлении с опытом ее выполнения в хирургических клиниках США, где такая цель достигалась определением группы крови (АВ0) реципиента и донора, проведением «агглютиниционной реакции», тестирующей совместимость эритроцитов донора и плазмы (сыворотки) реципиента, использованием гемоконсерванта или раствора антикоагулянта, а также проведением пробы Элекера (аналога биологической пробы в современном ее понимании).

В России сывороток для определения групп крови не было, как и гемоконсервирующих растворов. Проанализировав риск развития осложнения при различных вариантах случайного выбора пар «реципиент-донор», В.Н. Шамов убедился, что совместимость по групповым антигенам А и В может быть установлена при выполнении агглютинационной реакции (аналога современной реакции, проводимой на плоскости при комнатной температуре). Несвертываемость забираемой у донора крови обеспечивалась использованием стеклянных сосудов, покрытых изнутри парафином.

Сложность использованного решения предопределило необходимость организации приготовления сывороток для определения групп крови по системе АВ0. Такая работа была налажена в 1921 году в лабораторном отделении клиники. Сыворотки для определения групп крови рассылали по всей стране.

Этим самым были заложены основы научного подхода к обеспечению иммуногематологической безопасности при переливании донорской крови.

Практически сразу же парафинизирование сосудов, как способ стабилизации крови, было заменено использованием консервирующих растворов, содержащих лимоннокислый натрий.

В 1926 году накопленный опыт клинического применения донорской крови был обобщен в монографии Н.Н. Еланского, способствовавшей широкому внедрению в стране метода переливания донорской крови.

После избрания В.Н. Шамова заведующим кафедрой хирургии Харьковского медицинского института он инициировал создание в 1930 году второго в стране Института переливания крови в г. Харькове, разработку организационных основ формирования служб крови, подготовки кадров, развития донорства крови в стране, организовал издание научного журнала.

Эти направления становления трансфузиологии способствовали продвижению принципов обеспечения безопасности трансфузионной терапии пациентов различного профиля.

Важную роль в этом отношении сыграл фундаментальный труд – «Руководство по переливанию крови» под редакцией В.Н. Шамова и А.Н. Филатова, 1940 г.

Актуальным и эффективным было участие профессора В.Н. Шамова как заместителя Главного хирурга Красной Армии в годы Великой Отечественной войны в налаживании системы обеспечения донорской кровью раненых на этапах медицинской эвакуации. Его личный вклад заключается во внедрении в практику:

1. Системы подготовки работников медицинской службы по переливанию крови, включая выпуск инструкции (1941 г.) и руководство для военных врачей (1944 г.).

2. Постоянно совершенствуемые форм централизованного снабжения донорской кровью на основе сокращения логистики и сроков поставки крови на театр военных действий, включая прямое подчинение ряда крупных СПК НКЗ СССР военно-санитарной службе фронтов. Однако, только одна такая станция смогла удовлетворительно организовать свою работу в сложных условиях постоянно

меняющейся боевой обстановки, особенно дефицита доноров.

3. Структурных звеньев службы крови ВСУ фронтов и армий (отделов переливания крови), обеспечивавших выполнение функций снабжения донорской кровью, ее учета и отчетности.

4. Автономно действующих армейских и фронтовых СПК, как наиболее оперативно решающих вопросы обеспечения военных санитарных учреждений донорской кровью малых сроков хранения.

5. Технологий заготовки, хранения и транспортировки донорской крови, существенно уменьшающих риск ее бактериальной контаминации, так как частота ее выявления при выборочном контроле в различных СПК НКЗ СССР колебалась от 4% до 40%. Ключевые решения предусматривали усиление асептики при взятии крови у доноров, включение в состав гемоконсерванта антибактериальных средств (сульфидин и др.), обеспечение герметичности ампулированных сосудов с кровью, соблюдения температурного режима, сокращение сроков хранения и транспортировки.

Уроки Великой Отечественной войны и свои предложения по развитию службы крови, научных исследований по моделированию функций крови и созданию кровезаменяющих растворов В.Н. Шамов сформулировал в монографии на эту тему.

Выводы. Деятельность Лауреата Ленинской премии действительного члена АМН СССР, заслуженного деятеля науки РСФСР профессора В.Н. Шамова способствовала формированию и продвижению в практику основополагающих принципов безопасности трансфузионно-инфузионной терапии в комплексном лечении пациентов в мирное и военное время.

Калужская К.В.¹, Поляков Ю.Ю.¹, Барях Е.А.^{1,2,3}, Гемдэжян Э.Г.⁴, Мисюрин Е.Н.¹, Желнова Е.И.¹, Яцков К.В.¹, Кочнева О.Л.¹, Самсонова И.В.¹, Лысенко М.А.¹, Чуднова Т.С.¹

НЕЙТРОПЕНИЯ — ОДНА ИЗ КЛЮЧЕВЫХ ДЕТЕРМИНАНТ ВЫСОКОЙ ЛЕТАЛЬНОСТИ У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница №52» ДЗМ, Москва

² ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва

³ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Минздрава России, Москва

⁴ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Введение. Известно, что у онкопациентов по сравнению с пациентами без онкологических заболеваний в 5 раз выше риск заражения COVID-19 и выше вероятность тяжелого течения инфекции с необходимостью применения интенсивной терапии. При лечении коронавирусной инфекции у гематологических больных в нейтропении 4 степени, ввиду тяжелой иммунодефицитной недостаточности, помимо агрессивного течения опухоли могут протекать выраженные бактериальные и/или грибковые осложнения, что приводит к летальным случаям исхода заболевания и требует более узко направленных рекомендаций по лечению данной когорты больных.

Цель: оценить и выявить предикторы госпитальной летальности у гематологических больных в состоянии нейтропении 4 степени с присоединившейся коронавирусной инфекцией.

Материалы и методы. В проспективное исследование включено 130 пациентов (55% женщин, 45% мужчин) в возрасте 18 – 91 лет (медиана возраста – 59 лет) с острыми лейкозами (ОЛ) и лимфо-пролиферативными заболеваниями (ЛПЗ) с нейтропенией 4 степени и коронавирусной инфекцией (COVID-19), которые наблюдались с 04.2020 по 12.2021 гг. в ГКБ №52. В исследование также включена группа сравнения из 130 пациентов, сопоставимых по полу, возрасту и диагнозу, с ОЛ и ЛПЗ и COVID-19, но без нейтропении 4 степени. Статистический анализ предполагалось проводить с поправкой на частоту ложных открытий.

Результаты. В группе ОЛ преобладали пациенты с ОМЛ (80,6%), в группе ЛПЗ – агрессивные неходжкинские лимфомы. По статусу заболевания большую часть составили пациенты в процессе прохождения химиотерапии – 62 пациента (47,7%), ремиссия – 19 (14,6%), прогрессирование – 23 (17,8%), впервые выявленное

заболевание – 19 (14,6%), рецидив – 7 (5,3%). Пациенты имели высокий балл по шкале NEWS (7,5 б.) и высокий индекс коморбидности Charlson (5 б.). У большинства имелась среднетяжелая и тяжелая степень поражения легочной ткани (КТ2 – 44 (33%), КТ3 – 25 (20%), КТ4 – 13 (10%). С целью оценки риска развития септических состояний проводился лабораторный мониторинг: повышение уровня С-реактивного белка >100 г/л отмечалось у 55% больных (в среднем 241,5 г/л), ЛДГ (506 Ед/л), Д-димера (1866), прокальцитонина >0,5 нг/мл у 73%. Для купирования гиперцитокинемии использовались блокаторы ИЛ-6, ИЛ-1b, учитывая нейтропению 4 степени дозировка блокаторов ИЛ была снижена. С учетом нейтропении IV степени в виду высокого риска присоединения бактериальной инфекции у 91,5% больных применялась эмпирическая антибактериальная (а/б) терапия внебольничной пневмонии: ингибитор защищенные аминопенициллины и респираторные фторхинолоны (на 1-й линии), стартовая а/б терапия нейтропенической лихорадки (на 2-й линии) и этиотропная а/б терапия (на 3-й линии). У 66,7% пациентов, которым проводилась 3 и более линии а/б терапии, наблюдался летальный исход. Противогрибковая терапия проводилась в 65% случаев. У 63 (48,5%) пациентов во время госпитализации на фоне лечения COVID-19 развился сепсис. У 79,3% больных с подтвержденным сепсисом исход госпитализации оказался летальным, в 60% случаев у пациентов старше 60 лет. Медиана продолжительности госпитализации – 18 дней. Перевод в ОРИТ – у 78 (60%) больных, старше 60 лет – у 41 пациента (52,5%). Сравнение летальности в основной группе: у пациентов с ОЛ: 48,6% и ЛПЗ: 51,7%, и в группе сравнения: ОЛ – 37,5% и ЛПЗ – 13,8% показало, что наличие нейтропении 4 степени увеличило риск смерти почти в 2 раза: RR = 1,9 (95% CI 1,3 – 2,6), p=0.0001. По результатам многофакторного

анализа (логистической регрессии) предикторами госпитальной летальности в основной группе явились: попадание пациента в ОРИТ, $p=0.0001$, наличие сепсиса, $p=0.001$, возраст >65 , $p=0.001$.

Выводы. Коронавирусная инфекция при глубокой нейтропении (вызванной опухолевой прогрессией и/или проведенной ПХТ)

является значимым неблагоприятным фактором внутригоспитальной летальности у онкогематологических больных. Предикторами госпитальной летальности является возраст старше 60 лет, наличие сепсиса, пребывание в ОРИТ, отсутствие ремиссии заболевания.

Касьянов А.Д.¹, Голованова И.С.¹, Гришина Г.В.¹, Киселева Е.А.¹, Тарковская Л.Р.¹, Семенова Н.Ю.¹, Стижак Н.П.¹, Абрамовский С.В.²

ИССЛЕДОВАНИЕ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ КОНЦЕНТРАТА ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ХОЛОДОВОМ ХРАНЕНИИ

¹ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России», Санкт-Петербург

²ФГБУ «Северо-западный окружной клинический центр им. Л.Г. Соколова Федерального медико-биологического агентства России», Санкт-Петербург

Введение. Концентраты тромбоцитов (КТ) относятся к наиболее востребованным компонентам крови. Главными проблемами при трансфузионной терапии КТ являются риски возникновения инфекционных осложнений, связанные с ограниченным сроком годности при температуре хранения 22 ± 2 °С, а также необходимость использования аппаратуры, обеспечивающей постоянное помешивание. Для решения этой проблемы в настоящее время изучаются альтернативные способы хранения, такие как криоконсервирование КТ или хранение при 4 °С.

Цель. Проведение сравнительного анализа показателей качества и безопасности КТ, заготовленного на плазме и добавочном растворе SSP+, на пролонгированных сроках хранения при пониженной температуре.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись концентраты тромбоцитов, полученные методом афереза, хранящиеся при температуре 4 ± 2 °С в течение 15 суток. В работе использованы гематологические, биохимические, морфофункциональные, бактериологические и статистические методы исследования.

Результаты. Проведенные исследования выявили достоверные различия в сохранности тромбоцитов в процессе их хранения в КТ-плазма и КТ-SSP+. Уменьшение количества кровяных пластинок в течение срока хранения наблюдалось в обеих группах. Обращает внимание значимое ($p < 0,05$) уменьшение количества тромбоцитов в КТ-плазма на 5 день хранения до 69,7 % от исходного (100 %) с последующим постепенным снижением количества клеток на 10 день (67,4 %) и 15 день (62,4 %).

Анализ изменений показателей метаболизма также выявил в обеих группах однонаправленный характер изменений. Со дня заготовки до 15 дня хранения отмечено последовательное снижение значений pCO_2 как в КТ-плазма ($50,5 \rightarrow 37,8$ мм рт. ст.), так и в КТ-SSP+ ($66,4 \rightarrow 35,8$ мм рт. ст.). Обращает на себя внимание стабильность содержания бикарбоната в КТ-плазма в течение всего срока наблюдения. При этом показано его значимое уменьшение в КТ-SSP+ ($28,9 \pm 2,7 \rightarrow 17,8 \pm 2,9$, $p < 0,01$). Снижение в динамике уровня глюкозы сочеталось с нарастанием концентрации лактата. Концентрация лактата в КТ-плазма: $1,38 \pm 0,23$ ммоль/л $\rightarrow 6,06 \pm 0,33$

ммоль/л, $p \leq 0,05$; уровень лактата в КТ-SSP+ $0,87 \pm 0,14$ ммоль/л $\rightarrow 4,80 \pm 0,33$ ммоль/л, $p < 0,05$). При этом потребление глюкозы и продукция лактата происходили в обеих группах, в целом, с одинаковой интенсивностью в течение всего срока хранения. Отмечено нарастание значений pH после первых суток хранения, что говорит об отсутствии дефицита буферных оснований. После 5 суток хранения значение pH в обеих группах оставалось стабильным. В КТ-плазма $7,31 \pm 0,02 \rightarrow 7,31 \pm 0,03$, в КТ-SSP+ $7,29 \pm 0,02 \rightarrow 7,28 \pm 0,02$, что свидетельствует о достаточной мощности буферных систем сред хранения.

В обеих группах наблюдалось снижение агрегационных свойств тромбоцитов с индуктором АДФ, достигшее максимума к концу срока наблюдения. В то же время при хранении в добавочном растворе SSP+ наблюдалось менее интенсивное снижение агрегационной активности, к 15 дню наблюдения достигшее 48,3 % от исходного уровня.

Результаты морфологического исследования свидетельствуют об однонаправленности морфологических изменений при холодном хранении в обеих группах. Хранение в добавочном растворе SSP+ и 100 % плазме показывают примерно одинаковую картину распределения тромбоцитов по содержанию разных морфологических форм на разных сроках хранения. Вместе с тем применение добавочного раствора SSP+ при холодном хранении обеспечивает лучшую сохранность дискоцитов и меньшее образование дегенеративных форм. При бактериологическом исследовании, проводимом в конце срока хранения, рост микроорганизмов не обнаружен ни в одной пробе.

Выводы. Хранение аферезного концентрата тромбоцитов, заготовленного на плазме и добавочном растворе SSP+, на пролонгированных сроках (15 суток) хранения при температуре 4 ± 2 °С, позволяет сохранять клеточный состав, уровень метаболизма и функциональный потенциал тромбоцитов на уровне, отвечающем требованиям нормативных документов. В условиях холодного режима (4 ± 2 °С) использование добавочного раствора SSP+ обеспечивает лучшую сохранность КТ по сравнению с хранением в 100 % плазме.

Кирьянова Г.Ю., Гришина Г.В., Касьянов А.Д.

ГИПОТЕРМИЧЕСКОЕ ХРАНЕНИЕ ДЕКРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТОВ, ЗАГОТОВЛЕННЫХ В ЗАКРЫТОЙ СИСТЕМЕ

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

Введение. Существенным препятствием для широкого использования в практике службы крови безаппаратных методов криоконсервирования эритроцитов является «открытая» система глицеринизации-деглицеринизации и связанный с этим короткий срок хранения отмытых размороженных эритроцитов (ОРЭ) при 4 ± 2 °С (24 часа).

Цель. Обеспечение пролонгированного хранения декриоконсервированных эритроцитов за счет создания «закрытой» системы криоконсервирования и разработки нового отечественного добавочного раствора для ОРЭ.

Материалы и методы. Для исследования использовали модифицированные комплекты изделий для криоконсервирования эри-

троцитов производства ОАО «Синтез», устройство для стерильного соединения полимерных трубок TSCD @-II Terumo. Морфофункциональное состояние ОРЭ после криоконсервирования оценивали с помощью комплекса общепринятых лабораторных методик, показателей, полученных с использованием газоанализатора RADIOMETER ABL800 FLEX и гематологического анализатора M10 Medonic M-Series, АТФ определяли хемилюминесцентным методом на флуориметре Bio Tek FLx800. Исследование острой токсичности разработанных растворов проводилось на крысах в соответствии с требованиями фармакопейной статьи «ОФС.1.2.4.0004.15.», пирогенных свойств растворов – на кроликах («ОФС.1.2.4.0005.15. Пирогенность»).

Результаты. Создание замкнутой («закрытой») системы при безаппаратном методе криоконсервирования эритроцитов (патент на полезную модель №180533 от 15.06.2018 г.), обеспечивающей герметичность на всех его этапах, создало предпосылки для разработки раствора для гипотермического хранения ОРЭ. Были разработаны композиции добавочных растворов, содержащие основные субстраты для поддержания энергетического потенциала отмытых размороженных эритроцитов, вещества, сохраняющие резистентность мембраны клеток и равновесие осмотического давления, ингредиенты, воздействующие на внутриклеточный pH, естественный антигипоксант.

По результатам исследований *in vitro* выбраны два варианта раствора оптимального состава, который по основным показателям морфофункциональной сохранности эритроцитов во взвеси (проценту гемолиза, содержанию свободного гемоглобина, АТФ, осмотически неустойчивых эритроцитов, р50, MCV) превосходит эритроконсервант SAG-M, широко использующийся для ОРЭ за рубежом.

Эффективность раствора показана в восьми сериях экспериментов по хранению отмытых размороженных эритроцитов, криоконсервированных аппаратным (с использованием аппарата Haemonetics ACP) и безаппаратным методами, при температурах -40°C и -80°C . Так, через 1 неделю хранения при $+4^{\circ}\text{C}$ взвесей отмытых размороженных эритроцитов, криоконсервированных при

-40°C , в экспериментальном растворе отмечены низкие процент гемолиза – $0,29 \pm 0,027$ и содержание осмотически неустойчивых эритроцитов – $2,6 \pm 0,52\%$, высокие уровень АТФ – $5,5 \pm 0,20$ мкмоль/г Hb и морфологический индекс – $87,0 \pm 1,68$. Содержание внеклеточного калия ($6,8 \pm 0,46$ ммоль/л) и лактата ($8,7 \pm 0,42$ ммоль/л) соответствуют их содержанию в нативной эритроцитной массе 2-х суток хранения. Показано минимальное снижение pH (до $6,90 \pm 0,012$) за счет оптимальной буферной системы раствора.

Исследование первичных биологических свойств вариантов нового добавочного раствора на двух видах лабораторных животных показало, что приготовление его по разработанной технологии позволяет получить стерильный, апиrogenный, не обладающий острыми токсическими свойствами раствор.

Разработана технологическая инструкция по получению нового отечественного добавочного раствора для хранения размороженных и отмытых эритроцитов в учреждениях службы крови.

Выводы. Разработанная авторами модификация изделий для безаппаратного криоконсервирования и декриоконсервирования эритроцитов (полезная модель) обеспечивает стерильное соединение магистралей контейнеров с растворами и емкости для отмытия, что исключает возможность бактериальной контаминации взвеси отмытых размороженных эритроцитов и повышает ее инфекционную безопасность.

Применение нового добавочного раствора позволит увеличить срок хранения декриоконсервированных эритроцитов с 24-х часов до 7 суток (целевой срок хранения взвеси отмытых размороженных эритроцитов) и более. Включение в его состав естественного антигипоксанта (фумарата натрия) может оказывать положительное влияние не только на сохранность эритроцитов, но и на эффективность проводимой гемотерапии. Использование разработанного добавочного раствора будет способствовать повышению качества и доступности ареактогенного эритроцитного компонента крови для оказания трансфузиологической помощи населению, в том числе в труднодоступных и удаленных населенных пунктах Российской Федерации.

Колесов А.А.¹, Сидоркевич С.В.²

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

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

Введение. ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (Центр Алмазова) ведущий медицинский исследовательский центр Российской Федерации, оказывающий многопрофильную специализированную, в том числе высокотехнологичную медицинскую помощь. Переливание компонентов крови – неотъемлемая часть повседневной работы учреждения. Использование гемокомпонентов, отвечающих требованиям качества, инфекционной и иммунологической безопасности, является обязательным условием.

Цель. Оценить качество и безопасность компонентов крови, получаемых на станции переливания крови Центра Алмазова (СПК Центра Алмазова).

Материалы и методы. Проведен анализ материалов годовых отчетов по производственной деятельности СПК Центра Алмазова.

Результаты. Создание системы обеспечения инфекционной безопасности гемокомпонентов подразумевает использование целого комплекса мер. Порядок обследования доноров включает проведение иммунологических и молекулярно-биологических методов выявления вируса иммунодефицита человека, гепатитов В и С. Значимость ПЦР-диагностики возрастает при обследовании регулярных доноров, которые могли заразиться в период между донациями.

Все больше онкогематологических пациентов нуждаются в

многократных трансфузиях на протяжении длительного времени, что увеличивает совокупный риск аллогенного воздействия и передачи инфекции. Интенсификация использования мультикомпонентного донорства для получения двух и более доз одного и того же компонента крови или двух и более доз различных компонентов от одного донора позволяет снизить эти риски. В 2021 году проведено около 300 процедур тройного тромбоцитафереза, доля двойного эритроцитафереза составила 5% от общего числа заготовленных эритроцитсодержащих компонентов (ЭСК).

На СПК Центра Алмазова 100% получаемого тромбоцитного концентрата (ТК), 97% ЭСК и 88% свежемороженой плазмы (СЗП) подвергаются лейкоредукции, что позволяет уменьшить количество остаточных лейкоцитов и значительно снизить частоту посттрансфузионных реакций, включая фебрильные негемолитические трансфузионные реакции (ФНТР), HLA-иммунизацию, передачу цитомегаловируса, вируса герпеса.

Развитие посттрансфузионной реакции «трансплантат против хозяина» объясняется наличием донорских лимфоцитов в компонентах крови. Более 81% ЭСК и 80% ТК, получаемых в Центре Алмазова, подвергаются процедуре рентген-облучения. Жизнеспособность лимфоцитов угнетается, а сохранность других клеток не нарушается при таком воздействии.

Отмытые эритроциты — компонент, получаемый путем последовательного отмывания и ресуспендирования ЭСК в добавочном растворе. В результате удаляются белки плазмы, лейкоциты, тромбоциты, антикоагулянт, микроагрегаты и клетки, разрушенные при хранении. Применение такого компонента крови оправдано у требующих частых трансфузий пациентов с иммуносупрессией, пациентов детского возраста.

Технология карантинизации СЗП давно применяется в службе крови. Использование технологии криоконсервирования эритроцитов дает возможность проведения карантинизации эритроцитарной взвеси, что также способствует повышению инфекционной безопасности. Стоит отметить, что в период пандемии наличие банка криоконсервированных эритроцитов позволило своевременно и в полном объеме обеспечивать потребность клинических подразделений Центра Алмазова в ЭСК в условиях снижения доступности донорского контингента.

Кравченко Д.В., Новик Д.К.

СПЕКТР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ И ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ

ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

Введение. Особенностью пациентов с острыми лейкозами является угнетение иммунитета на фоне опухолевого процесса и проводимой химиотерапии, что создает благоприятную среду для развития инфекционных агентов, в том числе и условно патогенных. Нередко причиной их развития является собственная флора пациента, которая в условиях вторичного иммунодефицита начинает активно размножаться, приводя к развитию тяжелых осложнений. Помимо этого, в каждой больнице имеется своя собственная полирезистентная флора, которая требует назначения комбинации антибиотиков или антибиотиков «резерва». Инфекции, вызванные резистентными штаммами микроорганизмов, характеризуются более тяжелым течением, увеличивают продолжительность пребывания его в стационаре, предполагают применение комбинации антибиотиков с использованием резервных препаратов. Все это приводит к увеличению затрат на лечение, ухудшает прогноз для здоровья и жизни пациентов.

Цель: выполнить анализ спектра и чувствительности к противомикробным лекарственным средствам возбудителей, вызывающих инфекционные осложнения у пациентов с острыми лейкозами.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека». Ретроспективно были изучены результаты бактериологических посевов и антибиотикограмм 177 пациентов с острым лейкозом с инфекционными осложнениями за период 2019–2021 гг. Предметом исследования были материал из дыхательных путей (мазок из зева и носа, мокрота, бронхиальный лаваж), кровь и моча испытуемых. Определение чувствительности выполнялось на анализаторе VITEK 2 Compact, применяя диагностические карты AST-Strept с использованием экспертной системы «Global European-based+EUCAST-based» или на стрипах ATB Strept 5 (bioMérieux, Франция). Для интерпретации результатов определения чувствительности руководствовались стандартом EUCAST.

Результаты. В 2019 г. 34 (60%) случая инфекционных осложнений были вызваны 4 основными возбудителями: *Klebsiella pneumoniae* (Kl.p) 12 (21%), *Enterobacter faecalis* 8 (14%), *Staphylococcus aureus* 7 (12%) и *Acinetobacter baumannii* 7 (12%). У остальных пациентов инфекционные осложнения были обусловлены присутствием других возбудителей. В 2020 г. 42 (75%) случая инфекционных осложнений вызвали 6 основных возбудителей: Kl.p 9 (16%), *Staphylococcus haemolyticus* 7 (12%), *Stenotrophomonas maltophilia* (St.m) 6 (11%), *Staphylococcus hominis* 6 (11%), *Acinetobacter baumannii* 6 (11%),

Необходимость использования технологий патогенредукции определяется многими факторами, среди которых: ограниченное количество тестируемых инфекционных агентов, выявление новых патогенов, передающихся при гемотрансфузии, и высокая вероятность бактериального загрязнения. 25% ТК и 16,5% СЗП, заготовленных на СПК Центра Алмазова ТК проходит процедуру редукции патогенов.

Выводы. Внедрение и использование в повседневной производственной деятельности СПК Центра Алмазова современных технологий получения компонентов крови позволяет обеспечить высокий уровень инфекционной безопасности гемокомпонентной терапии, что безусловно способствует повышению уровня оказываемой медицинской помощи и снижению частоты развития посттрансфузионных реакций.

Pseudomonas aeruginosa 8 (14%). Остальные 14 (25%) распределились среди других инфекционных агентов. В 2021 г. 16 (30%) случаев инфекционных осложнений вызвали всего 2 возбудителя: Kl.p 7 (13%) и St.m 9 (17%). Остальные 38 (70%) неравномерно распределились среди других инфекционных агентов.

Таким образом, у пациентов с острыми лейкозами в гематологическом отделении наиболее часто встречалась грамотрицательная флора. Среди них стабильно преобладала Kl.p. В период 2020–2021 гг. с ней начал конкурировать St.m, который в последние годы все чаще становится возбудителем различных внутрибольничных инфекций, обладает высокой природной резистентностью, вызывает сложные для антибактериальной терапии гнойно-септические процессы с высокой смертностью пациентов.

Как показали результаты исследования чувствительности возбудителей к антибиотикам, в 2021 г. Kl.p показала значительную устойчивость к основным группам β-лактамов антибиотиков: пенициллинам и цефалоспорином, а также и к группам не β-лактамов антибиотиков: фторхинолонам и аминогликозидам. Характерной особенностью изученного временного промежутка является прогрессивный рост резистентности Kl.p ко всем основным группам антибиотиков. На данный момент она сохраняет достоверную чувствительность только к группе карбапенемов. St.m начал выявляться только в 2020 г. и уже продемонстрировал свою устойчивость к большинству антибактериальных средств. В настоящий момент он проявляет чувствительность только по отношению к тикарциллину\клавуланату и триметоприму\сульфометаксазолу.

Выводы. Современной эпидемиологической особенностью гематологического отделения у пациентов с острыми лейкозами является распространение грамотрицательных микроорганизмов, устойчивых к противомикробной терапии, эффективность которой при непрерывном использовании на протяжении нескольких лет прогрессивно снижается. Эта проблема усиливает потребность в новых современных антибиотиках, а микробиологический мониторинг выступает одним из наиболее важных компонентов в госпитальном контроле над внутрибольничными инфекциями. Локальный мониторинг этиологической структуры и устойчивости инфекционных агентов к антибактериальным средствам способствует назначению адекватной этиопатогенетической терапии возникающих инфекционных осложнений.

Краснова Л.И., Пособнова О.А., Мусатова Л.А., Данилюк Н.А.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ ПЕРЕД ИНДУКЦИЕЙ РЕМИССИИ ПЛАНИРУЕМОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», г. Пенза

Введение. При лечении пациентов детского возраста с острым лимфобластным лейкозом инфекционные заболевания до настоящего времени являются одним из самых часто сопровождающих состояний при химиотерапевтической терапии несмотря на проводимое сопроводительное лечение. Это обусловлено гипоплазией кроветворения с замещением бластными клетками нормальных ростков кроветворения. Поэтому уделяется особое внимание не только лечению основного заболевания, но и профилактике инфицирования патогенной и условно патогенной флорой.

Цель. установить частоту возникновения и наиболее часто встречающуюся микрофлору у детей с острым лимфобластным лейкозом перед индукцией ремиссии планируемой химиотерапии.

Материалы и методы. При исследовании использовали мазки со слизистой носоглотки, мазки со слизистой полости рта, мочу, кровь из периферической вены, кровь из центрального венозного катетера, кал. Применяли основные методы исследования материалов: бактериальный посев, ПЦР.

Результаты. За период с 01.02.2021 по 28.02.2022 было обследо-

вано 10 пациентов с острым лимфобластным лейкозом в возрасте 3-13 лет, среди них было 7 мальчиков и 3 девочки, находящихся на лечении в ГБУЗ ООД детском гематологическом отделении. При распределении по возрасту было обследовано: 3 пациента в возрасте 3-4 года, 2 пациента 6-ти лет, 2 пациента 7 лет, 1 пациент 10 лет, 1 пациент 13 лет, 1 пациент 14 лет. Перед началом химиотерапии у 4 из 10 детей выявлено наличие условнопатогенной флоры в 1 и более локусах (*Candida albicans*, *St. Aureus*, *E.coli*, *St.epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*, *Ent. Faecalis*). У 6 пациентов перед индукцией ремиссии этиологически значимой микрофлоры не обнаружено.

Выводы. 1) Среди обследованных пациентов по гендерному признаку в 2,3 раза преобладали дети мужского пола (70%). 2) Наибольшее количество инфицированных детей было в возрастной группе 3-4 года (30%). 3) 40% пациентов детского возраста с острым лимфобластным лейкозом перед индукцией ремиссии имели наличие условнопатогенной флоры в 1 и более локусах.

Кузнецов С.И., Аверьянов Е.Г., Шестаков Е.А., Жибурт Е.Б.

ОШИБКА НОРМИРОВАНИЯ СКРИНИНГА БАКТЕРИЙ В КОМПОНЕНТАХ ДОНОРСКОЙ КРОВИ

ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Введение. «Правила заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов» (утверждены постановлением Правительства РФ от 22 июня 2019 г. N 797) предписывают контролировать стерильность 25 видов донорской крови и её компонентов - 1 процент заготовленных единиц, но не менее 4 доз в месяц. Однако технология контроля стерильности в Правилах не описана.

Цель работы. Оценить адекватность нормативной базы контроля стерильности донорской крови и её компонентов.

Методы. Провели поиск нормативов контроля стерильности донорской крови и её компонентов, используя термины: бактерии, стерильность, донор, заготовка крови, переливание крови. Объект исследования - библиотеки Elibrary, Консультант.

Результаты. Установлена правовая ничтожность «Инструкции по контролю стерильности консервированной крови, ее компонентов, препаратов, консервированного костного мозга, кровезаменителей и консервирующих растворов» (1995). Она разработана в эпоху стеклянных бутылок для крови, резиновых пробок, трубок, игл для отсоса плазмы и других изделий многократного применения, контактирующих с донорской кровью.

Контроль стерильности донорской крови и её компонентов на станции переливания крови - задача «Отдела контроля безопас-

ности донорской крови и (или) ее компонентов». В состав медицинского оборудования этого отдела входит бактериологический анализатор. Название и код вида номенклатурной классификации бактериологического анализатора - ключевая ошибка, делающая невозможным поиск бактерий в донорской крови.

Упомянутый анализатор предназначен для идентификации уже выделенных бактерий (бактериальной суспензии), а также для оценки их чувствительности к антибиотикам - в клинической лаборатории лечебной организации.

Для контроля стерильности крови нужен другой прибор: «Анализатор культуры крови ИВД», предназначенный для использования при определении *in vitro* роста микроорганизмов в образце культуры крови с последующей идентификацией микроорганизма или без нее.

Выводы. Для надлежащего контроля стерильности донорской крови и её компонентов в «Стандарт оснащения станции переливания крови (центра крови)» (утвержден Приказом Минздрава России от 28 октября 2020 г. № 1167н) нужно внести изменения, заменив «Анализатор бактериологический для идентификации микроорганизмов» на «Анализатор культуры крови». В отсутствие тотального скрининга бактерий в концентратах тромбоцитов альтернативой остается универсальная инактивация патогенов.

Кулешова А.В., Киселева Е.Е., Мельцер А.А., Бурылев В.В., Смирнова С.Н., Стижак Н.П., Романенко Н.А., Чеботкевич В.Н., Бессмельцев С.С.

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СУПЕРИНФЕКЦИИ ПРИ COVID-19 И ОСЛОЖНЕННЫЕ СЕПСИСОМ

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

Введение. Новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 (COVID-19) явилась глобальной проблемой 21 века. Патогенетиче-

ские механизмы ее развития существенно отличаются от других респираторных инфекций и гриппа. Недостаточно изученными

остаются факторы риска, этиологическая структура и частота развития бактериальных суперинфекций и инфекций кровеносного русла при COVID-19.

Цель. Оценить течение инфекции COVID-19 при развитии бактериальных суперинфекций, осложненной сепсисом.

Материалы и методы. Исследовали посевы крови, лабораторные и клинические данные и исход заболевания у 75 больных, поступивших в два крупных стационара, перепрофилированных для оказания медицинской помощи пациентам с COVID-19 в период с марта 2020 по февраль 2021 гг. В исследование вошли взрослые пациенты с COVID-19, осложненным бактериальной пневмонией и развитием сепсиса. Бактериологическое исследование крови проводили при поступлении больных в стационары до начала антибиотикотерапии.

Результаты. Частота выявления грамотрицательных микробов в крови составила – 23%, грамположительных – 77%. Из числа грамотрицательных бактерий *K.pneumoniae* была выявлена в 43% случаев, *E. coli* в 10%. Частота выявления неферментирующих

грамотрицательных бактерий составила 46%. Среди грамположительных бактерий *S.aureus* составил 39%, а коагулазонегативный стафилококк 52%. Летальность в исследованной группе была исключительно высока и составила 84%. Отмечена высокая частота выявления карбапенемрезистентных Enterobacterales (в том числе продуцентов карбапенемаз OXA-48-подобных и металлобеталактамазы NDM), и метициллин резистентных штаммов *S. aureus*.

Заключение. Пандемия COVID-19 значительно обострила проблему внутрибольничного распространения бактерий с множественной устойчивостью к антибиотикам. Высокая частота генов антибиотикорезистентности обосновывает необходимость постоянного мониторинга бактериальных инфекций в стационарах и строгого соблюдения противоэпидемического режима. Инфекция COVID-19, с развитием бактериальных суперинфекций и осложненной сепсисом, является крайне неблагоприятным фактором внутрибольничной летальности. Выявление этиологии сепсиса и ранняя этиотропная терапия повышают вероятность благоприятного исхода заболевания.

Лянгузов А.В., Сергунина О.Ю., Калинина С.Л., Игнатъев С.В.

ПОВРЕЖДЕНИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ГЛИКОКАЛИКСА ПРИ СЕПСИСЕ У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

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

Введение. Онкогематологические заболевания нередко сопровождаются развитием инфекционных осложнений, которые связаны с природой заболевания, применением интенсивных протоколов химиотерапии, широким использованием моноклональных антител, гормональных препаратов и др. Развивающееся системное воспаление в ответ на инфекцию является ведущим механизмом патогенеза сепсиса и сопровождается высокой внутрибольничной летальностью. Эндотелий сосудов вовлекается в патологический процесс уже на ранних стадиях развития сепсиса. Эндотелиальный гликокаликс, представляющий собой тонкий «гелеобразный» слой, покрывающий просветную сторону эндотелия сосудов, служит мишенью для инфекционных агентов и медиаторов воспаления. Деградация гликокаликса при сепсисе преобладает над синтезом его компонентов, приводя к дисфункции микроциркуляторного русла. При развитии сепсиса компоненты гликокаликса, такие как протеогликан синдекан-1, попадают в системную циркуляцию и могут служить клинически значимыми биомаркерами.

Цель. Оценить содержание синдекана-1 в сыворотке крови больных гемобластозами с сепсисом и его взаимосвязь с маркерами системного воспаления и выраженностью органных дисфункций.

Материалы и методы. В исследование включены 28 онкогематологических пациентов с сепсисом – 18 (64%) мужчин и 10 (36%) женщин, проходивших лечение в клинике ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России в 2019–2020 гг. Из них ОМЛ диагностирован у 10 (36%) больных, ОЛЛ – у 5 (18%), неходжкинская лимфома (НХЛ) – у 6 (21%), лимфома Ходжкина (ЛХ) – у 5 (18%), множественная миелома (ММ) – у 2 (7%). Медиана возраста составила 48 лет. Клинические и лабораторные данные оценивались в течение первых 24 часов после по-

ступления в отделение анестезиологии и реанимации. Сепсис верифицировали по критериям консенсуса «Сепсис-3». Концентрацию синдекана-1 определяли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Syndecan 1 (SDC1) (Cloud-Clone Corp., США). Контрольную группу для определения уровня синдекана-1 составили 20 доноров крови. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона. Различия показателей оценивали при помощи U теста Манна-Уитни, корреляционные взаимосвязи – с использованием критерия Спирмена.

Результаты. Содержание синдекана-1 у больных гемобластозами с сепсисом составило 12,04 [4,09-34,00] нг/мл, что значимо превысило таковое у практически здоровых лиц – 0,82 [0,76-0,96] нг/мл ($U=6,0$; $p < 0,001$). Уровень С-реактивного белка при диагностике сепсиса у онкогематологических пациентов составил 0,229 [0,051-0,299] г/л, прокальцитонина – 1,07 [0,39-7,53] нг/мл, оценка по шкале SOFA – 8,00 [4,75-12,00]. Определена статистически значимая взаимосвязь уровня синдекана-1 с концентрацией прокальцитонина ($r = 0,39$; $p = 0,048$) и выраженностью органных дисфункций по шкале SOFA ($r = 0,54$; $p < 0,001$). Корреляции содержания С-реактивного белка и синдекана-1 не выявлено.

Вывод. Установлено повышение концентрации синдекана-1 у больных гемобластозами с сепсисом по сравнению с его уровнем у практически здоровых лиц. Определена взаимосвязь содержания синдекана-1 с концентрацией прокальцитонина и выраженностью органных дисфункций, оцененных по шкале SOFA.

Матвиенко О.Ю., Корсакова Н. Е., Головина О.Г., Папаян Л. П.

ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ТЕЧЕНИЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

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

Введение. Пандемия COVID-19 стала глобальной проблемой мирового сообщества. Заболевание сопровождается развитием иммунного тромбоза, результатом которого являются нарушение микроциркуляции, артериальные и венозные тромбозы, респи-

раторный дистресс-синдром, полиорганная недостаточность. Изучение механизмов развития гиперкоагуляционных изменений у пациентов с COVID-19 представляет большой интерес, т.к. позволит назначать патогенетически обоснованную терапию, что улучшит

исходы заболевания.

Цель. Оценка состояния системы гемостаза у пациентов с коронавирусной инфекцией в остром периоде заболевания.

Материалы и методы. В исследование были включены 165 пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19. Первое взятие образцов плазмы крови осуществляли при поступлении в стационар (группа 1). У 43 пациентов исследование системы гемостаза проводили в динамике на 3-5 сутки (группа 2) и на 8-10 сутки (группа 3) пребывания в стационаре. Пациенты 2 и 3 группы получали антитромботическую профилактику низкомолекулярными гепаринами в стандартной дозе 0,8 мл в сутки. Контрольную группу составили 68 здоровых лиц. Определяли следующие параметры: АПТВ (сек), протромбиновый тест по Квику (ПТ, %), фибриноген (ФГ, г/л), активность фактора VIII (ф.VIII, %) активность и антиген фактора Виллебранда (ф.W, %), активность протеинов С (С, %) и S (S, %), активность антитромбина (АТ, %), уровень D-димера (нг/мл), концентрацию гомоцистеина (мкмоль/л). Генерацию тромбина исследовали методом калиброванной автоматизированной тромбинографии (ТГТ) согласно методике Hemker H. Определяли количественные показатели ТГТ: ЕТР (эндогенный тромбиновый потенциал, нМоль*мин) и Peak (максимальное количество тромбина в образце, нМоль). Исследование параметров генерации тромбина проводили без добавления тромбомодулина и с добавлением такового. Добавление в реакционную смесь тромбомодулина позволяет определить чувствительность к тромбомодулину, которая характеризует эффективность работы антикоагулянтной системы протеина С. Чувствительность к тромбомодулину рассчитывали, как процент падения эндогенного потенциала тромбина (ЕТР, нМ*мин) и пикового количества тромбина (Peak, нМ) при добавлении тромбомодулина. Для оценки показателей использовали медиану и 95%ый доверительный интервал (Ме; 95% ДИ). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. У пациентов, госпитализированных с COVID-19, при первичном исследовании (группа 1) отмечалось значимое повышение отдельных маркеров гиперкоагуляции: ФГ (Ме-5,7, ДИ: 2,0 – 10,9 против Ме-2,5, ДИ: 1,5 – 4,2), активности ф. VIII (Ме-107,0, ДИ: 53,1 – 336,6 против Ме-104, ДИ: 73 – 161), активности ф. W (Ме-300,0, ДИ: 103,1 – 594,0 против Ме-97,0, ДИ: 63,0 – 144,3), антигена ф. W (Ме-226,3, ДИ: 165,6 – 797,8 против 107,0, ДИ: 74,6 – 161,0), D-димера (Ме-656,0, ДИ: 81,3 – 47152,7 против Ме-17,0, ДИ: 5,0 – 117,0). Активность антитромбина оставалась в пределах нормальных значений (Ме-96,0, ДИ: 66,1-133,7, против Ме-94,0, ДИ: 75,0-120,2) также, как и активность протеина С (Ме-96,5, ДИ: 54,1-158,8, против 102,0, ДИ: 76,6-145,0). В то же время уровень свободного протеина S был значимо ниже, чем у здоровых лиц (Ме-63,2, ДИ: 12,1-110,7, против Ме-79,0, ДИ: 58,3-112,0). Эндогенный потенциал тромбина у пациентов с COVID-19 значимо превышал соответствующие значение

в контрольной группе при исследовании без тромбомодулина, показатель пиковой концентрации тромбина не отличался от нормы (ЕТР Ме-1894,4, ДИ: 1128,8-2789,7 против Ме-1725 ДИ: 1210-2179, Peak Ме-206,3, ДИ: 106,9-404,0 против Ме-288,0, ДИ: 193,0-377,0). При добавлении тромбомодулина выявлено повышение всех количественных показателей генерации тромбина в группе пациентов (ЕТР Ме-1473,8, ДИ: 761,8-2472,2 против Ме-872,2 ДИ: 533,5-1390,2, Peak Ме-189,9, ДИ: 88,2-411,2 против Ме-173,2, ДИ: 113,6-313,1). У пациентов с коронавирусной инфекцией отмечено резкое снижение чувствительности к тромбомодулину в сравнении со здоровыми лицами, что свидетельствует о значительном угнетении работы системы протеина С и соответствует приведенным выше данным о снижении уровня протеина S (Чувствительность к тромбомодулину ЕТР Ме-11,5 ДИ: 0,0-57,2 против Ме-51,0, ДИ: 22,5-65,5; чувствительность к тромбомодулину Peak Ме-4,0, ДИ: 0,0-39,5 против Ме-35,0, ДИ: 14,5-53,5). При сравнении показателей пациентов группы 1 и 2 выявлено только увеличение активности ф.VIII на 3-5 сутки пребывания в стационаре (Ме-139,25, ДИ: 66,07 – 250,5 против Ме-107,0, ДИ: 53,1 – 336,6), по остальным показателям достоверных различий обнаружено не было. При сравнении показателей группы 1 и 3 на 8-10 сутки пребывания в стационаре из отдельных коагуляционных параметров выявлено значимое снижение только концентрации ФГ (Ме-4,6, ДИ: 2,3 – 8,9 против Ме-5,7, ДИ: 2,0 – 10,9). В то же время отмечено достоверное уменьшение генерации тромбина как при исследовании без тромбомодулина (ЕТР Ме-1469,2, ДИ: 334,2-2529,3 против Ме-1894,4, ДИ: 1128,8-2789,7, Peak Ме-137,2, ДИ: 30,9-455,0 против Ме-189,9, ДИ: 88,2-411,2), так и при добавлении такового (ЕТР Ме-1110,5, ДИ: 263,5-2468,1 против Ме-1473,8, ДИ: 761,8-2472,2, Peak Ме-125,4, ДИ: 9,4-446,8 против Ме-189,9, ДИ: 88,2-411,2), что ассоциировалось с некоторым восстановлением чувствительности к тромбомодулину у пациентов группы 3 (Чувствительность к тромбомодулину ЕТР Ме-27,5, ДИ: 0,0-70,7 против Ме-11,5 ДИ: 0,0-57,2; чувствительность к тромбомодулину Peak Ме-8,1,0, ДИ: 0,0-7,3 против Ме-4,0, ДИ: 0,0-39,5).

Заключение. У пациентов в остром периоде COVID-19 наблюдаются значимые протромботические изменения, выражающиеся в повышении отдельных маркеров гиперкоагуляции, снижении эффективности антикоагулянтной системы протеина С, повышении генерации тромбина, которые сохраняются в течение первой недели госпитализации. На фоне проводимой терапии, в частности, назначения антикоагулянтных препаратов, отмечается уменьшение тромбинами по показателям ТГТ, что свидетельствует об эффективности проводимой антитромботической профилактики. ТГТ предоставляет объективную информацию о гемостатическом потенциале в целом и является информативным методом для мониторинга антикоагулянтной профилактики у лиц с COVID-19, в отличие от отдельных показателей коагулограммы.

Моор Ю.В.¹, Поспелова Т.И.², Просвирина Н.В.¹

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ НА ЭТАПЕ МЕДИЦИНСКОГО ОСВИДЕТЕЛЬСТВОВАНИЯ ДОНОРОВ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19

1ГБУЗ Новосибирской области «Новосибирский клинический центр крови», г.Новосибирск

2ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ г.Новосибирск

Введение. Первый случай выявления новой коронавирусной инфекции COVID-19 на территории Новосибирской области зафиксирован в марте 2020 г. Сложная эпидемиологическая ситуация и реальный риск распространения инфекции потребовали усиления противоэпидемических и профилактических мероприятий в ГБУЗ НСО «НКЦК» (Центр крови) с целью предотвращения распространения инфекции среди доноров.

Цель. Оценить эффективность мероприятий, введенных на этапе медицинского освидетельствования доноров для предотвращения распространения новой коронавирусной инфекции в Центре крови.

Материалы и методы. Медицинская информационная система Новосибирской области (МИС НСО); Единая информационная

база донорства (ЕИБД); Журнал первичного приема доноров; Федеральный регистр лиц, больных новой коронавирусной инфекцией (ФР COVID-19); База данных министерства здравоохранения Новосибирской области о гражданах, прибывших из эпидемиологически неблагополучных регионов по коронавирусной инфекции (БД МЗ НСО). Проведен ретроспективный анализ работы Центра крови по медицинскому освидетельствованию доноров в период с 01.03.2020г. по 31.12.2021г.

Результаты. Центр крови с марта 2020 г. начал осуществлять прием доноров согласно требованиям приказа МЗ РФ от 19.03.2020г №198н «О временном порядке организации работы медицинских организаций в целях реализации мер по профилактике и снижению рисков распространения новой коронавирусной инфекции

COVID-19» и санитарного законодательства, для чего был реализован ряд мероприятий. Ограничен допуск к донации лиц, вернувшихся из неблагополучных по коронавирусной инфекции регионов, контактных лиц на срок 28 дней, для чего МЗ НСО организована передача информации о гражданах, прибывших из эпидемиологически неблагополучных регионов, а также гражданах, контактных с заболевшими коронавирусной инфекцией. Ежедневно проводился мониторинг БД МЗ НСО, по информации которого из 31840 жителей Новосибирской области, прибывших из эпидемиологически неблагополучных регионов по коронавирусной инфекции, было выявлено 352 донора. Наложено 224 временных медицинских отводов. На этапе медицинского освидетельствования в режиме online проводился мониторинг за состоянием здоровья всех доноров в МИС НСО и ФР COVID-19 на предмет выявления абсолютных и относительных противопоказаний к донорству, в том числе по причине перенесенной коронавирусной инфекции. По результатам мониторинга оформлено 549 медицинских отводов, в т.ч. абсолютных 166 (30,24%), временных 383 (69,76%). Введен дополнительный этап медицинского освидетельствования доноров - первичный медицинский пост, где осуществлялось проведение предварительного осмотра доноров, измерение температуры тела, выявление лиц, контактных по новой коронавирусной инфекции, лиц с признаками ОРВИ. Основная задача сотрудника данного участка - самостоятельное решение вопроса о допуске посетителя до регистрации. В условиях распространения инфекции все посетители, независимо от наличия или отсутствия жалоб, рассматривались как условно инфицированные. За изучаемый период Центр крови посетили 35835 потенциальных донора, из них не допущены до прохождения

регистрации 912 человек (2,35%). Структура медицинских отводов на этапе предварительного осмотра: повышение температуры тела выше 37,0С и/или признаки ОРВИ - 451 человек (49,45%); ОРВИ в анамнезе (в т.ч. коронавирусная инфекция) - 128 человека (14,04%); возраст старше 60 лет - 38 человек (4,17%); вернулись из эндемичных районов - 141 (15,46%); период вакцинации (менее 30 дней) - 154 человека (16,88%). Дополнительно при передаче каждого компонента донорской крови для клинического применения осуществлялась повторная проверка доноров в МИС и ФР COVID-19, с целью предотвращения выдачи компонентов крови, заготовленных в период серонегативного окна COVID-19. За изучаемый период выявлено 2 случая совершения донации донорами в период серонегативного окна новой коронавирусной инфекции. Компоненты крови забракованы и утилизированы. Донорам наложен временный медицинский отвод.

Выводы. Дополнительные мероприятия, введенные на этапе медицинского освидетельствования доноров в Центре крови, показали свою эффективность. Единый строгий универсальный подход к медицинским отводам донорского контингента в период пандемии, обусловленный соблюдением беспрецедентных мер по предотвращению распространения новой коронавирусной инфекции COVID-19, позволил избежать фактов заражения доноров, во время совершения донации, сотрудников при исполнении ими своих профессиональных обязанностей, а также обеспечить инфекционную безопасность компонентов донорской крови для клинического использования.

Мохов А.С.^{1,2}, Краева Л.А.³, Лебедева Е.А.^{1,2}, Гончаров А.Е.^{1,2}

ГОСПИТАЛЬНЫЕ ШТАММЫ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ С ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К АНТИБИОТИКАМ: ВЛИЯНИЕ ПАНДЕМИИ COVID-19

¹ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» МЗ РФ, Санкт-Петербург,

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург,

³ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Санкт-Петербург

Введение. Пандемия COVID-19 привела к существенным перегрузкам в работе систем здравоохранения во многих странах, нехватке коек и персонала, ассоциированным со снижением приверженности мерам профилактики и контроля нозокомиальных инфекций.

Цель. Целью настоящего исследования являлась оценка возможности формирования госпитальных штаммов микроорганизмов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, в стационарах, репрофилированных для оказания медицинской помощи пациентам с COVID-19.

Материалы и методы. В исследование вошли взрослые пациенты с тяжелыми и среднетяжелыми формами COVID-19 (коды МКБ U07.1, U07.2), поступившие в два крупных стационара, репрофилированных для оказания помощи пациентам с коронавирусной инфекцией в период с мая 2020 по январь 2021 года (1174 пациента). Изучению подверглись результаты микробиологических исследований биоматериала, ассоциированного с респираторным трактом данных пациентов. Дополнительно проведено молекулярно-генетическое типирование карбапенем-устойчивых штаммов *K. pneumoniae* и панрезистентных штаммов *A. baumannii* с использованием метода RAPD – ПЦР в сочетании с определением интегров I класса. Кроме того, все штаммы были протестированы на наличие гена карбапенемаз *bla* NDM.

Результаты. Лидирующими патогенами являлись *K. pneumoniae* и *A. baumannii*. При этом полученные данные свидетельствуют о формировании в стационаре нескольких генетических линий – не менее двух у карбапенем-резистентных *K. pneumoniae* и не менее

трех среди *A. baumannii*.

Особый интерес представляет собой высокая доля интегрон-позитивных изолятов у *K. pneumoniae* (73,3%), и *A. baumannii* (63,6%). Секвенирование геномов шести панрезистентных штаммов *K. pneumoniae* позволило выявить гены металобеталактомаз *bla* NDM-1, *bla* NDM-5 и *bla* OXA-48, у гипервирулентных представителей сиквенстипов ST 395 и ST 8777.

Помимо этого, в исследовании установлено, что присоединение бактериальной патогенной флоры ассоциировано с летальным исходом у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии с COVID-19 (OR = 2,19 (95% ДИ 1,15-4,12, p=0,006)), причем наибольший вклад в ассоциированную летальность вносят случаи присоединения гипервирулентных карбапенем-резистентных штаммов *K. pneumoniae* (OR = 4,3 (95% ДИ 1,8 - 10,3) p= 0,0003).

Выводы. Пандемия COVID-19 обострила проблему распространения и циркуляции в стационарах бактерий с множественной антибиотикорезистентностью. Высокий уровень заражения данными микроорганизмами в стационарах для лечения COVID-19 может быть объяснен факторами, связанными с экстренным характером оказания медицинской помощи. Обилие генов антибиотикорезистентности, создает серьезную угрозу образованию супербактерий с эпидемическим потенциалом во время пандемии COVID-19, что обосновывает необходимость постоянного микробиологического мониторинга в стационарах для лечения новой коронавирусной инфекции наряду со строгим соблюдением требований инфекционного контроля в данных учреждениях.

Назарова Е.Л., Минаева Н.В., Сухорукова Э.Е., Коробов С.О., Шардаков В.И.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ И МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ

ФГБУН "Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства", Киров

Введение. Развитие инфекционного процесса и степень его тяжести связаны с состоянием иммунной системы пациента, с вирулентными свойствами инфекционного агента, с его инфицирующей дозой, а также с наличием и активностью определенных генов. В патогенезе хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) и множественной миеломы (ММ) играют роль факторы внешней среды, генетические особенности клеток опухолевого клона и структурные характеристики генома человека. Субстрат обеих опухолей представлен злокачественно трансформированными клетками, относящимися к терминально дифференцированным стадиям общего предшественника лимфоцитоза, с aberrантным иммуномодулирующим потенциалом. Отличительной особенностью ХЛЛ и ММ является частое развитие инфекционных осложнений, спектр которых колеблется от рецидивирующих респираторных заболеваний до фатальных септических состояний с полиорганной недостаточностью.

Цель. Выявить частоту распространения полиморфных сайтов генов иммунного ответа при инфекционных осложнениях у больных хроническим лимфолейкозом и множественной миеломой.

Материалы и методы. Обследовали 150 больных ХЛЛ и 192 - с ММ. Методом полимеразной цепной реакции с аллель-специфичными праймерами и с электрофоретической детекцией продуктов реакции в агарозном геле проведено генотипирование локусов TLR2, TLR3, TLR4, TLR9, IL1 β , IL2, IL4, IL6, IL10, IL17A, TNF α , TGF β , CD14 и FCGR2A в геномной ДНК, полученной из венозной крови взрослых больных в дебюте ХЛЛ и ММ. Инфекции охарактеризованы как осложнения средней степени тяжести или тяжелые, требующие госпитализации, или приведшие к смерти пациента. При сравнении групп пациентов по категориальным признакам использовали критерий χ^2 Пирсона χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность и с поправкой на правдоподобие в случаях множественных сравнений ≥ 3 . При количестве исследований ≤ 5 использовался точный двусторонний критерий Фишера (F). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. На протяжении первых 12 месяцев лечения инфекционные осложнения наблюдались у 63 (42,0%) пациентов с ХЛЛ и у 111 (57,8%) - с ММ. Инфекции при ХЛЛ обнаружены у носителей мутантных гомозигот TLR9 2848TT ($\chi^2=9,613$, $p=0,009$), гетерозигот TLR4 896AG ($\chi^2=7,730$, $p=0,021$), аллеля дикого типа IL6-174C

($\chi^2=4,134$, $p=0,043$) и гомозигот IL6-174CC ($\chi^2=8,344$, $p=0,016$). Развитие инфекций у больных ММ выявлено при наличии аллеля дикого типа TLR6 745A ($\chi^2=8,486$, $p=0,004$) и генотипов его содержащих гена TLR6 ($\chi^2=8,281$, $p=0,016$). Оценивая этиологическую структуру инфекционных осложнений обнаружено, что при ХЛЛ и ММ бактериальные инфекции наблюдались в 41,3% и 49,6%, вирусные - в 23,8% и 12,6%, грибковые - в 3,2% и 3,6%, бактериально-вирусные - в 19,1% и 18,0%, бактериально-грибковые - в 6,3% и 11,7%, бактериально-вирусно-грибковые - в 6,3% и 4,5% случаев соответственно. У больных ХЛЛ с инфекциями бактериальной этиологии выявлена более высокая частота носительства мутантных гомозигот IL1 β -31AA (F=0,0240, $p < 0,05$), аллеля дикого типа IL10-1082T ($\chi^2=5,875$, $p=0,016$) и гомозигот IL10-1082TT ($\chi^2=6,043$, $p=0,049$). При бактериально-вирусных - преобладание гетерозигот IL1 β -1473CG (F=0,0155, $p < 0,05$), при бактериально-грибковых - мутантного аллеля IL1 β 3953A (F=0,0247, $p < 0,05$) и гомозигот IL1 β 3953AA (F=0,0103, $p < 0,05$), при грибковых - мутантного аллеля IL6-174G (100% vs. 42,6%, F=0,0367, $p < 0,05$). При ММ бактериально-вирусные процессы встречались при носительстве гомозигот дикого и мутантного типов гена TLR9 2848G>A ($\chi^2=8,045$, $p=0,018$), аллеля дикого типа IL1 β -511A ($\chi^2=9,022$, $p=0,003$) и гомозигот IL1 β -511AA ($\chi^2=13,286$, $p=0,002$). Вирусные инфекции - гетерозигот IL1 β -1473CG ($\chi^2=7,910$, $p=0,020$) и FCGR2A 500AG ($\chi^2=9,102$, $p=0,011$), бактериально-грибковые - мутантного аллеля TLR2 2258A ($\chi^2=4,976$, $p=0,026$) и гомозигот TLR2 2258AA ($\chi^2=9,173$, $p=0,011$), аллеля дикого типа IL6-174C ($\chi^2=8,117$, $p=0,005$) и гомозигот IL6-174CC ($\chi^2=11,998$, $p=0,003$), а также мутантного аллеля CD14-135C ($\chi^2=5,850$, $p=0,016$) и гомозигот CD14-135CC ($\chi^2=9,614$, $p=0,009$).

Выводы. Выявление генетических маркеров предрасположенности к развитию инфекционных осложнений в дебюте ХЛЛ и ММ позволит индивидуализировать тактику сопроводительной терапии и улучшить качество жизни пациентов. В связи этим крайне важным становится активное проведение диагностических мероприятий, направленных как на поиск генов предрасположенности к инфекционным процессам, что приведет к снижению риска активных инфекций, при необходимости - к эскалации антимикробной терапии и повышению эффективности специфического лечения.

Нора С.А., Архипов Г.С., Архипова Е.И.

АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПРИ ПОСТКОВИДНОМ СИНДРОМЕ: КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого», Великий Новгород

Введение. В 2020 году человечество столкнулось с новой коронавирусной инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2 и получившей позднее название COVID-19. В течение всего периода пандемии (2020-2022 гг.) новое заболевание изучается всесторонне. Одним из крайне важных аспектов изучения COVID-19 является исследование постковидного синдрома (Long COVID) - отдаленных последствий перенесенного заболевания, затрагивающих различные органы и системы. Наиболее часто авторами описываются неврологические, психические, офтальмологические, гематологические, сердечно-сосудистые проявления постковидного синдрома, которые в различной степени могут проявиться после перенесенного заболевания и сохраняться длительное время (от 3-4 месяцев до 1-2 лет по предварительным данным). Отдельного внимания тре-

бует изучение характерной аллергической симптоматики при постковидном синдроме.

Цель. На примере отдельных клинических случаев выявить характерные симптомы аллергических реакций при постковидном синдроме.

Материалы и методы. Были отобраны клинические случаи за 2021-2022 гг. пациентов Новгородской области, у которых развивалась характерная аллергическая симптоматика после перенесенного COVID-19 или проведения специфической профилактики против COVID-19. Рассмотрены анамнестические данные пациентов, данные индивидуального и семейного аллергоанамнеза, данные иммунного статуса. Показаны возможные схемы лечения аллергических реакций при постковидном синдроме.

Результаты. Было изучено 4 клинических случая развития аллергических реакций при постковидном синдроме. Все случаи объединяет схожая клиническая картина: развитие симптомов крапивницы и ангионевротического отека различной степени тяжести, проявившихся впервые после перенесенной инфекции COVID-19 или после проведения специфической профилактики. Во всех случаях отмечается: отягощенный алергоанамнез (перенесенные ранее аллергические заболевания и/или упоминание о наличии аллергической реакции на введение лекарственного препарата или вакцины), повышение показателя общего IgE (в диапазоне от 100 до 400 МЕ\мл). В части случаев лечение таких пациентов антигистаминными препаратами оказывалось неэффективным. При дальнейшем назначении иммуномодуляторов (препаратов интерферона $\alpha 2b$), стабилизаторов мембран тучных клеток, глюкокортикостероидов (ГКС) состояние пациентов улучшалось, добиться

полного отсутствия симптомов удавалось в различные сроки (от 2 недель до 4 месяцев).

Выводы. Несмотря на единичные случаи манифестации аллергических заболеваний после перенесенной инфекции или вакцинации против новой коронавирусной инфекции, следует помнить о том, что данные явления развиваются редко. В большинстве случаев симптомы крапивницы и ангионевротического отека развиваются при наличии в анамнезе аллергических реакций. Отдельно следует учитывать наличие полиморбидности и полипрагмазии как фактор риска развития аллергических реакций при постковидном синдроме. Вовремя выявленные нарушения иммунитета (гиперчувствительность) поддаются коррекции, однако описанные нарушения могут сохраняться длительно (от 2 недель до 4 месяцев и более) после перенесенной инфекции COVID-19.

Поляков Ю.Ю.¹, Андреев С.С.¹, Калужская К.В.¹, Барях Е.А.^{1,2,3}, Гемдзян Э.Г.⁴, Мисюрин Е.Н.¹, Желнова Е.И.¹, Яцков К.В.¹, Кочнева О.Л.¹, Чуднова Т.С.¹, Иванова Д.Д.¹, Толстых Т.Н.¹, Литвиненко М.С.¹, Самсонова И.В.¹, Лысенко М.А.^{1,2}

ПРЕДИКТОРЫ ВНУТРИГОСПИТАЛЬНОЙ ЛЕТАЛЬНОСТИ БОЛЬНЫХ С ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И ПРИСОЕДИНИВШЕЙСЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ОСЛОЖНЕННОЙ СЕПСИСОМ

¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения

г. Москвы», Москва

² ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Минздрава России, Москва

³ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

⁴ ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Москва

Введение. Инфицирование коронавирусной инфекцией (COVID-19) повышает риск неблагоприятных событий у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями (ЛПЗ).

Цель. Выявление предикторов внутригоспитальной летальности у взрослых больных ЛПЗ с присоединившимся COVID-19, осложненной сепсисом.

Материалы и методы. С апреля 2020 по декабрь 2021 гг. на базе гематологической службы городской клинической больницы №52 (г. Москва, Россия) наблюдались 335 пациентов (53% мужчин и 47% женщин) в возрасте от 18 до 92 лет (медиана 65) с ЛПЗ и COVID-19. Для определения предикторов внутригоспитальной летальности построена кривая общей выживаемости и проведен многофакторный (линейная логистическая регрессия) статистический анализ (по намерению лечить).

Результаты. В ретроспективное исследование включены пациенты с нозологиями: диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома, первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома, лимфома из клеток мантийной зоны, лимфома из клеток маргинальной зоны, волосатоклеточный лейкоз, лимфома Ходжкина, лимфома Беркитта и Т-клеточная лимфома.

Индекс коморбидности Charlson составил 5 баллов, медиана от появления первых симптомов до госпитализации в стационар - 7 суток. Статус гематологического заболевания: ремиссия 143 (43%), рецидив/прогрессия 76 (23%), стабилизация 96 (29%), впервые выявленный гемобластоз 16 (5%). У 67% пациентов: среднетяжелая и тяжелая степень поражения легочной ткани. Нейтропения 4 степени наблюдалась у 150 пациентов, преобладал высокий уровень С-реактивного белка (медиана 115 мг/л), значительное повышение уровня Д-димера (медиана 912 нг/мл) и фибриногена (медиана 6,5 г/л). Сепсис диагностирован у 83 пациентов из 335 (24,8%), 52 (15,5%) с летальным исходом. Полихимиотерапия ЛПЗ в течении пред-

шествующего месяца до манифестации COVID-19 проводилась 182 пациентам. Анти-CD20 моноклональные антитела в течении года до манифестации COVID-19 применялись у 209 пациентов. Госпитализация в ОРИТ - 84 пациента из 335 (25%), у 54 (16%) был диагностирован сепсис, средний койко-день в ОРИТ составил 9 суток, 69 из 335 пациентов (21%) требовалась инвазивная искусственная вентиляция легких (ИВЛ).

Проводилось культуральное исследование крови до начала антибактериальной терапии. Наиболее распространенные патогены, выделенные из гемокультуры - *Klebsiella pneumoniae* (27,3%), *Enterococcus faecium* (15,3%), *Escherichia coli* (14,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (13,6%), *Acinetobacter baumannii* (11,4%), *Candida species* (5,7%). Отмечена высокая частота инфекций, обусловленных экстремальнорезистентными и панрезистентными возбудителями, в том числе карбапенемрезистентными *Enterobacteriales* (в том числе продуцентами карбапенемазы OXA-48-like и металлобеталактамазы NDM), *Ac.baumannii* (с доказанной продукцией OXA-23-like, OXA 40-like, OXA-51-like карбапенемазы), *Ent.faecium*, резистентного к ванкомицину и *Candida auris*.

Выводы. Летальность в группе с ЛПЗ сопряженной с COVID-19 составила 21%. Были выделены следующие предикторы внутригоспитальной летальности: возраст (>65 лет), 2.0 (1.1-5.2), $p=0.05$; статус гематологического заболевания (рецидив или прогрессия/ремиссия), 2.4 (1.3-4.3), $p=0.008$; степень поражения по компьютерной томографии органов грудной клетки (4/0), HR=2.9 (95% CI: 1.2-7.1), $p=0.004$ и нейтропения 4 степени (yes/no), 1.5 (0.9-2.7), $p=0.09$. Коронавирусная инфекция, осложненная сепсисом, является крайне неблагоприятным фактором внутригоспитальной летальности у пациентов с гемобластомами. Верификация инфекционного агента и ранняя этиотропная антибактериальная терапия повышают шансы на благоприятный исход заболевания.

Попова М.О., Рогачева Ю.А., Синяев А.А., Фомина Ж.Г., Пинегина О.Н., Спиридонова А.А., Голощанов О.В., Власова Ю.Ю., Морозова Е.В., Владовская М.Д., Бондаренко С.Н., Мусеев И.С., Кулагин А.Д.

ЭМПИРИЧЕСКАЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ ФЕБРИЛЬНОЙ НЕТРОПЕНИИ НА ОСНОВЕ КОЛОНИЗАЦИИ РЕЗИСТЕНТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ ПРИ АЛЛО-ТГСК

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Введение. Повышение устойчивости и ограниченный арсенал новых антибиотиков, особенно против резистентных грамотрицательных бактерий (РГОБ), требуют тщательно разработанных схем лечения антибиотиками как части программы управления антимикробными препаратами у реципиентов алло-ТГСК. Колонизация или предшествующая инфекция, обусловленная РГОБ является наиболее важным фактором риска развития инфекции РГОБ в раннем периоде после алло-ТГСК. Роль адекватной колонизирующим микроорганизмам начальной эмпирической антибактериальной терапии у пациентов с фебрильной нейтропенией (ФН) у пациентов после алло-ТГСК по-прежнему является предметом споров.

Цель. Оценить эффективность протокола эмпирической антибактериальной терапии, основанного на колонизации в период до приживления при алло-ТГСК в рамках проспективного исследования.

Пациенты и методы. С мая 2020 был внедрен новый протокол эмпирической антибактериальной терапии ФН, основанный на колонизации в период до приживления при алло-ТГСК. В основе диагностики колонизации лежал метод быстрого обнаружения колонизации прямой кишки РГОБ (ESBL, карбапенемаза) с помощью CHROMagar в дополнение к рутинному скринингу микробиологических культур и мониторингу нестерильных сайтов (стул, зев, моча), которые послужили ориентиром при выборе препаратов стартовой эмпирической терапии антибактериальной. Первоначальная эмпирическая терапия была разработана в соответствии с механизмом устойчивости или чувствительности колонизатора на дату начала ФН. В течение 12 месячного периода реализации протокола мы включили 110 взрослых реципиентов первой алло-ТГСК. Контрольная группа: взрослые пациенты, которым проведена первая алло-ТГСК с января по декабрь 2019 г. (n=139). Группы были сопоставимы по основным характеристикам пациентов и ТГСК. Медиана времени наблюдения после алло-ТГСК составила 142 (6-436) дней.

Результаты. Значительно более высокая частота колонизации РГОБ как ESBL, так и карбапенерезистентными бактериями была об-

наружена у реципиентов алло-ТГСК к моменту развития ФН с помощью скрининга CHROMagar. Общая доля идентифицированной колонизации составила 85,5% против 36,7% (p<0,001), ESBL – 57,3% против 25,5% (p<0,001), карбапенемазы – 28,2% против 11,5% (p<0,001). Три основных колонизатора, обнаруженных традиционным методом микробиологического культивирования, были: *Klebsiella pneumoniae* – 40%, *Escherichia coli* – 27,2%, *Pseudomonas aeruginosa* – 16,2% в контрольной группе и 67,4% (p<0,05), 19,6%, 9,8% в исследуемой группе. Отмечается снижение частоты доли карбапенемрезистентных бактерий в структуре этиологии микробиологически подтвержденных инфекций кровотока при применении нового протокола: ESBL 50% против 20,7%, карбапенемаза 50% против 79,3% (p=0,01). ОВ в течение 100 дней после диагностики инфекций кровотока, обусловленной РГОБ, составляла 74,2% против 65,5% (p=0,495), однако отмечалось достоверное снижение частоты перевода пациентов в ОРПТ при применении нового протокола 6,4%, ранее 20,1% (p=0,002). В группе 2019 года 100-дневная трансплантационная летальность составила 9,8% для неколонизированных пациентов, однако трансплантационная летальность для колонизированных пациентов составила 33,3% (p=0,009, HR 3,650 (1,386 - 9,609)). Внедрение нового протокола привело к отсутствию отличия в трансплантационной летальности у колонизированных и неколонизированных пациентов (p=0,612). Общая трансплантационная летальность после алло-ТГСК в течение 100 дней не отличалась в контрольной и исследуемой группах (p=0,051, HR 0,467 (0,217 - 1,004)), однако трансплантационная летальность значительно снизилась у колонизированных пациентов в исследуемой группе с 33,3% до 7,5% (p=0,001, HR 0,205 (0,082 - 0,515)).

Заключение. Новый протокол антибактериальной терапии, основанный на колонизации в период до приживления при алло-ТГСК, продемонстрировал значительное улучшение выявления пациентов, колонизированных резистентными грамотрицательными бактериями, и привел к достоверному снижению 100-дневной трансплантационной летальности у колонизированных пациентов.

Попонина Е.А., Бутина Е.В., Йовдий А.В., Минаева Н.В.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ АНТИГЕНОВ СИСТЕМ MNS, KIDD, DUFFY В ГРУППАХ ДОНОРОВ, БОЛЕВШИХ И НЕ БОЛЕВШИХ COVID-19

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

Введение. Мембрана эритроцитов несёт на себе белки, гликопротеины и гликолипиды, которые представляют собой антигены различных систем групп крови. Они выполняют множество функций, в частности мембранных переносчиков (Diego, Kidd), рецепторов и молекул адгезии (Duffy, Lutheran), а также ферментов (Yt, Kell, Dombrock), являются компонентами гликокаликса (MNS). Учитывая актуальность проблемы новой коронавирусной инфекции, особый интерес представляет исследование участия антигенов эритроцитов в её развитии.

Цель исследования. Сравнить распределение антигенов систем MNS, Kidd, Duffy у лиц, болевших и не болевших COVID-19.

Материалы и методы. Частота эритроцитарных антигенов систем MNS, Kidd, Duffy исследована у 329 доноров компонентов крови с помощью оборудования и реактивов фирм BioRad (США), OrthoClinicalDiagnostics (США), «Гематолог» и «Северо-Запад» (Рос-

сия) в период с февраля 2020 по февраль 2021 г. (до начала проведения вакцинопрофилактики). Доноров разделили на две группы: 71 человек перенес COVID-19, 258 – нет. Возраст составил от 20 до 63 лет, медиана 38 лет. Диагноз COVID-19 подтвержден положительным результатом теста ПЦР и/или наличием антител класса G к вирусу SARS-Cov2. Сравнение групп проводили с помощью точного критерия Фишера.

Результаты. Частота заболеваемости COVID-19 у лиц, имевших в фенотипе Fya составила 18,1%. В группе доноров без антигена Fya переболели COVID-19 30,4% (p=0,02). Частота заболевания у лиц с носительством Fyb и без такового не различалась: 21,9% и 20,5% соответственно.

При исследовании распределения антигенов системы MNS статистически значимых различий между группами не получено. Частота фенотипов M+N- у болевших и не болевших COVID-19 со-

ставила 32,2% и 29,8%, M+N+ - 49,3% и 49,6%, M-N+ - 18,3% и 20,5% соответственно. Распределение фенотипов S+s- (14,1% у болевших vs 12,8%), S+s+ (33,8 vs 37,2%) и S-s+ (52,1% vs 50,0%) в двух группах не отличалось.

Отсутствие антигена Jka ассоциировалось со снижением заболеваемости COVID-19 в два раза, по сравнению с лицами, у которых Jka выявлялся (12,5% vs 24,5%, $p < 0,05$). Носительство Jkb на частоту заболевания не влияло.

Выводы. Эритроциты следует рассматривать как важные мо-

дуляторы иммунного ответа. Выявлена связь носительства антигенов Fya и Jka с частотой инфицирования вирусом SARS-CoV-2. Отсутствие антигена Fya ассоциировалось с более высокой частотой заболевания, тогда как отсутствие антигена Jka, напротив, было связано с низкой встречаемостью COVID-19. Полученные результаты согласуются с данными других авторов об участии антигенных систем эритроцитов в развитии новой коронавирусной инфекции, однако вопрос требует дальнейшего изучения.

Рогачева Ю.А.¹, Маркелов В.В.¹, Попова М.О.¹, Волкова А.Г.¹, Николаев И.Ю.¹, Пинегина О.Н.¹, Игнатъева С.М.², Богомолова Т.С.², Волков Н.П.¹, Бондаренко С.Н.¹, Клишко Н.Н.^{1,2}, Кулагин А.Д.¹

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ СОВРЕМЕННОЙ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

¹НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург

²ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Инвазивный аспергиллез (ИА) является преобладающим среди инвазивных микозов (ИМ) после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК).

Цель. Целью исследования являлось изучение эпидемиологии прорывного ИА на фоне применения противогрибковой профилактики у когорты взрослых реципиентов алло-ТГСК.

Методы. Мы проанализировали 672 взрослых пациента, получивших алло-ТГСК с 2017 по 2020 гг. в СiC 725. Пациенты были разделены на 3 группы в соответствии с типом противогрибковой профилактики в течение 100 дней посттрансплантационного периода: Группа 1 - первичная противогрибковая профилактика флуконазолом (низкий риск, $n=434$); 2-я группа - первичная противогрибковая профилактика препаратами активными в отношении плесневых возбудителей ИМ (высокий риск, $n=212$) и 3-я группа - вторичная противогрибковая профилактика у пациентов с предсуществующим ИА ($n=26$). В течение 1-летнего периода наблюдения было диагностировано 2 доказанных и 41 вероятный случай прорывного ИА в соответствии с критериями EORTC / MSG. Медиана времени наблюдения за всеми пациентами составила 12 (0-51) месяцев.

Результаты. При сравнительном анализе групп обнаружено, что в группе пациентов высокого риска чаще наблюдали отсутствие полной ремиссии основного заболевания ($p=0,002$), повторная алло-ТГСК ($p < 0,001$), трансплантация от гаплоидентичного донора ($p < 0,001$), реактивация ЦМВ ($p < 0,001$), острая РТПХ 3-4 степени ($p < 0,001$), тяжелая хроническая РТПХ ($p=0,010$) и применение режима кондиционирования со сниженной интенсивностью ($p=0,001$). К группе низкого риска относились пациенты, которым выполнена алло-ТГСК от полностью совместимого родственного ($p=0,002$) и неродственного доноров ($p=0,009$), использование милоаблативного режима кондиционирования ($p < 0,001$). Частота прорывного ИА в течение 1 года после алло-ТГСК в группе низкого риска ИМ после первой и повторной алло-ТГСК составила 3,7%

и 8,6% соответственно, в группе высокого риска ИМ - 10% и 26%, у пациентов с предсуществующим ИА - 5% и 14% соответственно. Многофакторный анализ показал, что значимыми факторами риска развития ИА после алло-ТГСК в группе низкого риска ИМ был диагноз Ph(-) МПН ($p=0,025$), а в группе высокого риска ИМ - диагноз НХЛ ($p=0,007$). Медиана времени развития прорывного ИА составила 66 (2-282) дней. Основными органами поражения были легкие (93%), носовые пазухи - 2%, диссеминированное поражение - 5%. Прорывной ИА был диагностирован благодаря исследованию ГМ, микроскопии и культуральному исследованию жидкости бронхоальвеолярного лаважа или промывной жидкости околоносовых пазух, в 41% случаев полена культура возбудителя. Этиология ИА представлена: *Aspergillus niger* - 8 (42%), *Aspergillus fumigatus* - 7 (36%), *Aspergillus flavus* - 2 (11%), *Aspergillus terreus* - 1 (5%), *Aspergillus spp.* - 1 (5%). Общая 12-ти недельная выживаемость у пациентов с прорывным ИА составила 74,4%, в группе низкого риска - 75%, в группе высокого риска - 72%, в группе пациентов с предсуществующим ИА - 100%. Общая 12-ти недельная выживаемость у пациентов с прорывным ИА, развившемся после первой алло-ТГСК составила 80%, после повторной алло-ТГСК - 61,5% ($p=0,261$).

Выводы. Частота прорывного ИА в течение 1 года после первой алло-ТГСК составила от 3,7% до 10% и зависела от группы риска. Идентифицирована группа сверхвысокого риска - повторная алло-ТГСК в группе высокого риска и с предсуществующим ИА, где, несмотря на проведение первичной или вторичной противогрибковой профилактики препаратами активными в отношении плесневых возбудителей, ИА развился у 26% и 14% соответственно. Диагноз Ph(-) МПН является фактором риска развития ИА в группе низкого риска, а диагноз НХЛ - в группе высокого риска. Основным возбудителем ИА был *Aspergillus niger*, органом поражения - легкие. Общая 12-ти недельная выживаемость у пациентов с прорывным ИА составила 74,4%.

Романенко Н.А.

ЧАСТОТА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ СВЯЗАННЫХ С КАТЕТЕРИЗАЦИЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ВЕНЫ И КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫЕ ИНФЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СИСТЕМЫ КРОВИ

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

Введение. Катетеризация центральной вены и постановка центрального венозного катетера (ЦВК) позволяет обеспечить со-

судистый доступ для проведения трансфузионной, инфузионной, афферентной, противоопухолевой, антибактериальной терапии, а

также заготовки кроветворных стволовых клеток у больных заболеваниями системы крови.

Цель. Изучить частоту осложнений, связанных с непосредственной процедурой катетеризации и возникновением инфекционных осложнений, ассоциированных с ЦВК.

Материалы и методы. Проведен анализ катетеризаций центральных вен у 2856 больных различными заболеваниями системы крови в возрасте 21-89 лет (Me=51,5 года) в гематологической клинике с 2003 по 2021 гг. Катетеризацию правой подключичной вены осуществляли у 2344 (82,1%) пациентов, левой – у 503 (17,6%), внутренней яремной – у 9 (0,3%). В качестве анестезии использовали лидокаин 1% и крайне редко – 0,5% новокаин (у 6 больных), в одном случае в связи с аллергией местная анестезия кожи анестезином. При возникновении фебрильной лихорадки и подозрении на инфекцию кровотока проводили бакпосев крови.

Результаты. В ходе исследования выявлено, что непосредственно связанные с самой процедурой постановки ЦВК осложнения отмечались следующие виды осложнений: 1) гематома – у 117 (4,1%) больных; 2) пункция артерии – а. Subclavia Dextra или а. Subclavia Sinistra – у 79 (2,8%), в одном случае даже была катетеризована а. Subclavia Dextra; 3) кровотечение после постановки ЦВК из места пункции или локализации катетера – у 78 (2,7%), из которых у 54 (1,9%) больных отмечались кровотечения непосредственно после процедуры, а у 24 (0,8%) пациентов – спустя 2-4 часа, при этом 24

(0,8%) пациентам консервативные меры были не эффективны и для остановки кровотечения потребовалось удалить ЦВК; 4) выраженная лимфорей из места прохождения катетера – у 41 (1,4%); 5) у 4 – пневмоторакс и у 2 – кровохарканье (в течение 1-4 часов) с клинически не значимым пневмотораксом (0,2%); 6) локальная боль, парестезии и слабость верхней конечности (продолжительностью до 1-2 суток) документированы у 45 (1,6%) больных; 7) общая слабость, коллапс – у 32 (1,1%); 8) аллергическая реакция (на анестетик) в виде отека Квинке – у 2-х (0,1%). Отсроченные осложнения, которые документированы на 1-21 сутки констатировались в виде инфильтрата с тромбозом вены и тромбозом в. Subclavia – у 74 (2,6%) пациентов, они часто ассоциировались с инфекцией кровотока. Катетер-ассоциированные инфекции нами документированы у 71 (2,5%) больного: грам положительная культура определена в 61,8% случаев, грам отрицательная – в 30,4%. При этом у 12 определено 2 и более культуры микроорганизмов.

Выводы. Среди катетер-ассоциированных осложнений наиболее частыми являются те, которые непосредственно связаны с техникой выполнения процедуры и обусловленные нарушением гемостаза (преимущественно тромбоцитарного), в виде геморрагического синдрома (гематома) и пункция артерии. Среди отсроченных – инфекционные осложнения, из которых преобладала грам-положительная микрофлора.

Романенко Н.А., Киселева Е.Е., Кулешова А.В., Кайтанджан Е.И., Стельмашенко Л.В., Чеботкевич В.Н., Шилова Е.Р.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

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

Введение. Новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 (COVID-19) относится к особо опасным респираторным инфекциям, имеющая популяционную летальность 2-5%. Однако у лиц с иммунодефицитом, включая больных гемобластомами, получивших противоопухолевую химиотерапию, в результате которой развилась постцитостатическая цитопения, частота смертельных исходов значительно выше.

Цель. Провести анализ течения COVID-19 у больных различными онкогематологическими заболеваниями, получавших противоопухолевую терапию.

Материалы и методы. Наблюдалось 32 больных гемобластомами, находившихся на лечении в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России с 03.2020 по 02.2021. В этот период у пациентов проводилось лечение химиопрепаратами и у них в ходе лечения возникло заболевание новой коронавирусной инфекцией COVID-19, подтвержденное методом ПЦР. Возраст больных составлял от 31 до 81 года (62,4±12,3 года). Варианты онкогематологических заболеваний: лимфома Ходжкина (n=1), неходжкинские лимфомы (n=5), хронический лимфолейкоз (n=5), множественная миелома (n=7), хронический миеломоноцитарный лейкоз (n=3), острый миелоидный лейкоз (n=3), МДС с избытком бластов-1 (n=7), первичный миелофиброз (n=1). Дата заболевания новой коронавирусной инфекцией констатировалась с момента положительного ПЦР теста на COVID-19, хотя заболевание могло уже быть в течение 1-4 дней. После подтверждения диагноза на COVID-19 больных переводили в инфекционный стационар, специализирующийся по новой коронавирусной инфекции, для их лечения. Наличие пневмонии подтверждалось с помощью рентгенограмм и КТ; мониторировали термометрию, ЭКГ, ча-

стоту дыхания и сатурацию крови пульсоксиметром.

Результаты. Из 32 пациентов с документированной инфекцией COVID-19 у 17 (53,1%) определялись высокая лихорадка (39,5-40,2°C), констатирована пневмония и существенное снижение сатурации (<91%). Этим больным проводилась антибактериальная, противовирусная терапия, вводились внутривенный иммуноглобулин, глюкокортикоиды, парацетамол, а при дыхательной недостаточности – увлажненный кислород через маску или нозальные катетеры. Тем не менее, на фоне прогрессирования дыхательной недостаточности 7 из 17 больных с тяжелым течением новой коронавирусной инфекции погибли; летальный исход наступал на 3 – 9 дни, с момента констатации диагноза. У 15 (46,9%) больных температура не повышалась выше 37,5-38,0°C, на рентгенограммах признаков пневмонии не выявлялось, сатурация не падала ниже 93-95%, общее состояние их расценивалось как удовлетворительное. Эти пациенты получали противовирусное и симптоматическое лечение. Однако 2 пациента умерло на 16 и 17 дни (один от быстро нарастающей дыхательной недостаточности, второй от тромбоэмболии легочной артерии). При этом, летальные исходы значительно чаще констатированы у больных множественной миеломой (у 6 из 7, что составило 85,7%).

Вывод. Новая коронавирусная инфекция особо опасна для иммунокомпрометированных пациентов с онкогематологическими заболеваниями, для которых летальность составила 28,1%. Учитывая высокую смертность в данной категории больных необходимо им по возможности проводить профилактические прививки, а на период терапии важно соблюдение строгих мер карантина.

Ромашова Ю.Е., Вильянинов В.Н., Бельгесов Н.В., Калеко С.П., Голубцов О.Ю.

ОБСЛЕДОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ НА НАЛИЧИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ М И G К НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

Введение. Безопасность донорства крови и ее компонентов, как и качество заготавливаемых гемотрансфузионных средств, является краеугольным камнем современной трансфузиологии. Организация и содержание технологий обследования доноров, заготовки, хранения и клинического применения таких средств строго регламентированы. Однако эти требования разработаны применительно к условиям, неотягощенным сложной эпидемиологической обстановкой, обусловленной новой коронавирусной инфекцией.

Факт внутриклеточного проникновения этого вируса в организм инфицированного человека установлен, однако опасность передачи такой инфекции гемотрансмиссивным путем клинически не определена. Тем не менее, организация работы подразделений службы крови в условиях эпидемии, особенно пандемии Covid-19, требует изучения и анализа возможных дополнительных факторов риска при организации донорства и клинического применения компонентов крови.

Цель. Выяснить уровень системы безопасности донорства крови и ее компонентов при работе подразделения службы крови в условиях пандемии Covid-19.

Материалы и методы. Обследовано 6782 человека 18–24-летнего возраста – жителей Санкт-Петербурга потенциальных доноров с использованием иммунологических методик определения иммуноглобулинов М и G к вирусу Covid-19. Ограниченные сроки исследования и наличие апробированных диагностических тестов позволило успешно сочетать указанные исследования с повседневной работой подразделений Центра (крови и тканей) Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова.

Взятие проб крови осуществлялось в плановом порядке в вакуумные пробирки К2 ЭДТА по 4 мл. Исследование проводилось в два этапа:

- 1-й – с 19.05.2020 по 15.07.2020 г., обследовано 3456 человек;
- 2-й – с 20.10.2020 по 28.12.2020 г., обследовано 3326 человек.

Результаты. Ограниченное количество диагностических наборов для определения антиковидных антител не позволило выявить корреляцию встречаемости лиц, имеющих антитела к вирусу Covid-19 с показателями заболеваемости в популяции лиц молодого возраста.

Работа выполнялась в 2 этапа: осенний и весенний периоды 2020 г. Известно, что в Санкт-Петербурге проживает 326760 человек в возрасте 18–24 лет, из которых обследованы 6782 человека (2,07%). Отрицательный результат (отсутствие антител к Covid-19) получен у 93,5% обследованных на двух этапах исследования. Более низкие показатели встречаемости антител к Covid-19 были у лиц, обследованных в весенний период.

У 92 человек (1,36% от общего числа тестированных за оба периода) были выявлены иммуноглобулины М и G к вирусу Covid-19, что свидетельствовало о наличии заболевания, протекающего либо скрытно без клинических признаков, либо с невыраженными симптомами острой респираторной вирусной инфекции. Эти лица были отстранены от донорства и направлены на дополнительное обследование и наблюдение по месту жительства.

У 279 человек (4,11% от общего числа обследованных) выявлен иммуноглобулин G, что свидетельствует о перенесенном процессе. После дополнительного обследования они привлекались к донации плазмы, которая подвергалась патогенредукции и использовалась в клинической практике. Тем не менее, хотя данные подтверждают безопасность и потенциальную эффективность реконвалесцентной плазмы, необходима рандомизация исследования.

Заслуживает внимания факт сравнительно высокой частоты встречаемости показателей активного процесса инфицирования Covid-19 (повышение содержания иммуноглобулина М), а также начало его завершения (сочетание повышения иммуноглобулина М и G) и окончания заболевания (повышение содержания иммуноглобулина G) в группе обследованных в осенний период 2020 г. Так, встречаемость лиц, имеющих повышенное содержание иммуноглобулина М и иммуноглобулина М+G, составило 139 человек (4,18% от общего числа обследуемых в осенний период).

Выводы. Организация заготовки донорской крови и ее компонентов в условиях пандемии по Covid-19 требует дополнительных мер обеспечения безопасности донорства, включая работы по селекции доноров, их дополнительное лабораторное иммунологическое обследование в условиях сложной эпидемиологической обстановки.

Ю.В.Свешникова, А.В.Виноградов, Т.С.Константинова

ОСОБЕННОСТИ МАРШРУТИЗАЦИИ ПАЦИЕНТОВ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ COVID-19 В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Государственное автономное учреждение здравоохранения Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница №1», г. Екатеринбург

Введение. Пандемия COVID-19 привела к необходимости разработки стандартов терапии и ведения пациентов различных групп риска. Пациенты онкогематологического профиля относятся к группе высокого риска с учетом иммунодефицита, развивающегося как на фоне основного заболевания, так и на фоне проводимой химиотерапии и трансплантации костного мозга.

Цели и задачи. Учитывая высокий уровень летальности среди гематологических больных, который многократно превышает летальность в общей популяции, необходимо иметь четко разработанный порядок маршрутизации, лечения, вакцинации данной группы пациентов.

Результаты. До пандемии COVID-19 пациенты онкогематологического профиля получали терапию основного заболевания, а также его инфекционных осложнений, в условиях гематологических

либо онкологических отделений круглосуточного (либо дневного) стационара. В настоящее время, при выявлении SARS-Cov2 в условиях специализированного отделения, пациенты переводятся в перепрофилированные для лечения COVID-19 инфекционные стационары.

Оказание специализированной и высокотехнологичной медицинской помощи больным онкогематологического профиля на территории Свердловской области организовано в областном гематологическом центре ГАУЗ СО «СОКБ №1». В условиях пандемии COVID-19 госпитализация в центр осуществляется с соблюдением эпидемиологических мер при наличии отрицательного мазка на SARS-Cov2, определяемого ПЦР-тестом в срок до 48 часов до поступления и отсутствия картины пневмонии по данным КТ органов грудной клетки. Однако, с учетом высокой вирулентности и конта-

гиозности, длительного инкубационного периода и возможности получения ложно-отрицательных результатов ПЦР, сохраняется вероятность инфицирования пациента на этапе госпитализации в стационар.

В 2021 году COVID-19 был диагностирован у 86 пациентов областного гематологического центра, которые были переведены для дальнейшего лечения в инфекционные стационары. С января по сентябрь 2021 г. маршрутизация пациентов осуществлялась в 6 перепрофилированных для лечения COVID-19 стационаров по наличию свободных мест. Однако летальность среди перепрофилированных онкогематологических пациентов составила 33,3% (n=21). В связи с этим, Министерством здравоохранения Свердловской области 15.09.2021 г. был издан приказ №2062-п «О маршрутизации пациентов онкогематологического профиля, больных новой коронавирусной инфекцией, для проведения лечения в условиях инфекционного стационара», согласно которому пациенты переводились в строго определенные инфекционные стационары, с учетом профиля основного заболевания. При этом назначался

консультант гематолог, связь с которым была доступна для лечащих врачей пациентов ковидного госпиталя. В результате централизации маршрутизации пациентов онкогематологического профиля с COVID-19 преимущественно в инфекционное отделение ГАУЗ СО «СОКПГВВ» уровень летальности в сентябре-декабре 2021 г. снизился до 8,7% (2 летальных исхода на 23 перепрофилированных), т.е. в 3,8 раза.

Выводы. Таким образом, для пациентов онкогематологического профиля целесообразна маршрутизация в профильный инфекционный стационар, специалисты которого знают особенности ведения пациентов с синдромом костномозговой недостаточности и имеют возможность ежедневной консультации с врачом-гематологом. Однако подобная маршрутизация в условиях пандемии COVID-19 возможна только при наличии соответствующего нормативного акта и контроля его выполнения со стороны исполнительного органа в сфере здравоохранения региона.

Синяев А.А., Янбухтина В.Р., Кулагин Е.А., Попова М.О., Рогачева Ю.А., Владовская М.Д., Бондаренко С.Н., Моисеев И.С., Кулагин А.Д.

АЛЛОГЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. На настоящий момент не изучено влияние перенесенной COVID-19 на течение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Целью работы являлось изучить течение посттрансплантационного периода и исходы алло-ТГСК у пациентов, имеющих в анамнезе до трансплантации COVID-19.

Пациенты и методы. Одноцентровое проспективное исследование, включающее 54 взрослых реципиентов алло-ТГСК за период с июля 2020 по сентябрь 2021, имеющих в анамнезе до трансплантации COVID-19. Медиана возраста составила 33 года (18–76). Женщин – 55,6% (n=30), мужчин – 44,4% (n=24). Структура диагнозов основного заболевания: ОМЛ 40,8% (n=22), ОЛЛ 31,5% (n=17), МДС 11,1% (n=6), АА 7,4% (n=4), ХМЛ 5,5% (n=3), ЛХ 3,7% (n=2). Тяжесть течения коронавирусной инфекции оценивалась по классификации ВОЗ. Оценивались характеристика COVID-19 до алло-ТГСК, частота приживления, реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и других осложнений после алло-ТГСК, летальность, связанная с трансплантацией, общая и бессобытийная выживаемость, а также выживаемость без РТПХ и рецидива/прогрессирования основного заболевания. Медиана времени наблюдения составила 138 дней (11 – 391).

Результаты. COVID-19 до алло-ТГСК был диагностирован у 54 реципиентов алло-ТГСК в период с июля 2020 по сентябрь 2021, что составило 25,8% от всех алло-ТГСК выполненных в этот период. Медиана времени развития COVID-19 от момента установления основного диагноза составила 129,5 дней (-183 – 5135). На момент развития COVID-19 42,6% пациентов (n=23) находились в ремиссии основного заболевания, рецидив/прогрессирование – 33,3% (n=18), и у 24,1% (n=13) отмечался дебют основного заболевания. Медиана времени развития COVID-19 от момента проведения последней химиотерапии составила 11 дней (0 – 616). У 36 пациентов известна степень тяжести течения COVID-19: 66,7% (n=24) средняя степень, 30,5% (n=11) – легкая степень и 2,8% (n=1) – тяжелая степень тяжести. Медиана времени от COVID-19 до алло-ТГСК составила 211 дней (31 – 447). У 27,7% (n=15) непосредственно перед алло-ТГСК сохранялись КТ-изменения, характерные для вирусной пневмонии, с объемом поражения от 5 до 30%. Индекс коморбидности ТГСК

составил 0 баллов у 55,5% (n=31), 1 балл – 33,3% (n=18), 2 балла – 5,5% (n=3), 3 балла – 5,5% (n=3). Алло-ТГСК от гаплоидентичного донора была выполнена у 29,6% (n=16), от полностью совместимого неродственного донора у 29,6% (n=16), от частично совместимого неродственного у 20,4% (n=11), от полностью совместимого родственного у 20,4% (n=11). Источником ГСК являлись ПСКК – 75,9% (n=41) и КМ – 24,1% (n=13). Режим кондиционирования со сниженной интенсивностью проведен у 75,9% (n=41) реципиентов, а миелоаблативный режим кондиционирования у 24,1% (n=13). Профилактика РТПХ – 3-х компонентная 51,8% (n=28), на основе посттрансплантационного циклофосфида 88,9% (n=48). Медиана времени приживления трансплантата составила 20 дней (13 – 28). Первичное неприживление зафиксировано у 3 (5,5%) пациентов. Острая РТПХ зарегистрирована у 29,6% (n=16), в том числе 3–4 степени в 10 случаях, хроническая РТПХ у 7,4% (n=4). При острой РТПХ терапия системными глюкокортикостероидами проводилась у 75% (n=12) пациентов, терапия второй линии – 56,2% (n=9). В посттрансплантационном периоде наблюдались следующие осложнения: венозные тромбозы у 7,4% (n=4), тромботическая микроангиопатия – 1,85% (n=1), вено-окклюзионная болезнь – 1,85% (n=1), инфекции кровотока диагностированы у 51,8% (n=28), пневмония – 14,8% (n=8), инфекции мягких тканей – 14,8% (n=8), вирусные инфекции – 48,1% (n=26), инвазивные микозы – 9,2% (n=5). Общая 100-дневная выживаемость, как и 100-дневная бессобытийная выживаемость составила 88,9%, выживаемость без развития тяжелой РТПХ – 74,1%. Трансплантационная летальность в течение 100 дней составила 9,3%. Повторный диагноз COVID-19 и/или положительный тест ПЦР РНК SARS-CoV-2 не были документированы ни у одного пациента после алло-ТГСК.

Заключение. Период после алло-ТГСК у пациентов с перенесенной COVID-19 характеризуется стандартными осложнениями посттрансплантационного периода. Перенесенная инфекция, обусловленной коронавирусом SARS-CoV-2, не является противопоказанием для проведения алло-ТГСК, несмотря на наличие КТ-изменений, характерных для вирусной пневмонии.

Скрипай Л.А., Вильянинов В.Н., Бельгесов Н.В.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУННОЙ ПЛАЗМЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ И ИММУНОСУПРЕССИЕЙ

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

Введение. Актуальность проблемы оказания эффективной трансфузиологической помощи пациентам с иммуносупрессией при бактериальных инфекциях обусловлена высокой летальностью по причине развития септических осложнений. Новым подходом в лечении таких пациентов является использование иммунной плазмы (ИП) (антисинегногноной, антистафилококковой, антипротейной и др.), индивидуально подобранной для конкретного пациента.

Цель. Улучшить результаты лечения пациентов с бактериальной инфекцией на фоне иммуносупрессии путем применения индивидуально подобранной ИП.

Материалы и методы. Использовали производственный метод получения донорской плазмы (аферез, лейкоредукция, карантинизация). Скрининг образцов донорской плазмы на основе бактериологического метода проводился на культурах микроорганизмов (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и др.), выделенных от пациентов. На чашках Петри с питательной средой производили посев микроорганизмов, на их поверхность наносили образцы донорской плазмы. Чашки Петри ставили в термостат при температуре +37°C. Результаты определяли через 24-48 часов по литической активности плазмы классическим методом от «+» до «++++». Для лечения пациентов выдавали плазму, обладающую литической активностью к микроорганизмам на «+++» и «++++». Титром считали максимальное разведение плазмы 0,9% раствором хлорида натрия, при котором происходил лизис микроорганизмов: (*Pseudomonas aeruginosa* – 1:128 и выше; *Escherichia coli* – 1:128 и выше; *Staphylococcus aureus* – 1:512 и выше; *Klebsiella pneumoniae* – 1:128 и выше; *Proteus vulgaris* – 1:128 и выше). Индивидуальный подбор ИП для пациента осуществляли, исходя из результатов лизиса культуры, выделенной из крови, отделяемого ран, мокроты пациента. Проводили сравнение пациентов двух групп. Больные из 1-ой группы на фоне стандартной антибактериальной терапии ежедневно получали переливание индивидуально подобранной ИП. Контрольную группу составили пациенты, в лечении которых применяли свежемороженную плазму (СЗП) (без тестирования по литической активности и определения титра АТ). При сравнении результатов лечения пациентов учитывали ди-

намику заболевания; изменения клинко – лабораторных показателей; бактериологических посевов (изменение микрофлоры после трансфузий ИП и СЗП).

Результаты. При лечении пациентов с бактериальными инфекциями после трансфузий ИП отмечалась положительная динамика клинической картины (снижалась температура тела, уменьшались проявления синдрома интоксикации). У больных 1-й группы (40 человек) отметили значительные изменения показателей периферической крови: уменьшение количества лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, тромбоцитов, снижение скорости оседания эритроцитов (СОЭ), С-реактивного белка (СРБ), прокальцитонина; увеличение количества эритроцитов, альбумина, протромбина по Квику. У пациентов 2-й группы (40 человек) наблюдали изменения аналогичных показателей крови: увеличивалось количество клеток (лейкоцитов, моноцитов, тромбоцитов) СОЭ, СРБ, прокальцитонина; происходило уменьшение количества эритроцитов, протромбина по Квику; уровень альбумина оставался без изменений.

Количество лейкоцитов у пациентов после переливания ИП прямо коррелировало с уровнем скорости оседания эритроцитов (СОЭ) ($p=0,043$), процентом палочкоядерных нейтрофилов ($p=0,022$), количеством эритроцитов ($p=0,014$), изменениями температуры ($p=0,031$). Количество тромбоцитов прямо коррелировало с динамикой АЧТВ ($p=0,004$), с количеством микроорганизмов, высеянных из крови ($p=0,034$), длительностью лечения больных ($p=0,001$), исходом лечения ($p=0,041$) и обратно коррелировало с показателем спонтанной миграции лейкоцитов ($p=0,017$), количеством микроорганизмов, высеянных из раны ($p=0,014$), уровнем альбумина ($p=0,013$). Корреляционные связи клеток антиинфекционной защиты крови (лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, моноцитов, тромбоцитов) показывали влияние на активацию иммунной защиты организма пациента с иммуносупрессией.

Выводы. Индивидуализированно подобранные трансфузии ИП у пациентов с бактериальными инфекциями и иммуносупрессией позволяют улучшить результаты лечения, сократить сроки лихорадочного периода заболевания, длительности пребывания в реанимационном отделении и нахождения на стационарном лечении.

Степанова Е.В., Виноградова Т.Н.

COVID 19 У ВИЧ ИНФИЦИРОВАННЫХ

СПб ГБУЗ «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», Санкт-Петербург

Введение. На сегодняшний день новая коронавирусная инфекция (COVID-19) представляет собой глобальную проблему человечества, характеризуется высоким уровнем заболеваемости, относительно высокой летальностью, которая, по данным разных исследований, колеблется в широких пределах (от 0,5 до 15%). ВИЧ-инфекцию и COVID-19 можно охарактеризовать, как синдемическую или синергическую эпидемию - это совокупность двух или более одновременных или последовательных эпидемий или кластеры болезней в популяции с биологическими взаимодействиями, которые усугубляют прогноз и бремя болезни (Merrill Singer, 1990). Ряд исследований свидетельствуют об увеличении рисков госпитализации ВИЧ-инфицированных с COVID-19, поступления в отделение интенсивной терапии, смертности.

Цель. Провести анализ случаев госпитализации больных с ВИЧ-инфекцией и COVID-19.

Материалы и методы. За период с апреля 2020 по июль

2021 г.в стационар СПб Центра СПИД было направлено 36 ВИЧ-инфицированных пациентов, состоящих на диспансерном учете, у которых была диагностирована новая коронавирусная инфекция. Анализ проведен по материалам медицинской документации (истории болезни, амбулаторные карты). Из 36 больных преобладали мужчины (61%), женщин было 39%. Средний возраст больных составил 43 года. 66,7% заразились ВИЧ-инфекцией при внутривенном употреблении наркотических веществ и на момент поступления активная зависимость от наркотиков и(или) алкоголя была у 19 (53%) больных.

Результаты. Средняя длительность ВИЧ-инфекции у больных составляла 12 лет, в большинстве случаев (63,8%) - более 10 лет. У 53% (19) больных была диагностирована 4В стадия ВИЧ-инфекции, 4Б – у 2-х, 4А – у 12, 3 ст. – у 1 чел. Ремиссия ВИЧ-инфекции установлена в 2-х случаях, неполная ремиссия - у 8-ми, у остальных пациентов (26 чел. – 72%) – прогрессирующая ВИЧ-инфекция.

Среднее количество CD4-лимфоцитов составило - 160,2 кл/мкл. Количество CD4-лимфоцитов менее 200 кл/мкл выявлено у 12 пациентов (35%). При этом процентное содержание CD4-лимфоцитов было снижено у 31 больного (86%). Средняя величина вирусной нагрузки ВИЧ была 138 191 копий/мл.

Следует отметить, что пациенты не получали профилактику оппортунистических инфекций до госпитализации в соответствии с протоколами и стандартами, и в результате обследования у 94,4% больных были диагностированы следующие оппортунистические заболевания: кандидоз орофарингеальный, генитальный (64,7%), кандидоз пищевода (17,7%), ВИЧ-энцефалит, энцефалопатия (41,2%), токсоплазмоз (11,8%), туберкулез генерализованный (5,8%), ЦМВ-инфекция (8,8%), прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия (5,9%), ВИЧ-обусловленная анемия и тромбоцитопения - 88%, ДМТ более 10% (35%) и другие формы (микобактероз атипичный, лимфома) (11,8%).

У всех пациентов выявлена сопутствующая патология (заболевания сердечнососудистой системы, нервной, мочеполовой, желудочно-кишечного тракта, эндокринной системы, дерматологические заболевания); хронические вирусные гепатиты - у 66,7% пациентов, в том числе в четверти случаев с циррозом печени, классом С по Чайлд-Пью. Таким образом, все больные имели множественную коморбидную патологию включающую: ВИЧ-инфекцию, сопутствующие заболевания, коронавирусную инфекцию

(COVID-19), что осложняло течение заболеваний и состояние пациента. Из 36 больных умерло 4 человека (11%)

Антиретровирусную терапию (АРВТ) получали 26 больных, из них только 2 чел. были в стадии ремиссии. Остальные пациенты имели прогрессирование ВИЧ-инфекции в связи с поздним обращением и началом АРВТ, неприверженностью, перерывами в лечении, нерегулярным приемом, прерыванием лечения. Отсутствие АРВТ, нерегулярный прием оказывали влияние на утяжеление состояния больного.

Выводы. Провоцирующими факторами в инфицировании и развитии коронавирусной инфекции (COVID-19) у ВИЧ-инфицированных пациентов могут быть: активное употребление наркотических и психотропных веществ, злоупотребление алкоголем, прогрессирующая и поздняя стадия ВИЧ-инфекции, низкое количество CD4-лимфоцитов (менее 200 кл/мкл), множественная коморбидная патология, отсутствие, прерванная, поздно назначенная АРВТ, множественные смены схем лечения, отсутствие профилактики оппортунистических заболеваний. Показаниями для госпитализации больных с ВИЧ-инфекцией и COVID-19 должны являться: оппортунистические заболевания в тяжелой, средне-тяжелой форме, выраженный иммунодефицит, отягощенный фон (значимая сопутствующая патология), пожилой возраст.

Стижжак Н.П., Киселева Е.Е., Кайтанджан Е.И.

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ В ПЕРИОД 2009-2021 ГОДОВ

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

Введение. Наряду с бактериями и вирусами микромицеты также являются причиной возникновения инфекционных осложнений, возникающих на фоне химиотерапии у онкогематологических больных.

Цель. Ретроспективное исследование микромицетов, выделенных от онкогематологических больных клиник ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России в период 2009-2021 гг.

Материалы и методы. Биоматериал от больных (мазок из зева, мокрота, моча, кровь). Микробиологические методы исследования.

Результаты. В период с 2009 по 2021 гг из ... посевов биоматериалов от пациентов клиник института микромицеты были выявлены в 394 случаях, что составило 14,1% от всех положительных результатов. Наиболее часто грибы выделялись в мазках из зева - 255 случаев, мокроте - 102 случая, в моче в 27 случаев и только в 10 - из крови. Во всех биоматериалах преобладали дрожжеподобные грибы рода *Candida*. Наиболее однообразным был состав микромицетов в мазках из зева. Выявлялись только грибы рода *Candida*, причем в 83,9% - *C.albicans*, 5,5% - *C.krusei*, остальные проценты распределились между *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.guilliermondii*, *C.parapsilosis*. В мокроте, помимо дрожжеподобных грибов рода *Candida* в 3% случаев были выявлены плесневые грибы *Aspergillus* spp. В моче наблюдалось большее разнообразие видов микроми-

цетов, помимо *C.albicans* (37%), *C.krusei* (14,8%) были выявлены *Rhodotorula* spp. (18,5%), и по одному случаю *Aerobasidium pullulans* и *Fusarium* spp.

Наибольший интерес представляют результаты, полученные при посеве крови. Микромицеты из крови были выявлены всего в 10 случаях за 13 лет наблюдения. В 7 случаях грибы рода *Candida*, в 1 случае плесневый гриб *Aspergillus flavus*, который у этого же больного был обнаружен в мазке из носа. В 2 случаях при посеве крови выделялись «черные дрожжи» *Echorhiala* spp. Однако при более детальном исследовании было установлено, что при условии взятия на посев крови из вены роста грибов обнаружено не было. Рост «черных дрожжей» выявлялся при взятии крови на посев из катетера-порте.

Выводы. Для получения достоверного результата наличия микромицетов в крови пациента кровь для посева необходимо брать из вены при соблюдении асептических условий. Взятие крови на посев из катетера недопустимо, так как может привести к ложно положительным результатам.

В мазках из зева выявлялись только дрожжеподобные грибы рода *Candida*, при этом 83,9% составляют *C.albicans*.

Среди положительных посевов мочи только 1/3 приходится на микромицеты. При этом также преобладают *C.albicans*.

Улюкин И.М., Буланьков Ю.И., Орлова Е.С., Сечин А.А.

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ПЛАЗМЫ РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ В ТЕРАПИИ COVID-19-ИНФЕКЦИИ

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург

Введение. В настоящее время, по разным данным, текущее лечение COVID-19-инфекции ограничивается общей поддерживающей терапией с предоставлением интенсивной терапии (по показаниям), поскольку нет однозначно признанных методов лечения или терапевтических вакцины недоступны; вместе с тем, пассивная иммунизация против ряда инфекций успешно применяется для ле-

чения инфекционных заболеваний еще с 1890-х гг.

Цель. Определение роли плазмы лиц, перенесших COVID-19-инфекцию (реконвалесцентом) в комплексной терапии этого заболевания.

Материалы и методы. Анализ, согласно цели изучения, научной литературы, размещенной в зарубежных и отечественных на-

учных библиографических баз.

Результаты. Установлено, после выявления лиц с высокими титрами нейтрализующих антител плазма реконвалесцентов (РП) может вводиться больным лицам для уменьшения выраженности клинических симптомов и смертности, что стало предметом повышенного внимания в отношении COVID-19-инфекции в свете текущей пандемии. Проведенные разными авторами исследования показывают наличие антител в РП, которые могут ограничивать репродукцию вируса в острой фазе заболевания и способствовать элиминации вируса, что способствует более быстрому выздоровлению COVID-19-больных. Вместе с тем, данные о дозы иммунной РП в различных исследованиях разноречивы: так, показано минимальное использование разовой дозы 200 мл плазмы с титрами нейтрализующих антител >1:640; есть и данные о введении 2400 мл реконвалесцентной плазмы. Но из-за вариабельности доз РП в отчетах разных исследователей, её оптимальная доза для терапии COVID-19-инфекции пока не определена. Все участвовавшие в исследованиях выжившие больные получили РП между 6-м и 50-м днем после появления клинических симптомов (или госпитализации пациентов), на фоне применения противовирусных, антибактериальных и противогрибковых препаратов по поводу коинфекции, они по оказанию получали процедуры искусственной вентиляции лёгких (ИВЛ), кислородотерапию через назальные

канюли, в ряде случаев – экстракорпоральную мембранную оксигенацию. В разных исследованиях отмечено, что применение РП значительно снижает вирусную нагрузку (ВН) и повышает уровень нейтрализующих антител (ВН уменьшалась, а то и становилась отрицательной в промежутки между 1 и 30 днями после применения РП). После переливания РП почти у всех больных отмечено улучшение клинического состояния, включая нормализацию температуры тела, разрешение острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), завершение ИВЛ в течение 1–35 дней после трансфузии) и отсутствие смертности. Однако не было четко определено, был ли высокий процент выживаемости обусловлен лечением пациентов несколькими другими препаратами (включая противовирусные), или применением РП, или комбинированным эффектом от применения обоих средств. Поэтому окончательное решение вопроса применения РП не найдено, и имеет место малое количество научной литературы по проблеме.

Выводы. По разным данным считается, что дополнение РП к противовирусным/противомикробным препаратам может быть эффективным терапевтическим вариантом с многообещающими доказательствами безопасности, улучшения клинического течения болезни и снижения смертности, хотя окончательный вывод об оптимальной дозе и времени лечения пока не сделан. Но для решения этой проблемы необходимы многоцентровые клинические исследования.

Федуленко Д.А.², Евсеенко О.В.², Жибурт Е.Б.¹

РЕЗУЛЬТАТЫ СКРИНИНГА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ГЕМОТРАНСМИССИВНЫХ ВИРУСОВ У ДОНОРОВ КРОВИ

¹ ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации», г. Москва

² ГКУЗ «Центр крови Ленинградской области», Ленинградская обл., г. Тосно

Введение. Одной из главных задач трансфузиологии является инфекционная безопасность. Серологические методы исследования позволили значительно сократить риск передачи гемотрансмиссивных вирусов реципиенту. Однако, не решив окончательно проблему «серологического окна». Внедрение NAT-тестирования в рутинную практику обследования доноров снизило остаточный риск передачи возбудителей. Но не ясен вопрос частоты выявления нуклеиновых кислот вирусов гемотрансмиссивных инфекций у доноров, а также частоты выявления образцов крови в «серологическом окне».

Цель. Исследовать частоту выявления нуклеиновых кислот вирусов гемотрансмиссивных инфекций в период «серологического окна» в образцах крови доноров.

Материалы и методы. Для исследования были взяты данные обследования доноров Центра крови Ленинградской области с 2011 по 2021 годы. Было обследовано 122576 доноров. Доноры обследованы в установленном законодательством порядке на выявление ДНК гепатита В, РНК гепатита С и РНК ВИЧ, методом полимеразной цепной реакции в минипулах из 6 образцов. При получении положительного результата, образцы были обследованы повторно дважды в единичных постановках. Обследованные были разделены на первичных и повторных доноров. У всех доноров учитывали возраст. У повторных - количество дней после предыдущей донорации и количество донораций в анамнезе.

Результаты. Положительные результаты NAT-тестирования при отрицательных серологических тестах (т.е. в «период окна») были получены у 44 доноров. Частота выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций при NAT-тестировании- 4,67 случая на 10000 первичных доноров. И 3,05 случая на 10000 повторных доноров.

ДНК гепатита В чаще была выявлена у первичных доноров. Частота выявления РНК гепатита С у первичных и повторных доноров не отличается. РНК ВИЧ была выявлена у повторных доноров. В целом ДНК гепатита В была выявлена чаще, чем РНК гепатита С, а РНК ВИЧ - реже РНК гепатита С. Доноры, у которых была обнаружена ДНК гепатита В на 16,5 лет старше лиц, у которых выявлена РНК гепатита С. Отличий у повторных доноров по количеству дней от последней донорации и количеству донораций не выявлено.

Выводы.

1. У первичных доноров частота выявления нуклеиновых кислот гемотрансмиссивных инфекций выше, чем у повторных доноров;
2. Чаще у доноров в Ленинградской области выявляется ДНК гепатита В, затем по частоте РНК гепатита С и ВИЧ соответственно;
3. Возраст доноров с выявленной ДНК гепатита В позволяет предполагать выявление скрытых (окультированных) форм гепатита В;
4. Частота выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций среди доноров Ленинградской области на 1-2 порядка выше аналогичных результатов данных международного исследования;

**Хамитов Р.Г., Аюпова Р.Ф., Стрельникова Е.В., Абсалямова Л.А., Иксанова Р.Ф., Ракипова Ю.Р.,
Закирова И.Р., Юлбарисова А.К., Жибурт Е.Б.**

О ЗАГОТОВКЕ ВЫСОКОТИТРАЖНОЙ АНТИКОВИДНОЙ ПЛАЗМЫ

ГБУЗ «Республиканская станция переливания крови», Уфа
ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Введение. Для заготовки нужного клинике и производству объёма антиковидной плазмы важно в достаточном количестве иметь доступных доноров, которые выздоровели после новой коронавирусной инфекции и соответствуют критериям отбора для донации плазмы. Важно гарантировать, что эта донация плазмы будет безопасной для донора-реконвалесцента.

Цель работы: выявить особенности характеристик доноров антиковидной плазмы, перенесших новую коронавирусную инфекцию.

Методы. Реконвалесцентов приглашали сдать плазму методом аппаратного афереза. Обследовано 1705 доноров, 747 женщин и 958 мужчин в возрасте 37,2±9,5 (от 18 до 64) лет. Помимо стандартного донорского обследования иммунохимическими методами определяли антитела класса IgG к новому коронавирусу (Вектор-Бест, Новосибирск (n=1437), Евроиммун, Германия (n=228), Эбботт, США (n=37) и гемограмму (ELite 3, Erba Mannheim Чехия).

Известны критерии отбора высокотитражной антиковидной плазмы – по коэффициенту позитивности, превышающему:

- Вектор-Бест – 9,0,
- Евроиммун – 3,5,
- Эбботт – 4,5.

Изучили характеристики доноров и донаций: пол и возраст донора, объём плазмы, фенотип донора по системе группы крови АВО, концентрацию гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов, долю рети-

кулоцитов и активность сывороточной аламинотрансферазы (АЛТ).

Результаты. Как высокотитражную антиковидную плазму можно квалифицировать 72,1 % доз плазмы, заготовленной от доноров-реконвалесцентов методом аппаратного плазмафереза. Чаще такую плазму заготавливали от доноров-женщин, нежели от мужчин – 78,7 % и 66,9 %, соответственно. В группе доноров низкотитражной плазмы ниже объём заготовленной дозы, видимо, из-за более частого ухудшения самочувствия при донации. Также в этой группе значимо, в среднем на 2,6 г/л выше концентрация гемоглобина и ниже количество ретикулоцитов. Значимых отличий возраста доноров плазмы с высоким и низким титром антител не выявлено (p=0,054). Не выявлено и различий частоты фенотипов системы группы крови АВО, отличий других исследуемых показателей. Установлено, что у доноров-реконвалесцентов количество тромбоцитов отрицательно коррелирует с концентрацией гемоглобина и положительно – с количеством ретикулоцитов. Корреляции активности АЛТ с возрастом и концентрацией гемоглобина подтверждают правильность решения не использовать этот показатель в качестве суррогатного маркера вирусного гепатита. Выявленные иммуногематологические особенности доноров антиковидной плазмы подтверждают гипотезу о защитной роли анти-А антител в патогенезе новой коронавирусной инфекции.

Жибурт Е.Б., Хамитов Р.Г., Медведева Л.И., Кузьмин Н.С., Кузнецов С.И., Федулenco Д.А., Мадзаев С.Р., Шестаков Е.А.

НОВОЕ В ИНФЕКЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ

ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Введение. Передача инфекции от донора к реципиенту крови – серьёзная трансфузионная реакция, омрачающая лечение основного заболевания. Пандемия новой коронавирусной инфекции привнесла в проблему инфекционной безопасности в трансфузиологии вопросы пассивной иммунотерапии: отбора доноров антиковидной плазмы, её приготовления, сохранения и применения, а также гемо-трансфузионной терапии в госпитале COVID-19.

Цель работы: изучить знания по инфекционной безопасности в трансфузиологии, созданные кафедрой трансфузиологии Пироговского центра в 2021 – 2022 гг.

Методы. Изучили 23 статьи по проблеме инфекционной безопасности в трансфузиологии, опубликованные сотрудниками кафедры трансфузиологии Пироговского центра с коллегами из (по алфавиту) Грозного, Екатеринбургa, Иркутска, Оренбургa, Самары, Тосно, Уфы в 2021 – 2022 гг [1 – 23].

Результаты.

Переливание крови в стандарте медицинской помощи

Проведен анализ дефектов номенклатуры медицинских услуг и стандартов оказания медицинской помощи, предполагающей переливание крови.

Приведение номенклатуры медицинских услуг и стандартов оказания медицинской помощи в соответствие нормативам, установленным Правительством и Минздравом России позволит:

- больницам – заказывать, а станциям переливания крови – выпускать максимально эффективные и безопасные компоненты крови,
- сформировать справедливые тарифы на медицинскую помощь с применением переливания крови [1].

Возможности клинической лаборатории в отборе доноров антиковидной плазмы

В лаборатории Центра крови Ленинградской области методом иммунохемилюминесцентного анализа (VITROS (Ortho clinical diagnostics) определили уровень антиковидных антител у 138 доноров-реконвалесцентов Ленинградской области. При использовании в качестве критерия отбора коэффициента позитивности >9,5 плазму 56,5 % доноров можно квалифицировать как высокотитражную, антиковидную. Согласно полученным результатам, доля доноров антиковидной плазмы увеличивается с возрастом и степенью тяжести перенесенного заболевания [2].

Организация заготовки донорской крови в условиях вспышки COVID-19

В период вспышки COVID-19 в Иркутской области с 1 марта по 31 июля 2020 г. заготовка эритроцитов снизилась на 1,9 % по отношению к уровню 2019 г., заготовка тромбоцитов увеличилась на 30,1 %; выдача эритроцитов в медицинские организации снизилась на 3 % по отношению к уровню 2019 г., выдача тромбоцитов увеличилась на 31,7 %. Наиболее значимое снижение количества донаций крови наблюдалось в Иркутске в связи прекращением выездной заготовки крови и переходом студентов, составляющих более 50 % доноров в г. Иркутске, на дистанционные формы обучения. Увеличение заготовки донорской крови в филиалах позволило компенсировать снижение заготовки в Иркутске [3].

К информированному согласию на донацию крови

С целью создания информации, на основе которой даётся информированное согласие на донацию крови, провели поиск по ключевым словам «информация, согласие, донор, крови» в библиотеках

Elibrary и Pubmed. Отобраны 7 публикаций, содержащих данные об информации, на основе которой донор в настоящее время должен дать согласие на кроводачу по рекомендациям ВОЗ, нормативам Евросоюза, США и Канады.

Обобщенную информацию попросили скорректировать экспертов Российской ассоциации трансфузиологов (рассылка, сайт transfusion.ru) с 20 августа по 20 ноября 2020 года. Получено 78 замечаний от 26 экспертов.

Сформирован текст, включающий описание процесса донации и возможные побочные эффекты, необходимость проведения скрининга маркеров гемотрансмиссивных инфекций, требования, касающиеся хранения личной информации донора службой крови. На основе полученной информации о сути донорства, его необходимости и последствиях, возможных рисках и предлагаемой процедуре у донора появляется возможность принять ответственное решение и дать информированное согласие на донацию крови [4].

Новое в трансфузиологии (на виртуальном, 36-м) конгрессе Международного общества переливания крови)

22,8 % ВИЧ-положительных доноров в Польше инфицированы в течение 100 дней до донации.

Вирус японского энцефалита относится к тому же семейству Flaviviridae, что и вирус Западного Нила. После вакцинации против японского энцефалита наблюдают ложноположительные результаты ПЦР на Cobas 6800/8800.

Случай гемотрансмиссивного японского энцефалита зарегистрирован в Гонконге в 2017 году. Вирус японского энцефалита инактивируется обеими технологиями Терафлекс: с метиленовым синим – в плазме, с ультрафиолетом С – в концентрате тромбоцитов.

Внедрение исследования концентрата тромбоцитов на наличие анаэробов более чем в два раза увеличило частоту истинно положительных результатов, в 5,6 раза – частоту ложноположительных результатов обнаружения бактерий и было связано с меньшим количеством септических событий, по сравнению с использованием только аэробных культур.

Для аппарата Panthera создали систему мультиплексного скрининга нуклеиновых кислот 5 вирусов: ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГВ, ВГС и ВГЕ.

В Таиланде выявлены существенные расхождения результатов скрининга ДНК ВГВ при исследовании плазмы из гемоконтейнера и пробирки с ЭДТА от той же донации.

Описан случай анти-НВс-отрицательного скрытого гепатита В у французского донора крови, который сдал кровь с положительной ДНК ВГВ (концентрация – менее 6 МЕ/мл) в течение как минимум 3 лет (9 донаций) до тестирования ВГВ NAT+. Дату заражения установить не удалось из-за отсутствия в хранилище образцов старше 3 лет. Особенность донора – высокая активность анти-НВс-антител (более 600 МЕ/л). Ретроспективные исследования, проведенные в отношении 9 предыдущих донаций, показали, что было перелито 17 продуктов крови: 7 доз эритроцитов, 6 доз тромбоцитов и 4 дозы плазмы. Не удалось связаться с 8 реципиентами, 6 умерли до начала исследования, 2 были анти-НВс+ и 1 был ВГВ-отрицательным.

В Малайзии сопоставили специфичность тестов на сифилис: кардиолипинового и ИХЛА (Архитект): доля неподтвержденных (ложноположительных) результатов составила 54,7 % и 14,9 %, соответственно.

С 1 января 2020 года скрининг РНК ВГЕ у доноров Германии стал обязательным. По первым результатам распространенность ВГЕ выше, чем ожидалось – 1 : 506 донаций. Распулирование требует времени и затрудняет выдачу концентратов тромбоцитов.

В 10 больницах Германии провели рандомизированное, двойное слепое исследование CAPTURE (Номер в немецком регистре клинических испытаний: DRKS00011156) эффективности тромбоцитов, патогенредуцированных ультрафиолетом С (УФС) без фотоактивных веществ.

Цели: это клиническое испытание было разработано для изучения эффективности и безопасности тромбоцитов с пониженным содержанием патогенов, полученных с использованием системы ИП на основе УФ-излучения, у пациентов с гематологическими или онкологическими заболеваниями.

Контрольные и патогенредуцированные концентраты тром-

боцитов собирали либо с помощью афереза, либо из пяти лейкоцитарных слоев (ЛТС) ресуспендировали в добавочном растворе SSP+ (Mасорhаgma). Инактивацию тромбоцитов выполняли с использованием системы THERAFLEX UV-Platelets. Контрольные тромбоциты при показаниях подвергались гамма-облучению, если это было показано. Продукты, обработанные УФС не нуждаются в гамма-облучении.

Результаты наблюдения 171 онкологического и гематологического пациента, включенного в исследование, показали, что для первичной конечной точки была достигнута не меньшая эффективность (предел эквивалентности 30%): средняя разница в 1-часовом скорректированном приросте тромбоцитов (СПТ) между обработанными УФС, и контрольными тромбоцитами составляла – 18,2% (95% доверительный интервал: 11,42–13,97 и 14,18–16,88, соответственно). Средний 24-часовой СПТ была на 19,2% ниже в группе УФС, чем в контрольной группе. Количество перелитых ПК было примерно на 25% выше в группе УФС, чем в контрольной группе, но среднее количество дней до следующего переливания тромбоцитов существенно не различается между группами. Статистический анализ рефрактерности к переливанию тромбоцитов, аллоиммунизации тромбоцитами, тяжелых кровотечений, количества переливаний эритроцитов и частоты нежелательных явлений не показал различий между группами лечения. Сделан вывод о том, что переливание УФС-патогенредуцированных тромбоцитов безопасно и эффективно у взрослых гематологических онкологических пациентов.

Ультрафиолет С инактивирует вирус гепатита Е в концентратах тромбоцитов.

Антитела SARS-CoV-2 хорошо сохраняются после инактивации патогенов в плазме реконвалесцентов метиленовым синим и видимым светом (THERAFLEX MB) [5].

Первый опыт переливания антиковидной плазмы

Оценили клиническую эффективность переливания антиковидной плазмы. С 27 апреля по 29 мая 2020 года проведено 28 донаций, к выдаче приготовлено 75 лечебных доз антиковидной плазмы. Выдано для переливания 40 доз антиковидной плазмы. Переливающим плазму клиницистам просили заполнить оригинальную анкету об эффективности трансфузии. Получили 24 заполненные анкеты (60%), при анализе которых установлено, что переливание антиковидной плазмы хорошо переносится и у 54 % реципиентов ведет к улучшению течения заболевания в течение 24 часов. Все реципиенты плазмы получали рекомендованное комплексное лечение. Поэтому для выделения специфического для плазмы лечебного эффекта необходимы рандомизированные исследования с контрольными группами – а) без переливания плазмы и б) с переливанием плазмы здорового донора [6].

Антитела к вирусу SARS-CoV-2 у доноров крови в Хабаровске (январь 2021 года)

В лаборатории Краевой станции переливания крови (Хабаровск) методом иммуноферментного анализа (SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ, Вектор-Бест, Новосибирская область) определили уровень антител к SARS-CoV-2 у 542 доноров, не включенных в региональный регистр болевших новой коронавирусной инфекцией. Антитела к SARS-CoV-2 обнаружили у 280 доноров (118 женщин и 162 мужчины) в возрасте от 18 до 58 лет. Если в качестве критерия плазмы с высоким титром АТ принять коэффициент позитивности > 9,0, то к потенциальным донорам антиковидной плазмы могут быть отнесены 167 человек из обследованных (30,8 %) [7].

Значимость NAT-скрининга инфекций у доноров крови

Методом амплификации нуклеиновых кислот (NAT) (Cobas TaqScreen MPX test, Roche Diagnostics, Швейцария) в лаборатории Центра крови Ленинградской области изучили частоту выявления гемотрансмиссивных инфекций у первичных и повторных доноров в 2011 – 2021 гг. Гемотрансмиссивные инфекции с равной частотой выявляются методом NAT у первичных и повторных доноров, 4,67 и 3,05 случая на 10000 доноров (p>0,05), соответственно.

Вирус гепатита В (ВГВ) чаще выявляется у первичных доноров, чем у повторных (p<0,05). Частота выявляемости вируса гепатита С (ВГС) у первичных доноров и повторных доноров не отличается. Два случая вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) выявили у по-

вторных доноров, у первичных доноров ВИЧ не выявляли.

В целом ВГВ выявляется методом NAT чаще, чем ВГС ($p < 0,003$), а ВИЧ – реже, чем ВГС ($p < 0,05$).

ВГВ-положительные доноры в среднем на 16,5 лет старше ВГС-положительных доноров ($p < 0,001$), что позволяет предположить выявление скрытых (окультных) форм вирусного гепатита В [8].

Ошибка регламента скрининга бактерий в компонентах донорской крови

Провели поиск нормативов контроля стерильности донорской крови и её компонентов. Установлена правовая ничтожность «Инструкции по контролю стерильности консервированной крови, ее компонентов, препаратов, консервированного костного мозга, кровезаменителей и консервирующих растворов». Для надлежащего контроля стерильности донорской крови и её компонентов в «Стандарт оснащения станции переливания крови (центра крови)» (утвержден Приказом Минздрава России от 28 октября 2020 г. № 1167н) нужно внести изменения, заменив «Анализатор бактериологический для идентификации микроорганизмов» на «Анализатор культуры крови» [9].

Особенности заготовки антиковидной плазмы в Нур-султানে

В заготовке плазмы антиковидной от доноров-реконвалесцентов представляет интерес изучение специфических антител класса IgG в двух аспектах: 1) Динамика уровня антител у доноров при первой и повторной донациях и ее связь с возрастом и постдонационным периодом. Обследовано 52 донора. 2) Концентрация антител в заготовленной плазме до и после процедуры инактивации патогенов с использованием амтосалена и ультрафиолета А (УФА). Количество исследований 20. Для исследования антител использовались методики иммунохемилюминисцентного анализа (ИХЛА) (SARS-CoV2-IgG, Эбботт, США) и иммуноферментного анализа (ИФА) (Generic Assays, Германия) с оценкой коэффициента позитивности. Возраст донора прямо коррелирует с КП при повторной донации ($r = 0,383$, $p = 0,013$). Снижение КП прямо коррелирует с количеством дней между донациями ($r = 0,515$, $p < 0,001$). Установлено, что в течение полугодового наблюдения по результатам ИХЛА уровень антиковидных антител у доноров-реконвалесцентов снижается на 60 %. Инактивация патогенов амтосаленом и УФА не влияет на уровень антиковидных антител в плазме доноров-реконвалесцентов [10].

Антиковидные антитела сохраняются в криосупернатантной плазме

Исследована динамика уровня антиковидных антител в плазме доноров до и после выделения криопреципитата. Установлено, что после выделения криопреципитата в криосупернатантной плазме (КСП) не происходит снижения уровня как общих антител, так и специфических к RBD домену коронавируса SARS-CoV-2. Целесообразно включить антиковидную КСП в рекомендации этиотропного лечения больных новой коронавирусной инфекцией, провести клинические исследования тромбогенности 2 видов антиковидной плазмы: обычной и КСП [11].

Переливание эритроцитов в госпитале COVID-19

Изучили особенности переливания эритроцитов в госпитале COVID-19. Из 1142 пациентов госпиталя COVID-19 переливание 158 доз эритроцитов получили 49 (4,3 %) человек (в среднем 3,2 дозы на 1 реципиента). Переливали лейкодеплецированную эритроцитную взвесь в PAGGSM. По сравнению с остальными отделениями Пироговского Центра в госпитале COVID-19 установлено, что:

- доля реципиентов эритроцитов была выше на 2,7 % ($p < 0,01$),
- количество доз эритроцитов в расчете на 100 койко-дней было выше на 7,9 % (1,12 и 1,04 дозы, соответственно).

В госпитале COVID-19 летальность реципиентов эритроцитов составила 47 %, тогда как среди пациентов, не получавших эритроциты – 2,1 %. В группе реципиентов с летальным исходом от группы реципиентов с благополучным исходом отличаются средние значения 2 показателей:

- срок лечения – меньше на 32 %,
- максимальная концентрация D-димера – выше на 209 %.

В группе умерших пациентов количество переливаний эритроцитов прямо коррелирует с долей дней лечения, в которые концентрация D-димера превышает 1,5 мг/л ($p < 0,05$).

Об эффективности переливания эритроцитов свидетельствует

трансфузионный прирост концентрации гемоглобина, отрицательно коррелирующий с порядковым номером переливания и максимальной концентрацией D-димера.

У 54 % реципиентов эритроцитов трансфузионная терапия завершилась переливанием 1 дозы. Остаточный срок годности перелитых эритроцитов (29,3±5,3 дней, около 60 % от максимально возможного) не связан с исходом лечения и был достаточен для эффективного управления запасом трансфузионных сред.

Трансфузионных реакций, выбраковки и списания эритроцитов по сроку годности не было.

Переливание эритроцитов помогло спасти большую часть тяжелейших пациентов:

- старше 70 лет,
- период концентрации D-димера более 1,5 мг/л – 19,5±5,3 дней,
- сопутствующие онкогематологические заболевания - у 20 % пациентов.

Данные о переливании эритроцитов в госпитале COVID-19 могут быть использованы в качестве бенчмаркинга для планирования соответствующей работы [12].

Спорное и бесспорное в рекомендациях по переливанию криосупернатантной плазмы

С целью совершенствования Рекомендаций по переливанию криосупернатантной плазмы методом Дельфи проведена профессиональная экспертиза (52 эксперта на первом этапе и 40 – на втором) документа. Определены 2 важных новых позитивных, 9 спорных и 11 ошибочных положений, а также 4 положения, которыми нужно дополнить рекомендации. Рекомендации впервые вводят в нормативную базу службы крови три направления использования криосупернатантной плазмы. При подготовке новой редакции Рекомендаций целесообразно исправить спорные, убрать ошибочные положения и внести дополнения, указанные в цитируемой статье [13].

Новые критерии отбора антиковидной плазмы

В практику лабораторной диагностики активно внедряется международный стандарт антиковидного иммуноглобулина (First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 Immunoglobulin (Human)*. Соответствующее письмо опубликовал Росздравнадзор (№ 02и-840/21 «О международном формате оценки уровня иммуноглобулинов, в том числе IgG к SARS-CoV-2 от 05.07.2021») [14].

Внедрение количественной оценки содержания антиковидных антител в плазме доноров

В лаборатории Республиканской станции переливания крови Чеченской Республики в крови 50 доноров определили антитела к новому коронавирусу, используя качественный и количественный диагностикикумы. Концентрация антиковидных антител положительно коррелирует с коэффициентом позитивности качественного теста ($r = 0,784$, $p < 0,01$). Однако выявлены случаи сочетания максимального коэффициента позитивности с низкой концентрацией антител к рецептор-связывающему домену S белка. Высокая, более 130 BAU/мл, концентрация антиковидных антител выявлена у 21 из 50 вакцинированных доноров [15].

Серопревалентность к SARS-CoV-2 у доноров-реконвалесцентов

С целью изучения уровня серопревалентности при COVID-19 на наличие антител IgG к SARS-CoV-2 (анти-SARS-CoV-2 IgG) были исследованы образцы сыворотки крови от 130 доноров-реконвалесцентов ГБУЗ ООКСПК (Оренбург) в возрасте 18–82 лет. Уровень серопревалентности к SARS-CoV-2 составил 70,7 %. Возраст серопозитивных лиц был на 8 лет больше, чем у серонегативных ($t = 3,2$, $p < 0,05$). Установлена прямая корреляция между титром анти-SARS-CoV-2 IgG и возрастом инфицированных ($r_S = 0,94$, $p < 0,05$), а также степень тяжести COVID-19 ($r_S = 1,0$, $p < 0,05$) [16].

Переливание эритроцитов пациентам с новой коронавирусной инфекцией

Ретроспективно изучили истории болезни 49 пациентов, получивших (реципиенты) и 147 – не получивших (нереципиенты, контрольная группа) переливание эритроцитов в госпитале COVID-19. Установлено, что переливание эритроцитов помогло спасти большую часть тяжелейших пациентов:

- старше 70 лет,

- анемия при поступлении,
- период концентрации D-димера свыше 1,5 мг/л - более 20 дней,
- сопутствующие онкологические заболевания - у 20 % пациентов.

Среди пациентов с новой коронавирусной инфекцией и отсутствием показаний к переливанию эритроцитов концентрация гемоглобина отрицательно коррелирует с возрастом и уровнем D-димера.

Отсутствие таких связей у реципиентов эритроцитов свидетельствует о значимости других факторов (онкологический процесс, кровотечение) в развитии анемии, нуждающейся в трансфузионной коррекции [17].

Переливание крови в госпитале COVID-19

Изучили структуру реципиентов и гемотрансфузий в госпитале COVID-19 и других отделениях Пироговского центра в 2020 году. Из 1141 пациентов госпиталя COVID-19 переливание компонентов крови получил 61 пациент (5,3 %), а среди 37136 пациентов других отделений - 710 (1,9 %) пациентов.

В период работы госпиталя COVID-19 потребность Пироговского Центра в компонентах донорской крови была полностью обеспечена.

В госпитале COVID-19 по сравнению с остальными отделениями:

- были выше доля реципиентов всех компонентов крови, эритроцитов и плазмы ($p < 0,01$);
- чаще переливали 4 дозы и 4 - 6 доз эритроцитов ($p < 0,01$), больше 11 доз эритроцитов не переливали;
- среди реципиентов эритроцитов доля лиц старше 60 лет на 42,4 % превышает аналогичную долю среди остальных пациентов ($p < 0,01$);
- среди реципиентов плазмы значимо снижена доля лиц, моложе 45 лет ($p < 0,05$).

Данные о потребности пациентов госпиталя COVID-19 в трансфузионной терапии могут быть использованы в качестве бенчмаркинга для планирования соответствующей работы [18].

Новые клинические рекомендации по трансфузиологии: проблемы и решения

Правительство утвердило поэтапный переход медицинских организаций к оказанию медицинской помощи на основе клинических рекомендаций. С 1 января 2022 года вступят в силу рекомендации по ряду нозологий, в том числе затрагивающих сферу трансфузиологии. Однако перечень компонентов крови, применяемый при трансфузиях в настоящее время, не упоминается в этих документах. Автор полагает, что клинические рекомендации должны предлагать не просто гемотрансфузию и даже не просто переливание эритроцитов, тромбоцитов или плазмы, а переливание переработанных соответствующим образом компонентов крови. По мнению автора статьи, современный перечень таких компонентов крови необходимо как можно скорее включить в номенклатуру медицинских услуг, чтобы гармонизировать существующие нормативные акты [19].

Характеристики доноров антиковидной плазмы

С целью выявления особенностей характеристик доноров антиковидной плазмы, перенесших новую коронавирусную инфекцию, обследовано 1705 доноров, 747 женщин и 958 мужчин в возрасте $37,2 \pm 9,5$ (от 18 до 64) лет. Как высокотитражную антиковидную плазму можно квалифицировать 72,1 % доз плазмы, заготовленной от доноров-реконвалесцентов методом аппаратного плазмафереза. Чаще такую плазму заготавливали от доноров-женщин, нежели от мужчин - 78,7 % и 66,9, соответственно. В группе доноров низкотитражной плазмы ниже объем заготовленной дозы, видимо, из-за более частого ухудшения самочувствия при донации. Также в этой группе значимо, в среднем на 2,6 г/л выше концентрация гемоглобина и ниже количество ретикулоцитов. Значимых отличий возраста доноров плазмы с высоким и низким титром антител не выявлено ($p=0,054$). Не выявлено и различий частоты фенотипов системы группы крови ABO, отличий других исследуемых показателей. Установлено, что у доноров-реконвалесцентов количество тромбоцитов отрицательно коррелирует с концентрацией гемоглобина и

положительно - с количеством ретикулоцитов. Корреляции активности АЛТ с возрастом и концентрацией гемоглобина подтверждают правильность решения не использовать этот показатель в качестве суррогатного маркера вирусного гепатита. Выявленные иммуногематологические особенности доноров антиковидной плазмы подтверждают гипотезу о защитной роли анти-A антител в патогенезе новой коронавирусной инфекции [20].

Распространенность антиковидных антител в донорском контингенте

В июле 2021 года в сыворотке крови всех 2498 доноров РСПК Башкортостана провели поиск антител к SARS-CoV-2. Антитела выявлены у 57,5 % обследованных доноров. Антитела на 10,1 % реже встречаются у доноров-женщин ($p < 0,001$). Впервые выявлено, что концентрация тромбоцитов в группе доноров с антителами значимо ниже, чем в группе серонегативных доноров: $217,7 \pm 6,2$ и $232,3 \pm 7,6 \times 10^9$ /л. соответственно ($p=0,004$). Встречаемость фенотипов системы группы крови ABO и антигенов системы группы крови Rh в группах иммунных и серонегативных доноров не различается.

С учетом высокой распространенности антител у рутинных доноров целесообразно сопоставить эффективность рекрутирования доноров-реконвалесцентов и тотального скрининга всех доноров с выбором заготовленной от них образцов высокотитражной антиковидной плазмы [21].

Новое в трансфузиологии (на 31 региональном конгрессе Международного общества переливания крови в 2021 году)

Почти каждый десятый донор крови с положительным лабораторным тестом на ВИЧ не сообщил о своем ВИЧ-статусе и об использовании антиретровирусных препаратов при донации.

В Канаде всю донорскую кровь тестируют с помощью системы Beckman Coulter PK-TP (США) в реакции микроагглютинации, предназначенной для качественного скрининга антител IgG и IgM к *Treponema pallidum*. Установлено, что вакцинация против гриппа в течение 3 месяцев может обусловить ложноположительный результат этой реакции микроагглютинации.

Серая зона количественного теста - это диапазон значений, для которых тест при определенной доле мнительности исследователя считается неубедительным. В Национальном центре крови, Куала-Лумпур, все образцы были проверены на наличие инфекций (иммуноанализатор Abbott Architect i2000sr). Для серологического тестирования образцы с коэффициентом позитивности (КП) равным и выше 1,00 считаются реактивными, и эти продукты крови бракуют. Для повышения чувствительности теста была применена серая зона. Серая зона рассчитана на 20% ниже КП 1,00 для анти-ВГС и на 10% для ВИЧ-комбо и HBsAg. Среди 683 233 образцов крови доноров выявлено 0,56% (3819 проб) с маркерами инфекций, в том числе 608 (15,9 %) - в серой зоне: 478 (12,5 %) - ВГС, 95 (2,5 %) - ВГВ и 35 (0,9 %) - ВИЧ. Все образцы с реактивностью в серой зоне были неактивны в тесте NAT (Procleix Ultrio Elite Assay), отрицательны в подтверждающих тестах и при последующем наблюдении (период от 3 до 6 месяцев) все не показали сероконверсии. Использование серой зоны для серологического скрининга приводит к ненужной потере доноров, увеличению затрат на дальнейшее тестирование и вызывает отрицательные эмоции у доноров крови.

Из-за пандемии SARS-CoV-2 в Северной Македонии резко увеличилось количество доноров-родственников. Соответственно, в 2020 году возросла серопозитивность на ВГВ и ВИЧ. Наиболее значительный прирост наблюдался для HBsAg у первичных доноров.

В Казахстане антиковидные антитела исчезают у 42% доноров-реконвалесцентов спустя 4-6 месяцев после первого визита в донорский центр.

Во всем мире растет распространение технологий инактивации патогенов для повышения безопасности переливания тромбоцитов. Эта технология частично или повсеместно внедрена в 15 из 31 страны Европейского Союза; а в Соединенных Штатах патогенредуцируются около 28% переливаемых продуктов тромбоцитов. Экономическую эффективность этой технологии повышает пулирование лейкоцитомоноцитарных слоев, в результате которого получатся эффективные и безопасные лечебные дозы концентрата тромбоцитов.

Контаминация концентратов тромбоцитов в добавочном растворе SSP+ эритроцитами или триглицеридами не влияла на эффективность инактивации патогенов системой THERAFLEX UV-Platelets (Макофарма, Франция). Результаты показывают, что система инактивации патогенов на основе ультрафиолетового излучения является надежной в отношении потенциально загрязненных компонентов крови.

В Великобритании оценили экономическую эффективность внедрения интерсепт-патогенредуцированных тромбоцитов. Экономическая модель была построена в соответствии с руководством по методам, опубликованным Национальным институтом здравоохранения и качества обслуживания (NICE).

Результаты, показали, что принятие патогенредуцированных тромбоцитов принесло большую пользу для здоровья при дополнительных затратах. Хотя общие затраты были выше из-за стоимости технологии, экономия наблюдалась по другим категориям затрат, включая отвод доноров (-10%), скрининг и облучение (-52%), бактериальный посев и связанный с ним брак (-100%), побочные эффекты, связанные с переливанием крови (-76%), и вытекающие из этого долгосрочные расходы на здравоохранение (-100%). Сочетание этой технологии инактивации патогенов с пулированием лейкоцитарных слоек (ЛТС) – фактически отходов переработки цельной крови, привело к дополнительной экономии средств.

После инактивации патогенов метиленовым синим и видимым светом в плазме реконвалесцентов COVID-19 хорошо сохраняется активность антител, нейтрализующих SARS-CoV-2. Существует сильная корреляция ($Rho > 0,8$) между IgG к Spike RBD и вируснейтрализацией до и после инактивации патогенов. Этот факт позволяет центрам крови отбирать доноров антиковидной плазмы на основе результатов титра IgG в серологическом тесте [22].

Переливание крови при COVID-19: что изменилось после выхода новой версии рекомендаций Минздрава

Оценили изменения рекомендаций трансфузиологам в 13-й и 14-й версии Временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», утвержденных 17 ноября и 27 декабря 2021 года. Накопление информации о COVID-19 меняет рекомендации по применению антиковидной плазмы. При совершенствовании российского норматива целесообразно сформулировать критерии отбора высокотитражной антиковидной плазмы, доступные КДЛ, а также уточнить показания к её переливанию с учётом результатов рандомизированных клинических исследований [23].

Заключение

Развитие трансфузиологической науки повышает эффективность менеджмента крови пациента и его безопасность

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецов С. И., Аверьянов Е.Г., Шестаков Е.А., Жибурт Е.Б. Переливание крови в стандарте медицинской помощи // Справочник заведующего КДЛ. – 2021. – № 3. – С. 41–51
2. Федулenco Д.А., Евсеенко О.В., Жибурт Е.Б. Возможности клинической лаборатории в отборе доноров антиковидной плазмы // Справочник заведующего КДЛ. – 2021. – № 4. – С. 40–44
3. Зарубин М.В., Бабушкин О.С., Зазнобов М.Е., Агапитов Э.А., и др. Организация заготовки донорской крови в условиях вспышки COVID-19 // Трансфузиология. – 2021. – Т.22, №1. – С. 4–12
4. Кузнецов С. И., Аверьянов Е.Г., Зарубин М.В., Бельская Е.Е., и др. К информированному согласию на донацию крови // Трансфузиология. – 2021. – Т.22, №1. – С. 37–46
5. Жибурт Е.Б., Кузнецов С. И., Чемоданов И.Г., Аверьянов Е.Г. и др. Новое в трансфузиологии (на виртуальном конгрессе Международного общества переливания крови) // Трансфузиология. – 2021. – Т.22, №1. – С. 47–64
6. Орлов А.М., Попкова Н.Г., Галимов М.Л., Данилова В.А. и др. Первый опыт переливания антиковидной плазмы // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2020. – Т. 15, № 4. – С. 61–62
7. Кожемяко О.В., Хомичук Т.В., Токарева Н.С., Юрьева Е.Н. и др. Результаты определения уровня антител к вирусу SARS-CoV-2 у доноров крови в Хабаровске // Справочник заведующего КДЛ. – 2021. – № 5. – С. 3–6
8. Федулenco Д.А., Евсеенко О.В., Жибурт Е.Б. Результаты скрининга нуклеиновых кислот гемотрансмиссивных вирусов у доноров крови // Справочник заведующего КДЛ. – 2021. – № 6. – С. 65–70
9. Кузнецов С. И., Аверьянов Е. Г., Шестаков Е. А., Жибурт Е. Б. Ошибка регламента скрининга бактерий в компонентах донорской крови // Менеджер здравоохранения. – 2021. – №5. – С. 51–56
10. Абдрахманова С.А., Савчук Т.Н., Бибеков Ж.Ж., Досмухамедова А.Х. и др. Особенности заготовки антиковидной плазмы в Нур-Султане // Трансфузиология. – 2021. – Т.22, №2. – С. 100–104
11. Зарубин М.В., Карпова О.Б., Труфанова Л.С., Жибурт Е.Б. Антиковидные антитела сохраняются в криосупернатантной плазме // Трансфузиология. – 2021. – Т.22, №2. – С.105–108
12. Кузнецов С.И., Шестаков Е.А., Гусаров В.Г., Фатеев С.А. и др. Переливание эритроцитов в госпитале COVID-19 // Трансфузиология. – 2021. – Т.22, №2. – С.109–118
13. Кузнецов С.И., Аверьянов Е.Г., Давыдова Л.Е., Мартюшичева О.В. и др. Спорное и бесспорное в рекомендациях по переливанию криосупернатантной плазмы // Трансфузиология. – 2021. – Т.22, №2. – С.179–187
14. Жибурт Е.Б., Кузнецов С.И. Новые критерии отбора антиковидной плазмы // Справочник заведующего КДЛ. – 2021. – № 8. – С. 3–4
15. Татаева З.М., Атаева А.У., Жибурт Е.Б. Количественная оценка содержания антител к SARS-CoV-2 в плазме доноров // Справочник заведующего КДЛ. – 2021. – № 9. – С. 7–11
16. Михайлова Ю.В., Кувшинов М.В., Тюкина Л.Ю. и др. Серопревалентность к SARS-CoV-2 у доноров-реконвалесцентов // Трансфузиология. – 2021. – Т.21, №3. – С. 212–217
17. Кузнецов С.И., Шестаков Е.А., Гусаров В.Г., Жибурт Е.Б. Переливание эритроцитов пациентам с новой коронавирусной инфекцией // Трансфузиология. – 2021. – Т.21, №3. – С. 243–249
18. Кузнецов С.И., Шестаков Е.А., Гусаров В.Г., Фатеев С.А. и др. Переливание крови в госпитале COVID-19 // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И.Пирогова. – 2021. – Т.16, №4. – С. 74–77
19. Жибурт Е.Б. Новые клинические рекомендации по трансфузиологии: проблемы и решения // Справочник заведующего КДЛ. – 2022. – № 1. – С. 21–24
20. Хамитов Р.Г., Аюпова Р.Ф., Стрельникова Е.В. и др. Характеристики доноров антиковидной плазмы // Трансфузиология. – 2021. – Т.22, №4. – С. 300–307
21. Хамитов Р.Г., Аюпова Р.Ф., Стрельникова Е.В., Абсаямова Л.А. и др. Распространенность антиковидных антител в донорском контингенте // Трансфузиология. – 2021. – Т.22, №4. – С. 322–327
22. Жибурт Е.Б., Аверьянов Е.Г., Кузнецов С.И., Медведева Л.И. и др. Новое в трансфузиологии (на 31-м региональном конгрессе международного общества переливания крови в 2021 году) // Трансфузиология. – 2021. – Т.22, №4. – С. 374–385
23. Жибурт Е.Б., Хамитов Р.Г., Федулenco Д.А. Переливание крови при COVID-19: что изменилось после выхода новой версии рекомендаций Минздрава // Справочник заведующего КДЛ. – 2022. – № 2. – С. 16–24.

Памяти профессора Андрея Юрьевича Зарицкого
11.03.1950 – 16.10.2021

16 октября 2021 г. скончался Андрей Юрьевич Зарицкий, выдающийся клиницист, один из ведущих ученых России в области гематологии, директор института онкологии и гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова», доктор медицинских наук, профессор.

В 1973 году окончил 1-й Ленинградский медицинский институт им. акад. И. П. Павлова. В 1973—1975 годах обучался в клинической ординатуре по специальности «Гематология» на кафедре факультетской терапии того же института. В 1979 году защитил диссертацию на соискание степени кандидата медицинских наук по специальности «Гематология». Занимался преподавательской, лечебной и научной деятельностью на той же кафедре. В 1996 году защитил диссертацию на соискание степени доктора медицинских наук на тему «Исследование фибробластных клеток костного мозга у больных с заболеваниями системы крови». С 2001 года являлся профессором кафедры факультетской терапии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова. В течение многих лет являлся научным руководителем отделения гематологии Городской больницы № 31 г. Санкт-Петербурга. С 2008 года был директором Института онкологии и гематологии Центра Алмазова и несмотря на тяжелую болезнь в течение нескольких лет, он оставался наставником для своих сотрудников, активно руководил несколькими крупными научными проектами, продолжал консультативную работу и проводил обходы в отделении онкогематологии.

Андрей Юрьевич посвятил гематологии всю свою жизнь, почти 50 лет активно занимался научной, лечебной и преподавательской работой в любимой им области. В институте гематологии, в настоящее время переименованном в институт онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», под руководством проф. А.Ю. Зарицкого возникли и успешно развились научные и практические сферы гематологии: созданы новые клинические отделения онкогематологии для детей и взрослых, где были внедрены инновационные методы химио- и иммунотерапии онкогематологических заболеваний, включая аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, а также современные методы диагностики и мониторинга результатов терапии.

Андрей Юрьевич был инициатором нескольких крупных многоцентровых российских исследований, которые объединяли усилия научных и клинических центров для решения важных поисковых задач. Благодаря его стремлению сотрудничать не только с федеральными академическими центрами, но и региональными гематологическими клиническими больницами, были получены уникальные данные по эффективности терапии таргетными препаратами хронических и острых лейкозов в реальной практике в России.

Андрей Юрьевич также активно развивал международное сотрудничество с зарубежными коллегами. Он был активным членом нескольких рабочих групп Европейской сети лейкозов (European Leukemia Net), участвовал в широкомасштабных международных исследовательских проектах и за свои заслуги был награжден Почетной грамотой ELN Award. Он был избран Послом в России круп-



нейшего онкологического центра США MD Anderson Cancer Centre. Благодаря его инициативе и усилиям в 2017 г. была проведена крупнейшая в России международная конференция совместно с учеными из MD Anderson Cancer Centre (США).

Профессор А.Ю. Зарицкий вел регулярную просветительскую работу в рамках семинаров, региональных и всероссийских конференций, делился своими научными и клиническими знаниями с коллегами из разных регионов России. Также он проводил просветительскую работу с пациентами онкогематологического профиля с целью улучшения понимания ими своего заболевания, их активного включения в лечебный процесс для улучшения результатов терапии.

За долгие годы работы он воспитал плеяду учеников, которые продолжают лечебную, исследовательскую и педагогическую работу как в НМИЦ им В.А. Алмазова, так и в ведущих гематологических центрах нашей страны и мира. Андрей Юрьевич поражал и заражал своей неисчерпаемой энергией, был человеком пытливого и пронзительного ума, обширной эрудиции и неисчерпаемого трудолюбия. Он был искренним и открытым человеком, при этом очень принципиальным и требовательным как к себе, так и к своим ученикам и коллегам. Его ученики, коллеги и пациенты благодарны ему за его отзывчивость, преданность делу и неоценимый вклад в развитие онкогематологии.