

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

# **ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ**

**THE BULLETIN OF HEMATOLOGY**

**Том XV № 4 2019**

Ежеквартальный научно-практический журнал  
Основан в сентябре 2004 года

**Главный редактор**

Доктор медицинских наук  
профессор  
*С. С. Бессмельцев*

Санкт-Петербург  
2019

## **Редакционная коллегия:**

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

## **Редакционный совет:**

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

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

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

## **Адрес редакции:**

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

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

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

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

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

---

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

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

Подписано в печать 20.11.2019 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 437.

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

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

**18 +**

## СОДЕРЖАНИЕ

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ:

<b>Шамсутдинова Д. Б., Каримов Х. Я., Бобоев К. Т.</b> АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА 5G/4G ГЕНА PAI-1 С РАЗВИТИЕМ ТРОМБОФИЛИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.....	4
<b>Контиевский И. Н., Голенков А. К.</b> ЭФФЕКТИВНОСТЬ АГОНИСТОВ ТРОМБОПОЭТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ: РОМИПЛОСТИМ, ЭЛТРОМБОПАГ У БОЛЬНЫХ С РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ПЕРВИЧНОЙ ИММУННОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЕЙ .....	8
<b>Ругаль В. И., Семенова Н. Ю., Бессмельцев С. С.</b> ФОРМИРОВАНИЕ СТРОМАЛЬНОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ И СТАНОВЛЕНИЕ ГЕМОПОЭЗА В ФЕТАЛЬНОЙ ГУБЧАТОЙ КОСТИ.....	14
<b>Бутолина М. А., Ветошкин К. А., Минаева Н. В., Зорина Н. А., Исаева Н. В., Хоробрых М. Н.</b> РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КЛЕТОК СТРОМЫ КОСТНОГО МОЗГА ДОНОРОВ .....	19
<b>Маткаримова Д. С., Каримов Х. Я., Бобоев К. Т.</b> ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА rs1800629 ГЕНА TNF $\alpha$ С РАЗВИТИЕМ ИММУННОГО МИКРОТРОМБОВАСКУЛИТА У ВЗРОСЛЫХ В УЗБЕКИСТАНЕ.....	23
<b>Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых «АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ГЕМАТОЛОГИИ» (материалы конференции) Санкт-Петербург, 15 ноября 2019 года .....</b>	28

## CONTENTS

### ORIGINAL ARTICLES

<b>Shamsutdinova D. B., Karimov H. Ya., Boboev K. T.</b> ASSOCIATION OF POLYMORPHISM 5G/4G PAI-1 GENE WITH THE DEVELOPMENT OF THROMBOPHILIC STATES IN CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE DISEASES.....	4
<b>Kontievsky, I. N., Golenkov A. K.</b> EFFICACY OF AGONISTS THROMBOPOETIN RECEPTOR: ROMIPLOSTIM, ELTROMBOPAG IN PATIENTS WITH RECURRENT PRIMARY IMMUNE THROMBOCYTOPENIA .....	8
<b>Rugal V. I., Semenova N. Yu., Bessmeltsev S. S.</b> FORMATION OF STROMAL MICROENVIRONMENT AND FORMATION OF HEMATOPOIESIS IN FETAL SPONGY BONE .....	14
<b>Butolina M. A., Vetoshkin K. A., Minaeva N. V., Zorina N. A., Isaeva N. V., Horobryh M. N.</b> RESULTS OF STUDYING OF CULTURAL CHARACTERISTICS OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS OF BONE MARROW OF DONORS .....	19
<b>Matkarimova D. S., Karimov H. Ya., Boboev K. T.</b> ASSOCIATION OF GENETIC POLYMORPHISM OF RS1800629 TNF $\alpha$ GENE WITH THE DEVELOPMENT OF IMMUNE MACROTHROMBOCYTOPENIA ADULTS IN UZBEKISTAN.....	23

Шамсутдинова Д. Б., Каримов Х. Я., Бобоев К. Т.

Научно-исследовательский институт Гематологии и переливания крови МЗРУз

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА 5G/4G ГЕНА PAI-1  
С РАЗВИТИЕМ ТРОМБОФИЛИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ  
ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

*Shamsutdinova D. B., Karimov H. Ya., Boboev K. T.*

*Research Institute of Hematology and Blood Transfusions of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan*

**ASSOCIATION OF POLYMORPHISM 5G/4G PAI-1 GENE WITH THE DEVELOPMENT  
OF THROMBOPHILIC STATES IN CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE DISEASES**

**Резюме.** Изучены ассоциации полиморфизма гена PAI-1 с развитием тромбофилических состояний при хронических миелопролиферативных заболеваниях (ХМПЗ). Работа выполнена на образцах ДНК, выделенных из периферической крови больных с наиболее часто встречающимися ХМПЗ: хроническим миелолейкозом (ХМЛ, n = 32) и истинной полицитемией (ИП, n = 79), а также группы контроля (n = 114). Генотипирование образцов и детекция полиморфизма 5G/4G гена PAI-1 проводились методом ПЦР на приборе «Applied Biosystems 2720» (США) с использованием наборов реагентов НПО «Литех» (Москва, Россия). Статистический анализ результатов проведен с использованием пакета статистических программ «OpenEpi 2009». По результатам работы выявлено, что гетерозиготный и гомозиготный генотипы полиморфизма 5G/4G гена PAI-1 в подгруппе с тромбозом в группах больных ХМЛ и ИП повышает риск развития тромбозов. Возможно, это связано с тем, что, у лиц с гетерозиготным генотипом теряется защитный эффект, оказываемый диким генотипом 5G/5G, вследствие чего могут развиваться тромбофилические состояния.

**Ключевые слова:** хронические миелопролиферативные заболевания, хронический миелолейкоз, истинная полицитемия, носительство, полиморфизма 5G/4G гена PAI-1, генотип, тромбофилические состояния.

Хронические миелопролиферативные заболевания (ХМПЗ) представляют собой клональные заболевания, развивающиеся из клетки предшественницы миелопоэза, с появлением нарушений на уровне стволовой

**Abstract.** Studying the association of the polymorphism of the PAI-1 gene with the development of thrombophilic conditions in chronic myeloproliferative diseases. The work was performed on DNA samples isolated from the peripheral blood of patients with the most common chronic myeloid leukemia (CML, n = 32) and polycythemia vera (PV, n = 79), as well as the control group (n = 114). Genotyping of the samples and detection of the 5G/4G polymorphism of the PAI-1 gene were performed by PCR on an “Applied Biosystems 2720” device (USA) using the “Litekh” reagent kits (Moscow, Russia). Statistical analysis of the results was performed using the statistical software package “OpenEpi 2009”. Results and discussion. Heterozygous and homozygous genotypes of the 5G/4G polymorphism of the PAI-1 gene in the subgroup with thrombosis in groups of patients with CML and PV increases the risk of thrombosis. Perhaps this is due to the fact that, in individuals with a heterozygous genotype, the protective effect of the wild genotype 5G/5G is lost, as a result of which thrombophilic conditions may develop.

**Key words:** chronic myeloproliferative diseases, chronic myeloid leukemia, polycythemia vera, carriage, 5G/4G polymorphism of the PAI-1 gene, allele, genotype, thrombophilic thrombophilic conditions.

кроветворной клетки [1, 2, 3]. Наряду с проявлениями, связанными с клональной экспансией, при ХМПЗ зачастую развиваются тромбозы, усугубляющие течение основного заболевания. Высокая вероятность и труд-

ности лечения тромботических осложнений при ХМПЗ требуют необходимость своевременной оценки факторов приводящих к развитию тромбозов у онкогематологических больных, в частности при хроническом миелолейкозе (ХМЛ) и истинной полицитемии (ИП) [4].

Современная диагностика тромбофилических состояний предусматривает определение носительства тромбогенных мутаций и полиморфизмов [5]. Многочисленные исследования последних лет посвящены изучению роли мутации ряда генов, полиморфизма гена PAI-1 в предрасположенности к формированию тромбофилических состояний [6, 7, 8]. Однако, в доступной нам литературе, исследований посвященных изучению полиморфизма гена PAI-1 в развитии тромбофилических состояний при ХМПЗ не обнаружено, в связи с чем исследования в данном направлении представляется интересным.

**Цель работы.** Изучение ассоциации полиморфизма 5G/4G гена PAI-1 с развитием тромбофилических состояний при хронических миелопролиферативных заболеваниях.

**Материалы и методы.** В исследование включено 111 больных с наиболее часто встречающимися ХМПЗ: с хроническим миелолейкозом (ХМЛ, n = 32) и истинной полицитемией (ИП, n = 79), а также группы контроля (n = 114). Сбор материала для исследования, осуществлен на базе клиники научно-исследовательского института Гематологии и переливания крови МЗ РУз. Больные ХМПЗ составили основную группу (n = 111), которые в соответствии с нозологией распределены на 2 группы: 1-я — больные с ХМЛ, 2-я — с ИП, при этом каждая группа разделена на две подгруппы А — с тромбозом и Б — без тромбоза.

Генотипирование образцов и детекция полиморфизма гена PAI-1 проводились методом ПЦР

на приборе «Applied Biosystems 2720» (США) с использованием наборов реагентов НПО «Литех» (Москва, Россия), согласно инструкции производителя. Статистический анализ результатов проведен с использованием пакета статистических программ «OpenEpi 2009».

**Результаты и обсуждение.** Анализ полученных результатов исследования показал следующее: частота аллеля 4G — полиморфизма гена PAI-1 в подгруппах с тромбозом (n = 53) и без тромбоза в основной группе больных ХМПЗ составила 57.5 % и 33.6 % ( $\chi^2 = 12.8$ ; P = 0.0003; OR = 2.7; 95 % CI 1.55–4.614), тогда как в контрольной группе этот показатель составил 28.8 %. Наряду с этим его частота в группе больных ХМЛ (n = 32) составила 42.2 % (в подгруппе А (n = 11) — 54.5 %, а в подгруппе Б (n = 21) — 35.7 %); в группе больных ИП (n = 79) составила 46.2 % (в подгруппе А (n = 42) — 58.3 %, а в подгруппе Б (n = 37) — 32.4 %)

Изучение частоты распределения генотипов полиморфизма PAI-1 в основной группе больных ХМПЗ и контроле показало, что носительство гомозиготного генотипа 5G/5G составило 30.6 % и 54.4 %, соответственно, тогда как носительство гетерозиготного генотипа 5G/4G наблюдалось у 48.6 % и 30.5 % обследованных. Следует отметить, что как в группе больных, так и в контроле также выявлено носительство редкого гомозиготного генотипа 4G/4G (20.7 % против 7.9 %). В подгруппах А и Б основной группы носительство гомозиготного генотипа 5G/5G отмечалось у 15.1 % и 44.8 % ( $\chi^2 = 11.5$ ; P = 0.001; OR = 0.2; 95 % CI 0.09–0.54), соответственно, гетерозиготного генотипа 5G/4G у 54.7 % и 43.1 % ( $\chi^2 = 1.5$ ; P = 0.2; OR = 1.6; 95 % CI 0.753–3.377), гомозиготного генотипа 4G/4G у 30.2 % и 12.1 % ( $\chi^2 = 5.5$ ; P = 0.02; OR = 3.1; 95 % CI 1.78–8.427) (таблица 1 и таблица 2).

Таблица 1.

**Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма 5G/4G гена PAI-1 в группах больных ХМПЗ и контроля**

Группы	5G	4G	5G/5G		5G/4G		4G/4G	
	%	%	n	%	n	%	n	%
ХМПЗ n = 111	54.9	45.0	34	30.6	54	48.6	23	20.7
А – с тромбозом, n = 53	42.5	57.5	8	15.1	29	54.7	16	30.2
Б - без тромбоза, n = 58	66.4	33.6	26	44.8	25	43.1	7	12.1
1. ХМЛ n = 32	57.8	42.2	10	31.2	17	53.1	5	15.6
А - с тромбозом, n = 11	45.4	54.5	2	18.2	6	54.5	3	27.3
Б - без тромбоза, n = 21	64.3	35.7	8	38.1	11	53.4	2	9.5

Продолжение таблицы

2. Истинная полицитемия, n=79	53.8	46.2	24	30.4	37	46.8	18	22.8
А — с тромбозом, n=42	41.7	58.3	6	14.3	23	54.8	13	30.9
Б — без тромбоза, n=37	48.6	32.4	18	48.6	14	37.8	5	13.5
Контрольная группа, n=114	73.2	26.8	62	54.4	43	30.5	9	7.9

Таблица 2.

**Различия в частоте встречаемости полиморфизма 5G/4G гена PAI-1 в группе больных ХМПЗ с и без тромбоза**

5G/4G гена PAI-1	ХМПЗ + n=53	ХМПЗ – n=58	$\chi^2$	P	RR	OR	95% CI
5G	45	77	12.8	0.0003	1.7	2.7	1.55-4.614
4G	61	39					
5G/5G	8	26	11.5	0.001	0.3	0.2	0.0878-0.5451
5G/4G	29	25	1.5	0.2	1.3	1.6	0.753-3.377
4G/4G	16	7	5.5	0.02	2.5	3.1	1.178- 8.427

Распределение частоты генотипов в зависимости от нозологии ХМПЗ составило следующие значения: в группе больных ХМЛ и ИП носительство гомозиготного генотипа 5G/5G по отношению к контролю было в 1,74 (31.2%) и 1,78 раз меньше (30.4%), носительство гетерозиготного 5G/4G и гомозиготного 4G/4G генотипов наоборот превышало в 1,74 (53.1%) и 1,53 (46.8%) раза, а также в 1.97 (15.6%) и 2.9 (22.8%) раза соответственно.

Сравнительная оценка распределения частот генотипов при ХМЛ и ИП в зависимости от подгрупп больных с наличием тромбоза и без него показало, что у больных с тромбозом частота носительства генотипов 5G/4G и 4G/4G несколько превышает таковые среди больных без тромботических осложнений.

Так, в у больных ХМЛ А подгруппы в сравнение с Б подгруппой это составило статистически незначимое различие — 54.5% против 53.4%;  $\chi^2 = 0.06$ ; P = 0.8; OR = 1.1; 95%CI 0.25–4.714 и 27.3% против 9.5%;  $\chi^2 = 1.7$ ; P = 0.2; OR = 3.6; 95%CI 0.496–25.56. Тогда как у больных ИП А подгруппы в сравнение с Б подгруппой это различие составило — 54.8% против 37.8%;  $\chi^2 = 2.3$ ; P = 0.1; OR = 2.0; 95%CI 0.808–4.893 и 30.9% против 13.5%;  $\chi^2 = 2.3$ ; P = 0.1; OR = 2.9; 95%CI 0.910–9.03 (таблица 3 и таблица 4).

Таблица 3.

**Различия в частоте встречаемости полиморфизма 5G/4G гена PAI-1 в группе больных ХМЛ с и без тромбоза**

PAI-1 5G/4G	Подгруппа		$\chi^2$	P	RR	OR	95% CI
	А	Б					
5G	10	27	2.1	0.1	1.5	2.2	0.75–6.17
4G	12	15					
5G/5G	2	8	1.3	0.2	0.5	0.4	0.061–2.11
5G/4G	6	11	0.06	0.8	1.0	1.1	0.25–4.714
4G/4G	3	2	1.7	0.2	2.9	3.6	0.496–25.56

**Различия в частоте встречаемости полиморфизма  
5G/4G гена PAI-1 в группе больных ХМЛ с и без тромбоза**

PAI-1 5G/4G	Подгруппа		$\chi^2$	P	RR	OR	95% CI
	А	Б					
5G	35	50	10.6	0.001	1.8	2.9	1.52–5.598
4G	49	24					
5G/5G	6	18	11.0	<0.05	0.3	0.2	0.059–0.5171
5G/4G	23	14	2.3	0.1	1.4	2.0	0.808–4.893
4G/4G	13	5	2.3	0.1	2.3	2.9	0.910–9.03

В объединенной группе пациентов ХМЛ и ИП нами выявлено соответствие наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов по РХВ с выбранным уровнем значимости  $P > 0,05$ , при этом  $\chi^2 = 0,8$  и  $P = 0,4$ . В частности, наблюдаемая частота (0,16) генотипа 5G/5G в группе больных несколько отличалась от ожидаемой частотой (0,19); в отношении гетерозиготного 5G/4G гомозиготного генотипов 4G/4G наблюдаемая частота оставила 0,55 и 0,29, а ожидаемая — 0,49 и 0,32. При этом различие между наблюдаемой и ожидаемой частотами гетерозигот статистически незначимы, что определяет статистически незначимое преобладание гетерозигот

в группе больных. Статистических достоверных различий в показателях для гомозигот по данному полиморфному варианту также не выявлено.

Эти данные позволяют сделать вывод, о том, что гетерозиготный гомозиготный генотипы полиморфизма 5G/4G гена PAI-1 в подгруппе А у пациентов ХМЛ и ИП повышает риск развития тромбозов. Возможно, это связано с тем, что, у лиц с гетерозиготным генотипом теряется защитный эффект, оказываемый диким генотипом 5G/4G, в следствие чего могут развиваться тромбофилические состояния.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров, К. М., Шуваев В. А., И. С. Мартынкевич И. С. Что нам известно об истинной полицитемии (обзор литературы и собственные данные) // Онкогематология.— 2015.— № 10.— С. 28.
2. Блинецкая С. Л. Основные наследственные тромбофилии и их роль при привычном невынашивании беременности. АГ-инфо. 1/2013. С. 16–21.
3. Ватутин Н. Т., Тарадин Г. Г., Бахтеева Т. Д., и др. Истинная полицитемия: современные представления о патогенезе, диагностике, лечении // Ж. Клиническая медицина.— 2012.— № 8. — С. 24–31.
4. Керимов А. А. Хронические миелопролиферативные заболевания: современное состояние вопроса. // Биомедицина 3/2014. С. 3–8.
5. Кузнецова П. И. Гемореологические аспекты тромботических осложнений при Rh-негативных миело-пролиферативных заболеваниях // **Тромбоз, гемостаз и реология.** — 2016.— Т. 67, № S3.— С. 232–234.
6. Момот А. П. Проблема тромбофилии в клинической практике // Российский журнал детской гематологии и онкологии. 2015. № 1. С. 36–48.
7. Heit J. A. Thrombophilia: Clinical and Laboratory Assessment and Manajement. In: Kitchens C. S., Kessler C. M., Konkle B. A., eds. Consultative Hemostasis and Thrombosis. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2013. Pp. 205–39.
8. McManus R. J., Fitzmaurice D. A., Murray E., Taylor C. Thromboembolism. Clin Evid 2011; 2011: pii:0208.

Контиевский И. Н., Голенков А. К.

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского (МОНИКИ)

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ АГОНИСТОВ ТРОМБОПОЭТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ:  
РОМИПЛОСТИМ, ЭЛТРОМБОПАГ У БОЛЬНЫХ С РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ  
ПЕРВИЧНОЙ ИММУННОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЕЙ**

*Kontievsky, I. N., Golenkov A. K.*

*Vladimirskiy Moscow Regional Research and Clinical Institute*

**EFFICACY OF AGONISTS THROMBOPOETIN RECEPTOR:  
ROMIPLOSTIM, ELTROMBOPAG IN PATIENTS WITH RECURRENT  
PRIMARY IMMUNE THROMBOCYTOPENIA**

**Резюме.** Актуальность предпринятого исследования обусловлена необходимостью получения новой информации о лекарственных препаратах: ромиплостим, элтромбопаг, являющихся агонистами тромбopoэтина, применяемых при тяжелых формах рецидивирующей первичной ИТП в реальной клинической практике.

**Цель работы.** Установление причинно-следственной связи между приемом лекарственных препаратов из группы агонистов тромбopoэтиновых рецепторов (ромиплостим, элтромбопаг) и повышением количества тромбоцитов у неселективной группы больных через год на фоне проводимого лечения.

**Материалы и методы.** В проспективное когортное исследование включено 87 больных, старше 18 лет, с первичной иммунной тромбоцитопенией, с рецидивом после предшествующей терапии, получающих терапию препаратами ромиплостим и элтромбопаг. Препараты назначали по схемам: Элтромбопаг по 50 мг в сутки внутрь ежедневно. Ромиплостим по 1 мкг/кг подкожно 1 раз в неделю. Оценка эффективности лечения проводили в соответствии с рекомендациями Российского Совета экспертов. Исследован парный t-критерий Стьюдента для оценки гематологического ответа в двух группах больных, на основании прикладных пакетов программ Statistica 10.0. Количественные данные представлены в виде медианы (Me) минимальных и максимальных значений. Формирование больных по группам для лечения элтромбопагом или ромиплостимом проводили без рандомизации.

**Результаты.** У всех пациентов получен ответ на терапию ромиплостимом и элтромбопагом. В группе лечения ромиплостимом клинико-ге-

**Abstract.** Background. Actuality relevance of the study performed is due to the need to obtain new information about pharmaceutical drugs: Romiplostim, Eltrombopag that are the thrombopoietin agonists used in the severe forms of recurrent primary immune thrombocytopenia in actual clinical practice.

**Aim.** To establish the cause-and-effect relations between the administration of pharmaceutical drugs from the group of thrombopoietin receptor agonists (Romiplostim, Eltrombopag) and an increase in the number of platelets in a non-selective group of patients one year later in the course of treatment.

**Materials and methods.** The prospective cohort study included 87 patients aged 18 and older with the primary immune thrombocytopenia and the backset after previous therapy, who received treatment with Romiplostim and Eltrombopag. The pharmaceutical drugs were prescribed according to the following schemes: Eltrombopag 50 mg daily per os; Romiplostim 1 µg/kg subcutaneously once a week. Evaluation of the treatment efficacy was performed in accordance with the recommendations of the Russian Expert Council. The paired Student t-test was studied to assess the hematological response in two groups of patients based on the applied stastica 10.0 software packages. The quantitative data are presented in the form of a median (Me) of the minimum and maximum values. The patient distribution in groups for treatment with Eltrombopag or Romiplostim was performed without randomization.

**Results.** All patients provided a response to the therapy with Romiplostim and Eltrombopag. In the group treated with Romiplostim, all patients demonstrated the clinical and hematological effect



матологический эффект в виде купирования геморрагического синдрома отмечен через 1–3 месяца у всех больных. При анализе отдаленных результатов через 12 месяцев от начала терапии в группе ромиплостима количество тромбоцитов увеличивалось с 25,6 ( $10-35 \times 10^9/\text{л}$ ) до 100,9 ( $90-111 \times 10^9/\text{л}$ ) ( $p < 0,05$ ), при сохранении клинико-гематологической ремиссии. При этом полный ответ был зафиксирован у 53,5 %, частичный у 39,2 %, отсутствие ответа у 7 % больных.

В группе больных получающих элтромбопаг из 59 человек — установлено достоверное повышение уровня количества тромбоцитов с 47,4 ( $42-53 \times 10^9/\text{л}$ ) до 151 ( $133-170 \times 10^9/\text{л}$ ) ( $p < 0,05$ ). При анализе категории ответа установлено полных ответов 72,8 %, частичных 20,3 %, отсутствие ответа у 6,7 % больных.

**Заключение.** Применение ромиплостима и элтромбопага позволяет достичь клинического эффекта у пациентов с рецидивом как после спленэктомии, так и после медикаментозного лечения, рассматривая их как приоритет среди методов второй линии терапии.

**Введение.** Первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП) является иммуноопосредованным заболеванием, характеризующимся транзиторным или постоянным снижением уровня тромбоцитов, что повышает риск развития кровотечений [1, 2]. Согласно рекомендациям Российского Совета экспертов по диагностике и лечению больных с первичной ИТП в соответствии с современными представлениями о патогенезе заболевания и предложен термин «иммунная тромбоцитопения», с дальнейшим выделением подклассов первичной и вторичной ИТП. [3] Под первичной ИТП понимается аутоиммунное заболевание, характеризующееся изолированной тромбоцитопенией (снижение уровня тромбоцитов в периферической крови ниже  $100 \times 10^9/\text{л}$ ) при условии отсутствия других причин или заболеваний, способных вызвать тромбоцитопению. Вторичная ИТП включает все формы иммуноопосредованных тромбоцитопений, за исключением первичной ИТП, и обусловлена различными аутоиммунными процессами, инфекциями (H. pylori, HCV, ВИЧ) или воздействием лекарственных препаратов. Различия между первичной и вторичной ИТП имеют важное клиническое значение с точки зрения подходов к терапии [4].

in the form of hemorrhagic syndrome management after 1–3 months. When analyzing the long-term results 12 months after the therapy commencement in the Romiplostim group, the platelet count increased from 25.6 ( $10-35 \times 10^9/\text{L}$ ) to 100.9 ( $90-111 \times 10^9/\text{L}$ ) ( $p < 0.05$ ), while maintaining the clinical and hematological remission. Moreover, the complete response was recorded in 53.5 % of patients, partial response — in 39.2 %, and no response — in 7 % of patients.

In the group of patients treated with Eltrombopag consisting of 59 people, the significant increase in the level of platelet count from 47.4 ( $42-53 \times 10^9/\text{L}$ ) to 151 ( $133-170 \times 10^9/\text{L}$ ) ( $p < 0.05$ ) was determined. The response category analysis revealed the complete responses in 72.8 %, partial responses in 20.3 %, and no responses in 6.7 % of patients.

**Conclusion.** The use of Romiplostim and Eltrombopag allows to achieve the clinical effect in patients with the backset both after splenectomy and after conservative treatment, considering them as a priority among the second-line treatment methods.

В соответствии с указанными рекомендациями ИТП классифицируется как острая (менее 6 месяцев от начала заболевания) и хроническая (более 6 месяцев от начала заболевания) [3].

У взрослых течение ИТП обычно имеет хронический характер и не редко осложняется кровотечениями при тяжелой тромбоцитопении. [5,6].

Частота заболеваемости ИТП в популяции старше 15 лет составляет 1,6 и 2,7 на 100 000 в год, соответственно [2].

Аутоиммунное поражение тромбоцитов при ИТП приводит к компенсаторному увеличению мегакариоцитарной массы в костном мозге, причем мегакариоциты характеризуются большим объемом и большей пloidностью, по сравнению с нормальным костным мозгом. [7] Ряд поверхностных антигенов (gpIIb-IIIa, gpIb-IX), распознаваемых аутоантителами, представлен не только на тромбоцитах, но и на мегакариоцитах и более ранних предшественниках мегакариоцитов, что может быть причиной снижения активности мегакариопоэза.[8] В связи с этим ИТП можно рассматривать не только как аутоиммунный процесс, вызывающий разрушение тромбоцитов, но также как процесс, при кото-

ром снижается из продукция. Учитывая это, становится понятен интерес к миметиками тромбопоэтиновых рецепторов, которые могут усиливать действие эндогенного тромбопоэтина при ИТП. Физиология тромбопоэтина заключается в связывании комплементарных рецепторов на мегакариоцитах, формировании сигналов на их выживание и усиление продукции тромбоцитов. Поэтому, в дополнение к классическим подходам лечения ИТП, направленных на снижение активности иммунной деструкции тромбоцитов, в настоящее время, в реальной клинической практике внедряются лекарственные препараты ромиплостим и элтромбопаг, которые являются агонистами тромбопоэтиновых рецепторов [3]. Анализ современных работ показывает, что проблема лечения и клинических проявлений ИТП являются актуальными не только в свете применения инновационных методов, но также классических подходов и их сочетания [3, 12]. В связи с этим, целью настоящей работы является изучение эффективности элтромбопага и ромиплостима в реальной клинической практике на неселективной группе больных в формате проспективного когортного исследования, а также формирования новой концепции лечения ИТП у взрослых больных с учетом оптимального сочетания инновационных и классических методов.

**Материалы и методы.** В проспективное когортное исследование включено 87 больных с первичной иммунной тромбоцитопенией (ИТП) с рецидивом после предшествующей терапии, получающих терапию препаратами ромиплостим и элтромбопаг, проходивших обследование и лечение в клинико-диагностическом центре МОНКИ им. М. Ф. Владимирского в период с 09.2013 г. по 09.2018 г. Целью исследования было установление причинно-следственной связи между приемом лекарственных препаратов из группы агонистов тромбопоэтиновых рецепторов (ромиплостим, элтромбопаг) и повышением количества тромбоцитов у неселективной группы больных через год на фоне проводимого лечения. Критериями включения в исследование был диагноз ИТП в возрасте от 18 лет, предварительное лечение кортикостероидами, внутривенным иммуноглобулином, спленэктомия, ритуксимабом, азатиоприном, винкристином. Критериями невключения была тромбоцитопения, связанная с аутоиммунными заболеваниями и бактериально-

вирусными инфекциями. Критериями исключения — непереносимость применяемых препаратов. Наблюдение больных заключалось в клинических осмотрах 1 раз в 3 месяца, общий анализ крови с подсчетом тромбоцитов по мазку. УЗИ селезенки проводили в момент включения в исследование. Аспират костного мозга для подсчета миелограммы брали в момент установления диагноза. Антитела к gpIIb-IIIa тромбоцитов определяли в начале исследования иммуноферментным методом. Диагноз устанавливали на основании рекомендаций Российского Совета экспертов по диагностике и лечению больных с первичной ИТП [3]. Схема лечения: агонисты тромбопоэтиновых рецепторов назначали по следующим схемам: Элтромбопаг по 50 мг в сутки внутрь в течении всего периода наблюдения. Ромиплостим по 1 мкг/кг подкожно 1 раз в неделю, также в течении всего периода лечения.

Оценку эффективности лечения проводили в соответствии с рекомендациями Российского Совета экспертов [3] с акцентом на нормализацию количества тромбоцитов в анализах периферической крови и купирование геморрагического синдрома.

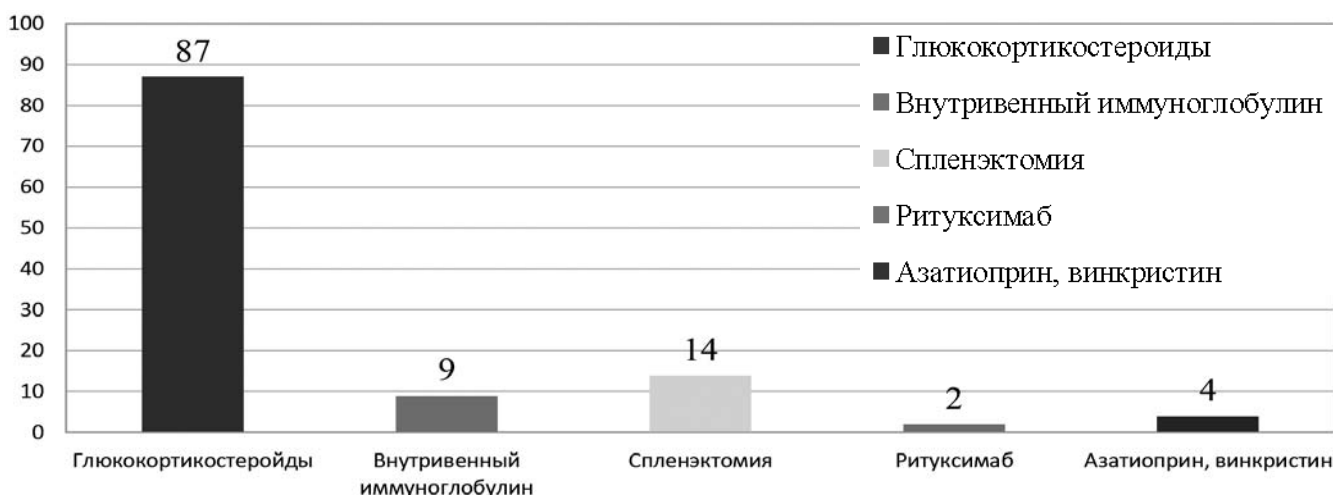
**Этическая экспертиза.** В соответствии со статьей 32 «Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан (утвержденным ВС РФ от 22.07.1993 г) № 5487-1 в редакции от 30.12.2008 г. исследованием проводим с письменного согласия обследуемых. Проведение исследования одобрено комитетом по этике при ГБУЗ МО МОНКИ им. М. Ф. Владимирского (протокол заседания от 15.12.2016 г.)

**Статистический анализ.** Исследован парный t-критерий Стьюдента для оценки гематологического ответа в двух группах больных, на основании прикладных пакетов программ Statistica 10.0. Количественные данные представлены в виде медианы (Me) минимальных и максимальных значений. Формирование больных по группам для лечения элтромбопагом или ромиплостимом проводили без рандомизации.

**Результаты.** В проведенное исследование было включено 87 больных с рецидивом первичной иммунной тромбоцитопении (рис. № 1.) Мужчин было 15, женщин 72, в возрасте от 19 до 86 лет. (Me 52,5 года). Всем больным ранее была проведена терапия глюкокортикостероидами, которые были эффек-

тивны в течении 6–10 месяцев на поддерживающем лечении преднизолоном. Лечение преднизолоном сопровождалось развитием медикаментозного синдрома Кушинга у 52 больных и повышения уровня глюкозы в крови у 20 больных. Спленэктомия была проведена 14 больным, с хорошим клинико-гематологическим эффектом у 10 больных, который продолжался 3 года (Me) с колебаниями от 2,5 до 3,7 лет. Внутривенный иммуноглобулин был назначен 9 больным при неэффективности лечения преднизолоном и нарастанием

геморрагического синдрома до проведения спленэктомии. Доза препарата составляла 1 г/кг в 1 и 2 дни курса. Непродолжительный эффект в виде повышения количества тромбоцитов и купирования геморрагического синдрома продолжался 1–2 недели. Ритуксимаб, назначенный двум больным в виде длительной внутривенной инфузии 375 мг/м<sup>2</sup> после неэффективного лечения преднизолоном 1 раз в неделю в течении месяца. Клинико-гематологический эффект был получен у двух больных.



*Рисунок 1. Характеристика пациентов с первичной иммунной тромбоцитопенией получающих агонисты тромбоэтиновых рецепторов, во второй линии терапии*

Назначение азатиоприна и винкристина было сделано двум больным, при этом достигнута стабилизация клинико-гематологических показателей. Анализ результатов

лечения двух групп больных, получавших ромиплостим и элтромбопаг, представлен в таблице 1.

*Таблица 1.*

**Эффективность второй линии терапии агонистами тромбоэтиновых рецепторов у 87 больных с первичной иммунной тромбоцитопенией**

Препарат	Общее количество больных	Средний возраст лет, Me	Лечение	Количество тромбоцитов (в мкл) на старте лечения	Количество тромбоцитов через 12 месяцев	Категория ответа	Побочные явления	Отсутствие эффекта
Ромиплостим	28	47,7 (21–86)	1 мкг/кг 1 раз в неделю	25,6* (10–35)	100,9* (90–111)	Полный*** 15/28 (53,5%) Частичный 12/28 (39,2%)	2 (7,1%)	2/28 (7%)
Элтромбопаг	59	52,5 (19–72)	50 мг/сут	47,4** (42–53)	151** (133–17)	Полный*** 43/59 (72,8%) Частичный 12 (20,3%)	2 (3,3%)	4/59 (6,7%)

\*p<0,05; \*\*p<0,05; \*\*\* p<0,05

В группу лечения ромиплостимом включено 28 больных с рецидивом первичной ИТП после предшествующей линии терапии. Больные были в возрасте 47,7 (21–72) лет. Ромиплостим вводили в дозе 1 мкг/кг массы тела 1 раз в неделю подкожно. Клинико-гематологический эффект в виде купирования геморрагического синдрома отмечен через 1–3 месяца у всех больных. При анализе отдаленных результатов через 12 месяцев от начала терапии количество тромбоцитов увеличивалось с 25,6 ( $10\text{--}35 \times 10^9/\text{л}$ ) до 100,9 ( $90\text{--}111 \times 10^9/\text{л}$ ) ( $p < 0,05$ ), при сохранении клинико-гематологической ремиссии. При этом полный ответ был зафиксирован у 53,5 %, частичный у 39,2 %, отсутствие ответа 7 % больных.

Группа больных получающих элтромбопаг, состоящая из 59 человек по демографической характеристике не отличалась от группы больных, леченных ромиплостимом. Средний возраст в этой группе составлял 52,5 (19–86) лет. Элтромбопаг назначался внутрь по 50 мг в день. Увеличение количества тромбоцитов и купирование геморрагического синдрома наступало в период от 1 до 3 месяцев. При анализе отдаленных результатов через 12 месяцев установлено достоверное повышение уровня количества тромбоцитов с 47,4 ( $42\text{--}53 \times 10^9/\text{л}$ ) до 151 ( $133\text{--}170 \times 10^9/\text{л}$ ) ( $p < 0,05$ ). При анализе категории ответа установлено полных ответов 72,8 %, частичных 20,3 %, отсутствие ответа у 6,7 % больных. Сравнивая результаты лечения двух групп больных по категории полного ответа, очевидно, что элтромбопаг обладал большим терапевтическим эффектом по сравнению с ромиплостимом (72,8 % против 53,5 % соответственно,  $p < 0,05$ ). Следует отметить, что побочные явления в виде боли в суставах отмечены в обеих группах — 7,1 и 3,3 % соответственно.

**Обсуждение.** Изучение патофизиологической основы продукции тромбоцитов при первичной ИТП позволило получить данные, свидетельствующие о значительной роли взаимодействия тромбопоэтина и его рецепторов на мегакариоцитах в патогенезе этого заболевания. [7] В результате был установлен двойной патогенетический механизм ИТП, включающий не только аутоиммунную деструкцию тромбоцитов, но и сниженную их продукцию мегакариоцитами костного мозга. Это послужило предпосылкой для разработки лекарственных препаратов агонистов

тромбопоэтиновых рецепторов (ромиплостим, элтромбопаг), эффективность которых в настоящее время изучается в клинических исследованиях различных уровней доказательности [9, 10, 11]. Клиническая эффективность агонистов тромбопоэтиновых рецепторов, с одной стороны, и достаточно эффективные классические методы лечения ИТП, с другой, создали определенные противоречия в степени их важности и последовательности применения к клинике. [12] Обсуждая полученные собственные данные по результатам 5-летнего одноцентрового проспективного когортного исследования в свете опубликованных материалов других авторов можно сделать некоторые обобщения по проблеме современного лечения ИТП. Так наиболее эффективным классическим методом лечения ИТП является спленэктомия. по нашим данным эффект спленэктомии установлен у 10 из 14 больных (71 %), с длительностью 3,7 лет (Me), при этом не было установлено осложнений. В то же время некоторые авторы сообщают о тяжелых осложнениях после спленэктомии, таких как венозный тромбоэмболизм и сепсис. [13] Это позволило ряду авторов высказаться о преимуществе использования агонистов тромбопоэтиновых рецепторов перед спленэктомией. [14, 15] Наши собственные данные касаются 87 больных с рецидивирующей первичной ИТП, причем исследование проводили на неселективной группе больных, что делает результаты близкими к реальной практике. Следует отметить, высокую эффективность ромиплостима и элтромбопага (более 90 %) у больных, которые рецидивировали после стандартного лечения. Большая эффективность элтромбопага по полным ответам, вероятно, связана с факторами комплаентности больных, которые зависят от более удобного приема таблетированных форм препарата в отличие ромиплостима, который применяется в виде подкожных инъекций, эффективность элтромбопага доказана в других исследованиях [9, 10, 16].

**Заключение.** Клиническое исследование, основанное на изучении эффективности агонистов тромбопоэтиновых рецепторов (ромиплостим и элтромбопаг) у большой группы больных рецидивирующей первичной ИТП показало высокую клиническую эффективность. Полученные собственные результаты, подкрепленные данными литературы, позволяют изменить взгляды на последовательность ме-

тодов лечения ИТП, рассматривая их как приоритет среди методов второй линии терапии. В связи с этим, кортикостероиды и внутривенный иммуноглобулин [17] следует рассматривать как терапию первой линии первичной ИТП. При рецидивах возникающих после первой линии терапии следует использовать агонисты тромбопоэтиновых рецепторов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Neunert C, Noroozi N, Norman G, Buchanan GR, Goy J, Nazi I, Kelton JG, Arnold DM. Severe bleeding events in adults and children with primary immune thrombocytopenia: a systematic review. *J Thromb Haemost.* 2015;13:457–464.
2. Altomare I, Cetin K, Wetten S, Wasser JS. Rate of bleeding-related episodes in adult patients with primary immune thrombocytopenia: a retrospective cohort study using a large administrative medical claims database in the US. *Clin Epidemiol.* 2016 Jun 20;8:231–9.
3. А. А. Масчан, А. Г. Румянцев, Л. Г. Ковалева, Б. В. Афанасьев, Т. И. Поспелова, А. Ю. Зарицкий, К. М. Абдулкадыров, В. В. Птушкин, Н. В. Цветаева, И. А. Лисуков, Г. Н. Салогуб, А. К. Голенков, Н. В. Медведева, О. А. Рукавицын, В. Л. Иванова, И. В. Маркова. Рекомендации Российского совета экспертов по диагностике и лечению больных первичной иммунной тромбоцитопенией. *Онкогематология*, 2010 г., № 3, с. 36–45.
4. Serris A, Amoura Z, Canoui-Poitrine F, Terrier B, Hachulla E, Costedoat-Chalumeau N, Papo T, Lambotte O, Saadoun D, Hié M, Blanche P, Lioger B, Gottenberg JE, Godeau B, Michel M. Efficacy and safety of rituximab for systemic lupus erythematosus-associated immune cytopenias: A multicenter retrospective cohort study of 71 adults. *Am J Hematol.* 2018 Mar;93(3):424–429
5. Zhou F, Xu Y, Zhang Z, Wu X, Jin R. J. *Pediatr Severe Hemorrhage in Chinese Children With Immune Thrombocytopenia.* *Hematol Oncol.* 2015 Apr; 37(3): e158–61
6. Tsuda H, Tsuji T, Tsuji M, Yamasaki H. Life-threatening bleeding episodes in primary immune thrombocytopenia: a single-center retrospective study of 169 inpatients. *Ann Hematol.* 2017 Nov; 96(11): 1915–1920.
7. Milestones in understanding platelet production. *Ahistorical overview Br. j. Hematol* 165: 248–258, 2015.
8. Arnold DM, Vrbensky JR, Karim N, Smith JW, Liu Y1, Ivetic N, Kelton JG, Nazy I. The effect of rituximab on anti-platelet autoantibody levels in patients with immune thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 2017 Jul; 178(2): 302–307.
9. Schifferli A, Holbro A, Chitlur M, Coslovsky M, Imbach P, Donato H, Elalfy M, Graciela E, Grainger J, Holzhauser S, Riccheri C, Rodeghiero F, Ruggeri M, Tamary H, Uglova T, Wu R, Kühne T; Intercontinental Cooperative ITP Study Group (ICIS) A comparative prospective observational study of children and adults with immune thrombocytopenia: 2-year follow-up.. *Am J Hematol.* 2018 Jun; 93(6): 751–759.10.
10. Saeidi S, Jaseb K, Asnafi AA, Rahim F, Pourmohammedi F, Mardaniyan S, Yousefi H, Alghasi A, Shahjehani M, Saki N. Immune Thrombocytopenic Purpura in Children and Adults: A Comparative Retrospective Study in IRAN. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2014 Jul 1; 8(3): 30–6.
11. Bussel jB, Kuter Dj, Aledor LM. A randomized trial of avatrombopag an investigational thrombopoietin receptor-agonist, in persistent and chronic immune thrombocytopenia. *Blood* 123: 3887–3897, 2014.
12. Cuker A, Cines DB, Neunert CE. Controversies in the treatment of immune thrombocytopenia. *Curr Opin Hematol.* 2016 Sep;23(5):479–85
13. Boyle S, White RH, Brunson A, Wun T. Splenectomy and the incidence of venous thromboembolism and sepsis in patients with immune thrombocytopenia. *Blood.* 2013 Jun 6; 121(23): 4782–4790
14. Palandri F, Polverelli N, Sollazzo D, Romano M, Catani L, Cavo M, Vianelli N. Have splenectomy rate and main outcomes of ITP changed after the introduction of new treatments? A monocentric study in the outpatient setting during 35 years. *Am J Hematol.* 2016 Jun;91(4): E267–72.
15. State of the art — how I manage immune thrombocytopenia. Cooper N *Br J Haematol.* 2017 Apr; 177(1): 39–54.
16. Wong RSM, Saleh MN, Khelif A, et al. Safety and efficacy of long-term treatment of hronic/persistent ITP with eltrombopag: final results of the EXTEND study. *Blood.* 2017;130(23):2527–2536.
17. 30 years of immunomodulation by intravenous immunoglobulin. Imbach hP. *Immunotherapy.* 2012 Jul; 4(7): 651–654.

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

**Финансирование.** Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

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

*ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург*

## ФОРМИРОВАНИЕ СТРОМАЛЬНОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ И СТАНОВЛЕНИЕ ГЕМОПОЭЗА В ФЕТАЛЬНОЙ ГУБЧАТОЙ КОСТИ

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

*Russian research Institute of Hematology and Transfusiology of FMBA of Russia*

## FORMATION OF STROMAL MICROENVIRONMENT AND FORMATION OF HEMATOPOIESIS IN FETAL SPONGY BONE

**Резюме.** Эндостально-васкулярные структуры стромы костного мозга, формирующие гемопоэтические ниши, регулируют самоподдержание и развитие гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Онтогенез гемопоэза изучен в ряде экспериментальных исследований, при этом работы, характеризующие образования структур гемопоэтических ниш во взаимосвязи с развитием родоначальных кроветворных клеток в фетальной губчатой кости человека практически не встречаются. Наша работа посвящена морфологическому исследованию стромального микроокружения костного мозга и становлению гемопоэза в фетальной губчатой кости плодов человек на 9–27 неделях гестации

Представленные данные свидетельствуют о том, что развитие костной и кроветворной тканей в фетальном периоде проходит ряд последовательных этапов и к 27-й неделе гестации завершается формирование структур, образующих васкулярную и эндостальную ниши, которые способны регулировать жизнедеятельность родоначальных кроветворных клеток.

**Ключевые слова:** костный мозг, стромальное микроокружение, фетальная кость, гемопоэз.

**Введение.** Функциональные взаимосвязи между остеогенезом и формированием костного мозга как кроветворного органа были впервые представлены в 70-х годах прошлого столетия. Это прежде всего связано с положением о нише гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) сформулированной в 1978 году P. Shofield [1], который отметил, что рост ГСК не поддерживается в селезенке таким же об-

**Summary.** The endosteal-vascular structures of the bone marrow stroma that form hematopoietic niches regulate the self-maintenance and development of hematopoietic stem cells (HSCs). The ontogenesis of hematopoiesis has been studied in a series of experimental studies, while the works characterizing the formation of hematopoietic niches structures in relation to the development of ancestral hematopoietic cells in the human fetal spongy bone practically do not occur. Our work is devoted to the morphological study of the stromal microenvironment of the bone marrow and the formation of hematopoiesis in the fetal spongy bone of human fetuses at 9–27 gestational weeks.

The presented data indicate that the development of bone and hematopoietic tissues in the fetal period passes through a number of successive stages and by the 27th gestational week the formation of structures forming vascular and endosteal niches, which are able to regulate the activity of the ancestral hematopoietic cells, is completed.

**Key words:** bone marrow, stromal microenvironment, fetal bone, hematopoiesis.

разом, как в костном мозге. Он также предположил, что ГСК находятся в тесном контакте с костью, и что контакты между остеогенными клетками и ГСК отвечают за неограниченную пролиферативную способность и ингибицию созревания ГСК.

Концепция P. Shofield получила дальнейшее развитие и в настоящее время признано, что анатомические области костно-мозго-

вых пространств губчатой кости формируют специфические ниши для создания условий развития ГСК и производства клеток крови [2–5]. Активно ведутся исследования по выявлению и характеристике структур ниши ГСК, на сегодняшний день выявляют несколько ниш ГСК, которые создают разные условия для самоподдержания и дифференцировки ГСК. При этом практически отсутствуют работы, характеризующие образования структур гемопоэтических ниш во взаимосвязи с развитием родоначальных кроветворных клеток в фетальной губчатой кости. Морфологические особенности стромального микроокружения костного мозга на разных сроках гестации важны для понимания роли стромальных компонентов ниши в становлении гемопоэза.

**Цель.** Изучить структуру стромального микроокружения костного мозга, включая образования, формирующие гемопоэтические ниши, и становление гемопоэза в фетальной губчатой кости плода человека.

**Материалы и методы.** Ретроспективный анализ фрагментов формирующейся костной ткани 35 плодов человека 9–27 недель гестации. Использованы гистологические и гистохимические методы.

**Результаты.** В гистологических препаратах подвздошной кости плодов 9–14 недель основную массу губчатого вещества составляли клетки эмбриональной мезенхимы. Часть из них дифференцировалась в хрящевую ткань, другая развивалась в остеогенном направлении, так как среди клеток мезенхимы выявлялись тяжи костной ткани, напоминающие трабекулы. Можно было проследить, что по мере увеличения срока гестации, в период 9–14 недель на месте мезенхимы первоначально появлялись элементы гиалинового хряща, а затем образовывались первичный костные балки, между которыми вращались синусоидальные сосуды.

Мезенхимная ткань была представлена слабо базофильным аморфным веществом, в котором располагались клетки двух типов. Одни имели цитоплазму веретенообразного или отростчатого типа и центрально расположенное крупное ядро с компактной структурой хроматина. В части клеток ядра были с нежнодиспергированным хроматином и хорошо заметными ядрышками. Клетки контактировали между собой цитоплазматическими отростками. Среди указанных клеточных эле-

ментов мезенхимы были диффузно распределены клетки небольших размеров с узким ободком цитоплазмы и небольшими выростами. Ядра небольших размеров с отчетливыми границами и небольшими выростами.

С увеличением сроков гестации среди мезенхимных клеток нарастал объем хрящевой ткани, которая в подвздошной кости была представлена участками гиалинового хряща. Первично, в местах образования хрящевой ткани мезенхимные клетки начинали группироваться более компактно, вследствие чего располагались значительно ближе друг к другу в сравнении с остальными отделами эмбрионального зачатка. В последующем вокруг них наблюдалось уплотнение межклеточной субстанции, которая начинала интенсивно окрашиваться гематоксилином и азуром. Уплотненная межклеточная субстанция окружала мелкие лакуны с расположенными в них клетками хрящевой ткани. Основную массу хондроцитов составляли клеточные элементы с несколькими сплюснутыми ядрами, содержащими мелкозернистый хроматин, конденсированный по внутреннему краю ядерной мембраны. Как правило, были хорошо видны ядрышки.

В эти же сроки на месте мезенхимы и хряща происходило образование костной ткани. В местах формирования кости мезенхимные клетки теряли веретенообразную или треугольную форму. Их отростки значительно укорачивались, ядра округлялись, цитоплазма становилась резко базофильной. Указанные клетки окружали себя плотным межклеточным матриксом остеонной ткани, образовывавшей многочисленные первичные костные трабекулы. Причем, на начальных этапах ячеистая структура, характерная для губчатой кости, имеющей костномозговые лакуны, не определялась. Костная ткань была представлена неправильной формы очагами остеонного вещества среди мезенхимы и хрящевой ткани. В последующем участки остеонной ткани удлинялись, формируя балочные структуры, которые начинали соединяться между собой. Среди костных трабекул располагались мезенхимные клетки, из которых начинали формироваться синусоидальные сосуды. Часть мезенхимных клеток, располагавшихся в непосредственной близости к костной матрице, трансформировались. Прежде всего, происходило увеличение плотности клеточных элементов мезенхимы в эндостальных

и субэндостальных зонах. Некоторые мезенхимные клетки их округлились, цитоплазма имела малочисленные короткие отростки. Другие мезенхимные клетки вытягивались и были ориентированы вдоль костных балок. В межбалочных пространствах увеличивался объем синусоидальных сосудов, их просветы содержали большое количество эритроцитов.

Эндотелиоциты синусоидов были представлены клетками с крупными ядрами овальной формы, в которых отчетливо выявлялись ядрышки. В некоторых случаях их структура напоминала вытянутые клеточные элементы эндоста. Межсинусоидальные пространства были заполнены слабо базофильной аморфной межклеточной субстанцией с отростчатыми мезенхимными клетками. Наряду с мезенхимными клеточными элементами, в межбалочных пространствах выявлялись моноклеарные клетки типа лимфоцитов. Характерной особенностью эмбриональной кости этих сроков было появление среди стромальных клеточных элементов мезенхимы эндостальных и субэндостальных зон молодых гемопоэтических клеток, направление дифференцировки которых определить не представлялось возможным. Их морфологические характеристики свидетельствовали, что это клетки кроветворной направленности. Они располагались изолированно и образовывали скопления. Чаще это были клеточные элементы округлой формы с небольшим объемом цитоплазмы, которая окрашивалась в темно-синие тона. Базофильная цитоплазма и отсутствие отростков отличали их от стромальных образований костномозговых пространств. Ядра клеток с отчетливыми границами, крупные, имели нежную структуру хроматина. Ядрышки в таких клетках не обнаруживались. Они обнаруживались в различных участках костномозговых пространств, однако, было заметно увеличение их объема в эндостальных зонах плодов 13–14 недель. Исключение составляли периваскулярные участки, в которых также можно было видеть скопления молодых кроветворных предшественников. Зрелые гранулоциты и жировые клетки в указанный период эмбрионального развития в губчатой кости плодов человека не обнаруживались.

В образцах губчатой кости плодов 16–18 недель наблюдались процессы дальнейшей перестройки стромальных структур костного мозга, сопровождавшиеся активацией гемо-

поэза. Прежде всего, было заметно изменение соотношения различных элементов кроветворных образований стромы. Объем хрящевой ткани в эти сроки гестации снижался, и участки гиалинового хряща определялись только в центральных отделах костных трабекул. Изолированно хрящевая ткань среди мезенхимы не обнаруживалась. По периферии хрящевого зачатка формировалась костная ткань, которая, в свою очередь, изолировалась от интрамедуллярных пространств многослойными тяжами гетерогенных по структуре клеток. Непосредственно на костном матриксе многочисленных вновь образованных трабекул располагались сплошным слоем резко базофильные клетки с крупными ядрами. В основном это были вытянутые клеточные элементы, цитоплазматические выросты которых контактировали между собой, образуя пласт, отделяющий костный матрикс от клеточных элементов субэндостальных участков.

Происходило дальнейшее формирование сосудистого русла. Объем синусоидальных сосудов возрастал, широкие просветы синусов истончались, образующие их эндотелиоциты уплощались. Ядра эндотелиальных клеток вытягивались. Структура хроматина становилась глыбчатой, в большинстве из них исчезали ядрышки.

В пространствах между синусоидальными сосудами и костными балками наблюдались качественные и количественные перестройки системы соединительнотканых клеток и их волокон. Объем недифференцированных мезенхимных клеток уменьшался. Типичные звездчатые клетки мезенхимы встречались в небольшом количестве в эндостальных и субэндостальных участках. В центральных отделах костномозговых пространств число стромальных клеток уменьшалось. Среди просветлений межклеточной субстанции обнаруживалось небольшое число отростчатых клеток с плохо окрашивающейся цитоплазмой и крупными, с вдавлениями ядрами. Иногда можно было видеть тонкие цитоплазматические выросты. При импрегнации азотнокислым серебром определялись тонкие прерывистые ретикулиновые волокна. Структура указанных интрамедуллярных стромальных элементов не отличалась от ретикулярных клеток костного мозга взрослых. Количество ретикулярных клеток было увеличено в периваскулярных и эндостальных участках костномозговых пространств.



В этот период в образовавшихся костномозговых полостях начинали появляться очаги неинденфицируемых бластных кроветворных клеток. Их количество в различных отделах варьировало. Наиболее часто они располагались по краям костных балок и возле кровеносных сосудов. При этом, в островках кроветворной ткани всегда обнаруживались стромальные элементы мезенхимы. Особенно отчетливо это было заметно по ходу костных трабекул в эндостальных и субэндостальных зонах. Причем, многие гемопоэтические клетки, которые еще было невозможно отнести к определенному направлению дифференцировки, находились в тесных межклеточных взаимодействиях со стромой. Цитоплазматические контакты наиболее часто выявлялись с молодыми активными элементами стромы. Мононуклеарные клетки типа лимфоцитов были диффузно распределены в зонах активного гемопоэза вблизи костной ткани. Жировые клетки, как и в препаратах предыдущих возрастных периодов эмбрионального развития, не выявлялись.

В образцах подвздошной кости плодов 23–27 недель хрящевая ткань трабекул губчатого вещества значительно уменьшалась в объеме. Очаги гиалинового хряща можно видеть в виде небольших тяжелей в центральных отделах трабекул губчатого вещества. Завершалось формирование костномозговых полостей, которые образовались посредством соединения костных балок. Минерализованный матрикс изолировался от интрамедуллярных пространств эндостальными клеточными элементами. В этот период количество стромальных клеток эндостальных и субэндостальных зон значительно снижалось, а указанные зоны были представлены кроветворной тканью. Непосредственно на костных балках располагались клеточные элементы эндоста с уплощенной цитоплазмой и вытянутыми темными ядрами. Здесь же встречались более крупные клетки с овальными ядрами, в которых были видны хорошо очерченные округлые ядрышки. Типичные мезенхимные элементы звездчатой формы, которые превалировали среди элементов стромы в начальные периоды гестации у плодов 23–27 недель, определялись в небольшом количестве в эндостальных и периваскулярных участках. В полостях располагались сформированные синусоидальные сосуды, структура которых практически не отличалась от

строения синусоидальных стенок костного мозга здоровых лиц, но характеризовалась увеличенным количеством активированных эндотелиоцитов. Обращало на себя внимание наличие в синусоидальных сосудах, наряду с эритроцитами, большого числа лимфоцитоподобных мононуклеаров и элементов эритроидного ряда. В межсинусоидальных пространствах располагались дендритические ретикулярные клетки, количество которых в костномозговых лакунах плодов было значительно выше, чем у взрослых. Довольно часто к ретикулярным клеткам прилежали лимфоидные элементы, эритробласты. Наивысшая гранулоцитарная активность была связана с эндостальными и периваскулярными зонами. Причем, в этих участках обнаруживались молодые стромальные клеточные элементы, находящиеся в тесных контактах с развивающимися гранулоцитарными клетками. Кроме того, в субэндостальных участках клеточные образования стромальной и кроветворной ткани располагались довольно компактными полями, в которых на светоптическом уровне, в ряде случаев, не представлялось возможным дифференцировать стромальные клетки от лимфоцитоподобных гемопоэтических элементов.

По мере созревания гранулоциты перемещались из эндостальных зон в интрамедуллярные пространства. При этом морфологический анализ костного мозга плодов 23–27 недель не выявил в межсинусоидальных пространствах типичных для нормального кроветворения взрослых жировых клеток, среди которых всегда располагались зрелые лейкоциты.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что становлению кроветворения в эмбриональной кости предшествуют структурные перестройки и характерная организация системы соединительнотканых клеток и межклеточного вещества, которые представляют собой элементы микроокружения, развившиеся из эмбриональной мезенхимы. При этом, лишь после формирования синусоидальной системы костной матрицы и изоляции последней от родоначальных кроветворных клеток становится возможным окончательное созревание гемопоэтических предшественников. Наличие всех клеточных типов стромального микроокружения — мезенхимных, хрящевых, остеогенных, ретикулярных, эндотели-

альных клеток не гарантирует становление кроветворения. Только после структурной организации, характерной для деятельного костного мозга, способны осуществляться процессы развития кроветворной ткани.

Очевидно, что на основании только морфологических исследований невозможно делать окончательные выводы о конкретной роли отдельных элементов стромы в регуляции гемопоэза. Однако, можно выделить и охарактеризовать стромальные элементы, которые способны формировать индуцирующее гемопоэза микроокружение и обеспечить кроветворную функцию костного мозга. Так, результаты, полученные в ходе анализа развития эмбриональной кости в сочетании с данными проведенных исследований деятельного костного мозга здоровых лиц, свидетельствуют о том, что непосредственное участие в кроветворной функции могут принимать эндотелиальные, ретикулярные и эндостальные клетки. Полученные результаты подтверждают предположение о едином источнике развития различных клеточных элементов стромы. В период эмбрионального развития — это мезенхимные клетки. По всей вероятности, часть из них сохраняется в «дремлющем» состоянии в костном мозге взрослых и находится среди популяции недифференцированных эндостальных и периваскулярных клеток.

**Заключение.** Представленные данные свидетельствуют о том, что развитие костной и кроветворной тканей в фетальном периоде проходит ряд последовательных этапов: мезенхимные эмбриональные клетки — хрящевая ткань — остеогенная ткань — начало формирования синусов — образование костномозговых лакун с изоляцией костного матрикса эндостальными клетками, завершением развития синусов и формированием интрамедуллярного стромального каркаса — становление гемопоэза с топографически закрепленной локализацией молодых и зрелых кроветворных клеток. К 27-й неделе гестации завершается формирование структур, образующих васкулярную и эндостальную ниши, которые способны регулировать жизнедеятельность родоначальных кроветворных клеток. Полученные результаты также подтверждают положение, что поддерживать гемопоэз способна только костная ткань, развивающаяся на месте хряща. С определенной долей вероятности можно предполагать, что во взрослом организме нарушения дифференциального потенциала мезенхимных стволовых клеток в направлении хрящевой ткани способны приводить к перестройке остеогенеза и, как следствие, изменению функциональных свойств эндостальной ниши.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell // *Blood Cells*. — 1978. — № 4. — P. 7–25.
2. Purton L. E., Scadden D. T. The hematopoietic stem cell niche // *StemBook*, ed. The Stem Cell Research Community. — 2008. — V. 15. — P. 1–14.
3. Akintoye, S. O., T. Lam, S. Shi et al. Skeletal site -specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals // *Bone*. — 2006. — Vol. 38(6). — P. 758–768.
4. Calvi L. M., Adams G. B., Weibrecht K. W., et al. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche // *Nature*. — 2003. — № 425. — P. 841–846.
5. Nagasawa T., Omatsu Y., Sugiyama T. Control of hematopoietic stem cells by the bone marrow stromal niche: the role of reticular cells // *Trends Immunol.* — 2011. — № 32(7). — P. 315–20.
6. Cumano A., Godin I. Ontogeny of the hematopoietic system // *Annu. Rev. Immunol.* — 2007. — № 25. — P. 745–785.
7. Ding L., Morrison S. J. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches // *Nature*. — 2013. — № 495. — P. 231–235.

**Бутолина М. А., Ветошкин К. А., Минаева Н. В., Зорина Н. А., Исаева Н. В., Хоробрых М. Н.**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров*

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ  
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КЛЕТОК СТРОМЫ КОСТНОГО МОЗГА ДОНОРОВ**

***Butolina M. A., Vetoshkin K. A., Minaeva N. V., Zorina N. A., Isaeva N. V., Horobryh M. N.***

*The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Kirov*

**RESULTS OF STUDYING OF CULTURAL CHARACTERISTICS  
OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS OF BONE MARROW OF DONORS**

**Резюме.** Целью исследования является изучение культуральных свойств мезенхимальных клеток стромы костного мозга доноров. Показано, что выделенные культуры относятся к мезенхимальным стромальным клеткам согласно критериям Международного общества клеточной терапии. Определены следующие параметры клеточных культур: морфологические признаки пластикадгезивных клеток и формируемых ими колоний, степень экспрессии основных иммунологических маркеров, время достижения клетками первичного посева и последующих пассажей конфлюэнтного монослоя, время удвоения количества клеток. Дана характеристика динамики ростовых свойств полученных культур клеток.

**Ключевые слова:** костный мозг, мезенхимальные клетки, культуральные свойства.

**Введение.** В костном мозге представлены два основных вида стволовых клеток: гемопоэтические (ГСК) и мезенхимальные (МСК). ГСК обеспечивают регенерацию форменных клеточных компонентов крови и иммунной системы. Постоянный пул ГСК поддерживается на протяжении всей жизни человека благодаря их высокому пролиферативному потенциалу. Идентификация ГСК осуществляется по экспрессии основного иммунологического маркера — CD34 [1, 2].

МСК представляют собой популяцию плюрипотентных клеток, способных дифференцироваться в направлении хондроцитов, остеобластов, адипоцитов и ряда других клеток соединительной ткани [1]. В результате

**Abstract.** The purpose of the article is assessment of the cultural characteristics of donor bone marrow mesenchymal stromal cells. Were shown that cultures belong to mesenchymal stromal cells according to the criteria of the International Society for Cellular Therapy. The following cell culture parameters were determined: morphological signs of plastic-adherent cells and their colonies, the degree of expression of basic immunological markers, time for reaching of a confluent monolayer by the primary seeding cells and subsequent passages, time of cell doubling. The characteristic of the growth dynamics of the obtained cell cultures is described.

**Key words:** bone marrow, mesenchymal cells, cultural characteristics.

объединения усилий множества групп авторов Международным обществом клеточной терапии (International Society for Cell Therapy, ISCT) сформулированы критерии, позволяющие идентифицировать МСК. Согласно этим критериям, МСК проявляют адгезию к пластике при стандартных условиях культивирования, имеют определённый набор поверхностных антигенов, а также обладают полипотентностью. Большая часть МСК экспрессирует такие маркеры, как CD105, CD73, CD90 и CD44, на их поверхности отсутствуют маркеры CD45, CD34, CD31, CD54, CD117, CD133, HLA класса II [3].

Клетки, соответствующие описанным критериям, содержатся в костном мозге, жи-

ровой ткани [4, 5], стенках сосудов, надкостнице, пульпе зуба, пуповинной крови [6, 7], синовиальной мембране [8], мышцах [9]. МСК в костном мозге присутствуют в количестве 0,001–0,01 % от всех клеточных элементов [1]. В то же время для целей терапии требуется количество МСК в клеточном продукте не менее  $1 \times 10^6$ /кг (в среднем  $50\text{--}100 \times 10^6$ ) [10]. Указанное число клеток может быть получено путем их культивирования (наращивания) в условиях *ex vivo*.

**Цель работы.** Оценить культуральные особенности МСК костного мозга доноров ГСК.

**Материалы и методы.** МСК выделяли из костного мозга доноров ( $n = 10$ ), полученного при стандартной операции миелоэкспузии. Медиана возраста составила 31 год (14–38 лет). Выделение ядерных клеток костного мозга осуществляли путем фракционирования на градиенте плотности ( $\rho = 1,077$  при температуре 22 °С). МСК культивировали в полной питательной среде, содержащей следующие компоненты: среду  $\alpha$ MEM (StemCells), богатую тромбоцитами плазму (4 %), гепарин (Sigma, 2 Ед/мл), L-глутамин 2 мМ (StemCells).

Плотность клеток при первичном посеве составляла  $4\text{--}10 \times 10^4$ /см<sup>2</sup> культуральной поверхности. МСК культивировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при содержании 5 % углекислого газа при температуре 37 °С. Полную замену среды производили через 4–5 сут. После формирования конфлюэнтного монослоя клетки обрабатывали 0,25 % раствором трипсина. Жизнеспособные клетки подсчитывали в камере Горяева с использованием красителя трипанового синего и рассевали по флаконам из расчета  $1,5\text{--}2,0 \times 10^3$ /см<sup>2</sup>.

МСК идентифицировали согласно критериям ISCT: адгезии к пластику веретеновидных клеток, наличия иммунологических маркеров CD44, CD105, CD73, CD90, отсутствия экспрессии CD34, CD45, CD31, CD54, CD117, CD133 и HLA-DR. Иммунофенотипи-

ческие характеристики МСК определяли методом лазерной проточной цитометрии на анализаторе BD FACS Canto II. Оценивали количество колониеобразующих единиц фибробластов (КОЕ-Ф), время достижения культурой конфлюэнтного монослоя и время удвоения клеток. Подсчет КОЕ-Ф производили на 7 сут. от начала культивирования с использованием инвертированного микроскопа. Время удвоения рассчитывали по формуле:

$$T_{1/2} = T_k \times \frac{\ln 2}{\ln \frac{N_k}{N_0}}$$

где  $T_{1/2}$  — время удвоения;  
 $T_k$  — длительность культивирования (в часах);

$N_k$  — количество полученных клеток;

$N_0$  — количество посеянных клеток.

При сравнении результатов применяли непараметрический критерий (Уилкоксона), коэффициент корреляции Пирсона. Значения  $p$  менее 0,05 рассматривали как достоверные.

**Результаты и обсуждение.** Полученные культуры при оценке методом световой микроскопии представлены однотипными клетками веретеновидной формы. Выделенные из костного мозга, прикрепленные к поверхности пластикового флакона клетки формировали дискретные клеточные колонии. При дальнейшем культивировании (в среднем 7 сут.) колонии образовывали монослой, занимающий всю поверхность культуральной посуды.

Среднее количество КОЕ-Ф в полученных культурах составило  $11,72 \pm 5,13$  ( $n = 10$ ) на  $1 \times 10^6$  внесенных в культуру миелокариоцитов. При анализе иммунофенотипа клеточной культуры отмечена экспрессия в высокой степени (> 60 %) таких маркеров, как CD90, CD73, CD44, и в более низкой степени — CD105 (таблица 1).

Таблица 1.

**Иммунофенотипическая характеристика мезенхимальных клеток костного мозга доноров ( $n = 10$ )**

Иммунологический маркер	Номер пассажа			
	Первичный посев	1	2	3
CD90	85,4 ± 14,5	85,1 ± 14,3	74,5 ± 20,8	88,3 ± 13,7
CD105	15,4 ± 4,8	24,7 ± 13,1	31,6 ± 6,4	31,6 ± 4,6
CD73	85,3 ± 12,9	83,7 ± 13,2	66,1 ± 25,1	78,7 ± 12,7

CD44	86,3±14,0	86,5±9,6	61,6±20,5	77,4±15,6
CD34	4,0±3,7	1,9±0,9	1,1±0,6	1,1±0,5
CD45	5,2±4,4	0	0	0,3±0,1
CD31	0	6,3±5,3	0,7±0,3	0
CD54	14,3±1,1	10,9±6,6	2,6±2,2	0
CD117	0	2,6±2,3	0,2±0,1	0
CD133	1,1±1,0	3,8±2,8	0,2±0,2	0,8±0,1
HLA-DR	10,9±7,8	4,9±2,6	4,9±4,6	5,9±5,8

Степень экспрессии основных позитивных иммунологических маркеров культур МСК соответствует данным, представленным в литературе [11]. Иммунофенотипическая характеристика не изменялась на протяжении четырех пассажей, что свидетельствовало об однородности полученных клеточных продуктов. При оценке популяции клеток первичного посева уровень примеси ГСК (CD34+) составил  $3,5 \pm 1,8$  % от общего количества клеток, а к концу первого пассажа данный показатель снизился до  $0,5-1$  % от всех клеток. Отмечено снижение экспрессии антигенов гистосовместимости HLA класса II ко 2–3 пересевам (не более 6 %). Таким образом, по иммунологическим характеристикам вы-

деленные культуры пластикадгезивных клеток можно расценивать как мезенхимальные с минимальной примесью гемопоэтических элементов.

Изучено время достижения клетками первичного посева конфлюэнтного монослоя, косвенно отражающее количество мезенхимальных стволовых элементов в костном мозге [12]. Период, за который клетки первичного посева образовывали конфлюэнтный монослой, для изученных культур составил  $13,4 \pm 2,3$  сут ( $n = 10$ ). Длительность каждого последующего пассажа образцов МСК определялась временем, необходимым для достижения конфлюэнтного клеточного слоя в культуральном флаконе (таблица 2).

Таблица 2.

**Показатели скорости роста культуры мезенхимальных клеток костного мозга доноров ( $n = 10$ )**

Показатель	Номер пассажа			
	Первичный посев	1	2	3
Время достижения конфлюэнтного монослоя, сут.	$13,4 \pm 2,3$	$9,7 \pm 2,3$	$11,6 \pm 2,3$	$15 \pm 1,7$
Время удвоения культуры, час	—	$59,9 \pm 18,5$	$77,0 \pm 12,7$	$106,6 \pm 19,2$

Время достижения 90–95 % покрытия клетками поверхности флакона варьировало от 9 (пассаж № 1) до 15 сут. (пассаж № 3). В целом указанные временные характеристики роста МСК костного мозга доноров соответствуют данным, представленным в литературе [12, 13]. Длительность каждого пассажа в определенной мере зависит от плотности посева. В связи с этим для более полной характеристики пролиферативного потенциала МСК нами определено время удвоения количества клеток культуры (таблица 2), не зависящее от числа взятых на посев элементов. Отмечена тенденция к увеличению данного показателя от  $59,9 \pm 18,5$  (пассаж № 1) до  $106,6 \pm 19,2$  часов (пассаж № 3), что свидетельствует о снижении пролифератив-

ной активности клеток и старении культуры [14]. Выявленное снижение скорости роста статистически достоверно ( $p < 0,05$ ).

Корреляционный анализ выявил прямую зависимость между возрастом донора и временем удвоения культуры (коэффициент Пирсона для  $P_1-0,6$ ,  $P_2-0,76$ ,  $P_3-0,83$ ). Наблюдаемую тенденцию можно интерпретировать следующим образом: чем старше донор, костный мозг которого использован для получения культуры МСК, тем ниже скорость роста клеток.

**Заключение.** Полученные культуры отвечали критериям ISCT, позволяющим идентифицировать их как мезенхимальные. Установлено снижение митотической активности МСК при каждом последующем пассаже. При

планировании сроков получения клеточного продукта следует учитывать снижение пролиферативной активности МСК в процессе культивирования и зависимость скорости их роста от возраста донора.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Мезен Н. И., Квачева Н. И., Сычик Л. М. Стволовые клетки: учеб.— метод. пособие. 2-е изд., доп. Минск: БГМУ, 2014. — 62 с.
2. Шигина Ю. В. Иммунология: учеб. пособие. М.: РИОР, 2007. — 39 с.
3. Бигильдеев А. Е. Устройство и регуляция отдела стволовых мезенхимных клеток: дис. ... докт. биол. наук. — Москва, 2017. — 270 с.
4. Loncar D. Ultrastructural analysis of differentiation of rat endoderm in vitro, Adipose vascular-stromal cells induce endoderm differentiation, which in turn induces differentiation of the vascular-stromal cells into chondrocytes // *Journal of submicroscopic cytology pathology*. — 1992. — N24. — P. 509–519.
5. Park S. R., Oreffo R. O., Triffit J. T. Interconversion potential of cloned human marrow adipocytes in vitro // *Bone*. — 1999. — N24. — P. 549–554.
6. Erices A., Conget P., Minguell J. J. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood // *British Journal of Haematology*. — 2000. — N109. — P. 235–242.
7. Gutierrez-Rodriguez M., Reyes-Maldonado E., Mayani H. Characterization of the adherent cells developed in Dexter-type long-term cultures from human umbilical cord blood // *Stem Cells*. — 2000. — N18. — P. 46–52.
8. H. Ohnishi, Y. Oda, T. Aoki [et. al.] A comparative study of induced pluripotent stem cells generated from frozen, stocked bone marrow- and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells // *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. — 2012 — N. 6 — P. 261–271.
9. Nathanson M. Bone matrix-directed chondrogenesis of muscle in vitro // *Clinical Orthopaedic*. — 1985. — N200. — P. 142–158.
10. Т. В. Шаманская, Е. Ю. Осипова, Б. Б. Пурбуева [и др.] Культивирование мезенхимальных стволовых клеток ex vivo в различных питательных средах (обзор литературы и собственный опыт) // *Онкогематология*. — 2010. — № 3. — С. 65–71.
11. A. Harichandan, K. Sivasubramanian, H. — J. Buhring Prospective isolation and characterization of human bone marrow-derived MSCs // *Advances in biochemical engineering and biotechnology*. — 2013. — N129. — P. 1–17. DOI: 10.1007/10\_2012\_147.
12. Т. Sorokina, I. Shipounova, A. Bigildeev [et. al.] Alterations of the bone marrow stromal microenvironment in adult patients with leukemia before and after the treatment // *Blood*. — Vol. 128. — N22. — 2016. — P. 2668.
13. И. Н. Шипунова, Н. А. Петинати, Н. В. Сац [и др.] Стромальные клетки-предшественники при остром лимфобластном лейкозе // *Гематология и трансфузиология*. — Том 59. — № S1. — 2014. — С. 31.
14. Супотницкий М. В., Еланов А. А., Меркулов В. А. [и др.] Основные технологические процессы, используемые при производстве биомедицинских клеточных продуктов // *Биопрепараты*. — 2015. — Т. 2. — С. 36–45

*Маткаримова Д. С., Каримов Х. Я., Бобоев К. Т.*

*Научно-исследовательский институт Гематологии и переливания крови МЗРУз*

**ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА  
RS1800629 ГЕНА TNFA С РАЗВИТИЕМ ИММУННОГО  
МИКРОТРОМБОВАСКУЛИТА У ВЗРОСЛЫХ В УЗБЕКИСТАНЕ**

*Matkarimova D. S., Karimov H. Ya., Boboev K. T.*

*Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Ministry of Health and Social Development*

**ASSOCIATION OF GENETIC POLYMORPHISM OF RS1800629  
TNF $\alpha$  GENE WITH THE DEVELOPMENT OF IMMUNE  
MACROTHROMBOCYTOPENIA ADULTS IN UZBEKISTAN**

**Резюме.** Изучена ассоциация генетического полиморфизма rs1800629 TNF $\alpha$  и иммунного микротромбоваскулита (пурпура Шенлейн — Геноха) у взрослых лиц в Узбекистане. Полиморфизм rs1800629 гена TNF $\alpha$  оценивали с помощью анализа образцов ДНК, полученных из периферической крови стандартной ПЦР. Результаты исследования показали наличие значимого различия в распределении аллеля А ( $\chi^2 = 4.89$ ;  $P = 0.027$ ; OR = 2.53; 95 % CI 1.09–5.89) и генотипа G/A ( $\chi^2 = 5.58$ ;  $P = 0.018$ ; OR = 2.92; 95 % CI 1.18–7.26) гена TNF $\alpha$  (rs1800629) между пациентами в стадии разгара заболевания и контрольной группой, что в свою очередь свидетельствует о возможном участии указанного полиморфизма в развитии иммунного микротромбоваскулита.

**Ключевые слова:** полиморфизм rs1800629 гена TNF $\alpha$ , иммунный микротромбоваскулит (пурпура Шенлейн-Геноха), генотип.

**Актуальность.** Иммунный микротромбоваскулит (пурпура Шенлейн-Геноха) является иммунокомплексным заболеванием с неясной этиологией [1, 2]. По мнению некоторых авторов данная патология наиболее часто возникает в связи со стрептококковой инфекцией, по утверждению других — с цитомегаловирусом и хламидиями, вирусом простого герпеса 1-го и 2-го типов, вирусом гепатита В, токсоплазмозом [3]. Наряду с этим, провоцирующими факторами иммунного микротромбоваскулита могут быть переохлаждение, избыточная инсоляция, пищевая, лекарственная и холодовая аллергии; прове-

**Abstract.** We studied the association of genetic polymorphism rs1800629 TNF $\alpha$  in the development of immune microthrombovasculitis (Shenlein-Genoch purpura) in adults in Uzbekistan. The rs1800629 polymorphism of the TNF $\alpha$  gene was evaluated by analyzing DNA samples obtained from peripheral blood by standard PCR. The results of the study showed the presence of a significant difference in the distribution of the A allele ( $\chi^2 = 4.89$ ;  $P = 0.027$ ; OR = 2.53; 95 % CI 1.09–5.89) and the G/A genotype ( $\chi^2 = 5.58$ ;  $P = 0.018$ ; OR = 2.92; 95 % CI 1.18–7.26) of the TNF $\alpha$  gene (rs1800629) between patients at the height of the disease and the control group, which in turn indicates the possible participation of this polymorphism in the development of immune microthrombovasculitis.

**Key words:** rs1800629 polymorphism of the TNF $\alpha$  gene, immune microthrombovasculitis (Shenlein-Henoch purpura), carriage, frequency, allele, genotype.

дение профилактических прививок на фоне или сразу после ОРВИ, очаги хронической инфекции, укусы насекомых; травмы и др. [4]. Однако зачастую фактор, приведший к возникновению иммунного микротромбоваскулита, установить невозможно.

До настоящего времени окончательно не расшифрованы и патогенетические механизмы развития иммунного микротромбоваскулита [5]. Анализ литературы свидетельствует о возрастающем интересе к изучению значимости молекулярно-генетических маркеров в формировании этого заболевания [6, 7, 8], в частности генов провоспалительных цито-

кинов, таких как фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), участвующих в формировании иммунного ответа, и установлению их роли в развитии иммунного микротромбоваскулита [9].

TNF- $\alpha$  является цитокином, продуцируемым в основном активированными макрофагами [10]. Данный цитокин участвует в системном воспалении и в патогенезе воспалительных заболеваний. По данным Y. H. Yang et al. (2002), TNF- $\alpha$  увеличивается во время острой стадии болезни Шенлейн-Геноха и может усиливать связывающую активность антител IgA против эндотелиальных клеток [11]. Была оценена потенциальная роль TNF- $\alpha$  (rs1800629) полиморфизма в патогенезе болезни Шенлейн-Геноха [3, 14]. Однако, некоторые авторы приводят данные об отсутствии связи между генетическим полиморфизмом TNF- $\alpha$  (rs1800629) и развитием заболевания [9], а другие, наоборот, утверждают о ее наличии [13].

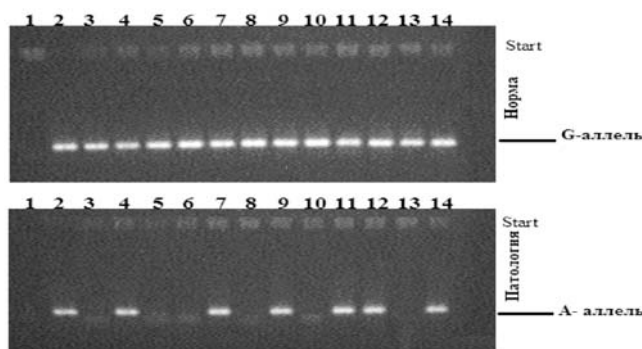
Таким образом, результаты существующих на сегодня исследований противоречивы, что обосновывает необходимость проведения дальнейших исследований в этом направлении.

**Материал и методы.** В исследование включено 75 взрослых (основная группа) неродственных пациентов узбекской национальности с установленным диагнозом иммунный

микротромбоваскулит (ИМТВ) на основании современных классификационных критериев EULAR, PRINTO и PreS (2010) [11], наблюдавшиеся в консультативно-диагностической поликлинике Научно-исследовательского института Гематологии и переливания крови МЗРУз в период с 2017 по 2018 г.г. Из 75 пациентов с иммунным микротромбоваскулитом 41 — находились в стадии разгара (подгруппа «А») и 34 — в стадии ремиссии (подгруппа «В») заболевания (медиана возраста пациентов составила —  $43,5 \pm 3,8$  лет). Контрольную группу составили 73 здоровых неродственных лица узбекской национальности без воспалительных, аллергических, системных и почечных заболеваний в анамнезе, соответствовавших по полу и возрасту обследованной группе пациентов.

ДНК выделяли из лейкоцитов венозной крови в соответствии со стандартным протоколом выделения ДНК [16]. Детекцию полиморфизма rs1800629 гена TNF $\alpha$  проводилось методом SNP-ПЦР на программируемом термоциклере фирмы «Applied Biosystems» 2720 (США), с использованием тест-систем компании «Литех» (Россия), согласно инструкции производителя.

Специфичность и количество амплифицированных фрагментов проверяли методом электрофореза в агарозном геле (рисунк 1).



**Рисунок 1.** Электрофореграмма детекции полиморфизма rs1800629 гена TNF- $\alpha$  в группе контроля и пациентов с иммунным микротромбоваскулитом.

Статистический анализ результатов проведен с использованием пакета статистических программ «OpenEpi 2009, Version 9.3».

**Результаты и обсуждение.** Нами исследован биаллельный полиморфизм rs1800629 гена TNF- $\alpha$ , который представляет собой замену единственного нуклеотида гуанина на аденин (G/A). В наших наблюдениях у об-

следованных пациентов с иммунным микротромбоваскулитом ( $n = 75$ ) в сравнении с группой контроля частота встречаемости неблагоприятного аллеля А возрастает 1,7 раза — с 7.3 % (в популяции) до 12.7 % с колебаниями от 10.3 % у пациентов «В» подгруппы и до 14.6 % у пациентов «А» подгруппы (таблица 1).



**Анализ результатов исследования полиморфизма rs1800629 гена TNF-α в группах пациентов с иммунным микротромбоваскулитом и группе контроля**

Группа	n	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		G		A		G/G		G/A		A/A	
		n	%	n	%	N	%	n	%	n	%
Основная группа ИМТВ	75	131	87.3	19	12.7	56	74.7	19	25.3	0	0
«А» подгруппа	41	70	85.4	12	14.6	29	70.7	12	29.3	0	0
«В» подгруппа	34	61	89.7	7	10.3	27	79.4	7	20,6	0	0
Контрольная группа	73	135	92.3	11	7.3	62	84.9	11	15.1	-	0

Достоверное увеличение частоты носительства неблагоприятного аллеля А в основной группе пациентов с иммунным микротромбоваскулитом ( $\chi^2 = 3.21$ ;  $P = 0.073$ ;  $OR = 2.0$ ;  $95\% CI 0.93-4.31$ ), а в подгруппах пациентов «А» — до 14,6% ( $\chi^2 = 4.89$ ;  $P = 0.027$ ;

$OR = 2.53$ ;  $95\% CI 1.09-5.89$ ) и «В» — до 10,3% ( $\chi^2 = 0.46$ ;  $P = 0.50$ ;  $OR = 1.41$ ;  $95\% CI 0.52-3.81$ ) свидетельствует об ассоциации данного аллеля с повышенным риском развития иммунного микротромбоваскулита в «А» подгруппе (табл. 2).

Таблица 2.

**Ассоциативная связь между полиморфизмом rs 1800629 гена TNF-α и риском развития ИМТВ в сравнение с контролем**

Исследуемые группы	Аллели и генотипы	Статистическое различие					
		Relativerisk (относительный риск)		Oddsratio (отношение шансов)		$\chi^2$	p-value (достоверность)
		RR	95% CI:	OR	95% CI:		
Основная группа (n=75)	G	0.74	0.56–0.98	0.50	0.23–1.08	3.21	0.073
	A	1.34	1.02–1.78	2.00	0.93–4.31		
	G/G	0.71	0.52–0.97	0.46	0.20–1.03		
	G/A	1.41	1.03–1.94	2.19	0.97–4.96		
	A/A	—	—	—	—		
ИМТВ с геморрагическим синдромом (n=41)	G	0.60	0.40–0.89	0.40	0.17–0.92	4.89	0.027*
	A*	1.67	1.12–2.49	2.53	1.09–5.89		
	G/G	0.54	0.34–0.87	0.34	0.14–0.85		
	G/A*	1.85	1.15–2.95	2.92	1.18–7.26		
	A/A	—	—	—	—		
ИМТВ без геморрагического синдрома (n=34)	G	0.80	0.43–1.48	0.71	0.26–1.92	0.46	0.50
	A	1.25	0.68–2.31	1.41	0.52–3.81		
	G/G	0.78	0.40–1.51	0.68	0.24–1.96		
	G/A	1.28	0.66–2.48	1.46	0.51–4.18		
	A/A	—	—	—	—		

Примечание: \* — статистическое различие по сравнению с контрольной группой.

Следует отметить, что в контрольной выборке и у пациентов с иммунным микротромбоваскулитом встречались только дикий G/G и гетерозиготный G/A генотипы, а носительство неблагоприятного редкого генотипа A/A не выявлено (таблица 1). Наряду с этим, в группе пациентов, в сравнении с контролем

в 1,7 раза чаще регистрировали гетерозиготный G/A генотип (25,3% против 15,1%), при этом наибольший процент носительства данного генотипа отмечался в «А» подгруппе пациентов (29,3%).

Распределение частоты носительства гетерозиготного генотипа G/A в основной группе

пациентов с иммунным микротромбоваскулитом (25.3 % против 15.1;  $\chi^2 = 3.65$ ;  $P = 0.056$ ;  $OR = 2.19$ ; 95 % CI 0.97–4.96), а в подгруппах пациентов «А» (29.3 % против 15.1;  $\chi^2 = 5.58$ ;  $P = 0.018$ ;  $OR = 2.92$ ; 95 % CI 1.18–7.26) и «В» (20.6 % против 15.1 %;  $\chi^2 = 0.51$ ;  $P = 0.48$ ;  $OR = 1.46$ ; 95 % CI 0.51–4.18) свидетельствует об ассоциации данного аллеля с повышенным риском развития иммунного микротромбоваскулита в «А» подгруппе (таблица 2).

Вышеописанная частота распределения генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF $\alpha$  ( $H_{obs}$ ) как в основной группе больных, так и в контрольной группе соответствовала ожидаемому распределению ( $H_{exp}$ ) согласно равновесию Харди-Вайнберга.

При этом замечено, что у пациентов с иммунным микротромбоваскулитом индекс гетерозиготного дефицита при полиморфизме rs1800629 гена TNF $\alpha$  имеет не очень высокий уровень (от 0.25 до 0.22, соответственно), а в контрольной выборке — низкий (значение  $H_{obs}$  от  $H_{exp}$  были равны 0.15 и 0.14, соответственно), подтверждающие низкий уровень гетерозиготности этого локуса в контроле. При этом, относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой в обеих группах оказалось положительным (+0.13 и +0.07).

Данное обстоятельство позволяет утверждать, что гетерозиготный G/A генотип полиморфизма rs1800629 гена TNF- $\alpha$  достоверно ассоциирован с развитием иммунного микротромбоваскулита у лиц узбекской национальности. Вероятно, это связано с потерей протективного эффекта дикого G/G генотипа у лиц с гетерозиготным типом полиморфизма гена TNF- $\alpha$  (rs1800629), вследствие чего могут развиваться повреждение эндотелия микрососудов.

Носительство редкого гомозиготного генотипа A/A в исследованных группах не выявлено, что вероятно связано с эффектом «селективного отбора против неблагоприятного генотипа», т.к. этот полиморфный вариант гена TNF- $\alpha$  ассоциирован с ранним проявлением множественных патологий.

Таким образом, полученные результаты показывают ассоциацию гетерозиготного варианта G/A гена TNF $\alpha$  (rs1800629) с развитием стадии разгара иммунного микротромбоваскулита у лиц узбекской национальности. Эти результаты вносят вклад в формирование фундаментальных представлений о мо-

лекулярно-генетических основах и патогенетических механизмах развития иммунного микротромбоваскулита в Узбекистане.

**Заключение.** Иммунный микротромбоваскулит является заболеванием, этиопатогенетические механизмы которого до настоящего времени до конца не изучены [2, 5]. На сегодня существуют ряд мнений и утверждений, что решающую роль в патогенезе иммунного микротромбоваскулита определяют генетические полиморфизмы [7, 8]. До настоящего времени проведено множество молекулярно-генетических исследований по изучению роли генов в формировании иммунного микротромбоваскулита. Однако данные проведенных исследований в разных популяциях носят противоречивый характер, что возможно связано с этническими различиями с предрасположенностью к развитию данного заболевания. В литературе описываются результаты исследований по изучению роли гена фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) — провоспалительного цитокина, принимающего участие в системном воспалении и в патогенезе воспалительных заболеваний [11]. По данным Ding GX et al. (2016) [13] аллель A полиморфизма G308A гена TNF- $\alpha$  увеличивает риск развития иммунного микротромбоваскулита, тогда как другие авторы не обнаружили ассоциацию гена TNF- $\alpha$  с развитием заболевания [9].

В настоящем исследовании изучена генетическая ассоциация между развитием иммунного микротромбоваскулита и полиморфизмом гена TNF —  $\alpha$  (rs1800629). Результаты наших исследований показали, что частота встречаемости аллеля A (14.6 % против 7.3 %) и гетерозиготного G/A генотипа (29.3 % против 15.1 %) гена TNF —  $\alpha$  (rs1800629) в группе пациентов с иммунным микротромбоваскулитом в стадии разгара значимо выше по отношению к контрольной группе, что в свою очередь свидетельствует о возможном участии указанного полиморфизма в патогенезе заболевания.

Анализируя на сегодняшний день результаты проведенных исследований по изучению молекулярно-генетических механизмов развития иммунного микротромбоваскулита, учитывая их противоречивый характер очевидно, что генетический механизм развития заболевания является весьма сложным и до конца не изученным.

**ЛИТЕРАТУРА:**

1. Гуляев С. В., Стрижаков Л. А., Моисеев С. В., Фомин В. В. От пурпуры Шенлейна–Геноха до IgA-васкулита: патогенетические аспекты болезни. *Терапевтический архив*. 2018; 10: 109–114.
2. Cojocariu C., Stanciu C., Ancuta C., Danciu M., Chiriac S., Trifan A. Immunoglobulin A Vasculitis Complicated with *Clostridium difficile* Infection: a Rare Case Report and Brief Review of the Literature. // *J Gastrointest Liver Dis*, June 2016 Vol. 25 No 2: 235–238 DOI: <http://dx.doi.org/10.15403/jgld.2014.1121.252.csd>.
3. Ding G. X., Wang C. H., Che R. C., Guan W. Z., Yuan Y. G., Su M. et al. Heat shock protein 70–2 and tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in Chinese children with Henoch-Schonlein purpura. *World J Pediatr* 2016;12:49–54.
4. Gui-Xia Ding, Chen-Hu Wang, Ruo-Chen Che, Wan-Zhen Guan, Yang-Gang Yuan, Min Su, Ai-Hua Zhang, Song-Ming Huang. Heat shock protein 70–2 and tumor necrosis factor- $\alpha$  gene polymorphisms in Chinese children with Henoch-Schönlein purpura. *World J Pediatr*, Online First, November 2015. [www.wjpc.com](http://www.wjpc.com). doi: 10.1007/s12519-015-0048-9.
5. He X., Yu C., Zhao P., Ding Y., Liang X., Zhao Y., Yue X., Wu Y., Yin W. The genetics of Henoch-Schönlein purpura: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatol Int*. 2013 Jun;33(6):1387–95. doi: 10.1007/s00296-012-2661-4. Epub 2013 Jan 17. PMID:23325094 DOI:10.1007/s00296-012-2661-4.
6. Hetland L. E., Susrud K. S., Lindahl K. H., Bygum A. Henoch-Schönlein Purpura: A Literature Review.//*Acta Derm Venereol* 2017; 97: 1160–1166doi: 10.2340/00015555-2733.
7. Jennette J. C., Falk R. J., Bacon P. A. et al. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. //*Arthritis & rheumatism* Vol. 65, No. 1, January 2013, pp 1–11 DOI 10.1002/art.37715.
8. López-Mejías R, Castañeda S, González-Juanatey C, Corrales A, Ferraz-Amaro I, Genre F, et al. Cardiovascular risk assessment in patients with rheumatoid arthritis: the relevance of clinical, genetic and serological markers. *Autoimmun Rev* 2016; 15:1013–30.
9. López-Mejías R. et al. Genetics of immunoglobulin-A vasculitis (Henoch-Schönlein purpura): An updated review / *Autoimmunity Reviews* 17 (2018) 301–315.
10. Miller S. A., Dykes D. D., Polesky H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acids Res*. 1988; 16:1215.
11. Ozen S., Pistorio A., Iusan S. M., et al. EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch-Schönlein purpura, childhood polyarteritis nodosa, childhood Wegener granulomatosis and childhood Takayasu arteritis: Ankara 2008. Part II: Final classification criteria. *Ann Rheum Dis* 2010; 69:798–806.
12. Rigante D, Castellazzi L, Bosco A, Esposito S. Is there a crossroad between infections, genetics, and Henoch-Schönlein purpura? *Autoimmun Rev*. 2013;12:1016–1021
13. Sohagia AB, Gunturu SG, Tong TR, Hertan HI. Henoch-schonlein purpura — a case report and review of the literature. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010: 597648.
14. Wang J. J., Shi Y. P., Huang Y., Wu C., Li X. C. Association of tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms with Henoch-Schonlein purpura nephritis in children. *Zhongguo Dang Dai ErKe Za Zhi* 2013;15:88–90.
15. Yang Y. H., Lai H. J., Kao C. K., Lin Y. T., Chiang B. L. The association between transforming growth factor-beta gene promoter C-509T polymorphism and Chinese children with Henoch-Schonlein purpura. *Pediatr Nephrol* 2004;19:972–5.
16. Yang Y. H., Wang S. J., Chuang Y. H., Lin Y. T., Chiang B. L. The level of IgA antibodies to human umbilical vein endothelial cells can be enhanced by TNF-alpha treatment in children with Henoch-Schonlein purpura. *Clin Exp Immunol* 2002;130:352–7.

Абрахимова А. Р., Леонов Е. А., Хамаганова Е. Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

## HLA-ГЕНЫ И ГАПЛОТИПЫ У БАШКИР — ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РЕГИСТРА ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ, ТИПИРОВАННЫХ МЕТОДОМ NGS

**Введение.** HLA-типирование методом секвенирования нового поколения (NGS — next generation sequencing) — современный метод, позволяющий получить данные на уровне аллельного (ультравысокого) разрешения. HLA-типирование доноров и реципиентов на уровне HLA-аллелей улучшает выживаемость после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) от неродственного донора по сравнению с результатами алло-ТГСК, при которых типирование доноров и реципиентов проводилось на уровне высокого разрешения. Информация о частотах HLA-генов и гаплотипов в разных популяциях необходима для поиска совместимого донора и успешной алло-ТГСК.

**Цель исследования.** Провести анализ распределения частот HLA-аллелей и *A\*-B\*-C\*-DRB1\*-DQB1\** гаплотипов у доноров гемопоэтических стволовых клеток регистра «НМИЦ гематологии», самоопределившихся как башкиры, HLA-типированных методом NGS.

**Материалы и методы.** В исследование включено 69 доноров из Уфы, которые идентифицировали себя, как башкиры. Для выделения ДНК из замороженных образцов цельной крови, взятой с антикоагулянтом ЭДТА, использовали набор QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Germany) в соответствии с рекомендациями производителя. Генотипирование проводилось методом NGS по пяти генам HLA (*A, B, C, DRB1, DQB1*), использовали набор реагентов NGSgo (GenDx, Netherlands), секвенирование проводили на платформе MiSeq Illumina при помощи картриджа MiSeq Reagent Kit v2 (300 cycle). Проводилось полногеновое секвенирование генов класса I, секвенирование генов класса II ограничивалось участком со 2-го по 4-й экзон. Результаты анализировали с помощью программного обеспечения NGSengine. Определение частот аллелей и гаплотипов проводилось с использованием компьютерной программы ARLEQUIN, версия 3.5.

**Результаты.** Результаты получены для всех 69 образцов, однако один образец удалось типировать лишь частично из-за неудов-

летворительного качества ДНК. В 4-х образцах были выявлены аллели, отсутствующие в базе IMGT 3.36.0. Три аллеля были представлены в GenBank (DDBJ/ENA/GenBank) для дальнейшей регистрации. Один новый аллель был выявлен в гене *HLA-A*, он отличался от аллеля *HLA-A\*26:01:01:01* синонимичной заменой в 3м экзоне, ему присвоен входящий номер LC498984. Два других ранее не описанных HLA-аллеля были выявлены в генах *HLA-C* и *HLA-DQB1*, они отличались от присутствующих в базе HLA-аллелей заменами в интронах, им были присвоены номера: MN427921 и MN432480. Четвертый ранее не описанный аллель был выявлен в гене *HLA-DRB1*, однако выявленная нами инсерция находилась в интроне, который не мог быть полностью просеквенирован, поэтому этот ранее не описанный аллель не был представлен в GenBank.

У 68 доноров-башкир были установлены 116 пятилокусных *HLA-A\*-B\*-C\*-DRB1\*-DQB1\** гаплотипов на уровне аллельного для генов класса I и высокого для генов класса II разрешения. Оказалось, что наиболее частотным в исследованной популяции является гаплотип *A\*02:01:01-B\*13:02:01:01-C\*06:02:01:01-DRB1\*07:01-DQB1\*02:02* (5,2%). Все аллели, входящие в этот гаплотип, были также наиболее высокочастотными в своих генах: *A\*02:01:01* с частотой 31,7%; *B\*13:02:01:01-14*, 8%; *C\*06:02:01:01-17,7%*; *DRB1\*07:01-22,1%*; *DQB1\*02:02-18,4%*.

**Выводы.** Впервые HLA-типированы на уровне аллельного по генам класса I и высокого по генам класса II разрешения потенциальные доноры гемопоэтических стволовых клеток, относящиеся к башкирскому этносу.

Установлено, что башкиры отличаются высоким носительством HLA-гаплотипа *A\*02:01:01-B\*13:02:01:01-C\*06:02:01:01-DRB1\*07:01-DQB1\*02:02*.

Своеобразие башкир подтверждается открытием в небольшой популяции (всего 69 доноров) 4х ранее не описанных HLA-аллелей, три из которых представлены для дальнейшей регистрации в DDBJ/ENA/GenBank.

**Алборов А. Э., Романенко Н. А., Ханевич М. Д., Юрьев Е. Ю.**

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

## **КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К КОРРЕКЦИИ АНЕМИИ ПРИ РЕЗЕКЦИЯХ ПЕЧЕНИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**

**Введение.** За последние годы значительно возросло количество больных с опухолями печени, к которым относятся как больные с первичным раком, так и с метастатическим поражением. Основным методом лечения данной категории пациентов следует считать обширные резекции печени, что сопровождается массивной кровопотерей. Причинами анемии являются интраоперационные кровопотери, а также предшествующее химиотерапевтическое и лучевое лечение. В свою очередь анемия оказывает значимое влияние как на течение, так и на исход послеоперационного периода. Таким образом, изучение основных патогенетических механизмов развития анемии у больных с опухолями печени позволят разобраться в причинах ее развития, а также разработать схему комплексной коррекции анемии. Решение указанного вопроса будет способствовать повышению эффективности лечения онкологических больных с опухолями печени, уменьшению количества послеоперационных осложнений и послеоперационной летальности.

**Цель.** Изучить возможность снижения объема трансфузионной терапии путем включения в комплекс периоперационного лечения препаратов, стимулирующих эритропоэз. Оценить влияние трансфузии эритроцитсодержащих сред.

**Материалы и методы.** В исследовании включено 27 больных с опухолевыми пора-

жениями печени. У всех пациентов выявлена анемия с уровнем гемоглобина менее 100 г/л. Рекомбинантный эритропоэтин и препараты железа применялись в пред- и послеоперационном периоде. Контрольную группу составили 36 больных, которым коррекция анемии проводилась путем трансфузии эритроцитной взвеси. Во всех случаях было выполнено радикальное хирургическое вмешательство в объеме гемигепатэктомии.

**Результаты.** В ходе исследования выявлено, что у основной группы анемия легкой степени имела место у 19 пациентов (70,3%), средней степени тяжести — у 8 пациентов (29,6%). На фоне проведения терапии препаратами «эпоэтин альфа» и Феринжент 7 мг/кг уровень гемоглобина увеличился на 15–20 г/л. Купировалась анемия у 21 больного (77,7%). В послеоперационном периоде трансфузия эритроцитной взвеси не проводилась ни одному больному. Средний уровень гемоглобина крови составил  $113 \pm 11,2$  г/л, после операции —  $101 \pm 13$  г/л.

**Выводы.** Применение стимулирующих эритропоэз препаратов в комплексе периоперационной терапии у больных опухолями печени способствует коррекции и профилактики анемии, что позволяет существенно сократить объем трансфузии эритроцитсодержащих сред.

Асауленко З. П.<sup>1</sup>, Полушкина Л. Б.<sup>2</sup>, Лепский А. И.<sup>3</sup>,  
Болотов М. А.<sup>1</sup>, Кириченко С. А.<sup>1</sup>, Криволапов Ю. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

## ОЦЕНКА ТРОПНОСТИ МЕГАКАРИОЦИТОВ К КОСТНЫМ БАЛКАМ В МИЕЛОИДНОЙ ТКАНИ БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ТРОМБОЦИТЕМИЕЙ И ПЕРВИЧНЫМ МИЕЛОФИБРОЗОМ С МУТАЦИЕЙ JAK2

**Введение.** Согласно классификации ВОЗ, эндостальное расположение мегакариоцитов встречается в 20–49 % случаев первичного миелофиброза (ПМФ) и в 10–19 % при эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ), что позволяет считать тропность мегакариоцитов к поверхности костных балок в трепанобиоптатах костного мозга дифференциально-диагностическим признаком. Морфометрический метод исследования позволяет объективизировать тропность мегакариоцитов к костным балкам для сравнения этого признака в группе МПН.

**Цель исследования.** Оценить среднее расстояние между мегакариоцитами и костными балками и долю мегакариоцитов, лежащих у костных балок в пределах 50 мкм, в биопсиях костного мозга больных ЭТ и ПМФ с подтвержденной мутацией JAK2.

**Материалы и методы.** Исследовали 29 биопсий костного мозга больных ЭТ и 23 биопсии пациентов с префибротической стадией ПМФ. Гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином или азуром и эозином, с помощью сканера Pannoramic 250 Flash III переводились в цифровой формат. В каждом срезе отмечали контуры костных балок и координаты мегакариоцитов, после чего полученные данные экспортировали в TXT формат для анализа на языке программирования Python. *Оценивались следующие гистотопографические характеристики ме-*

*гакариоцитов: среднее расстояние между мегакариоцитами и костными балками и доля мегакариоцитов, лежащих у костных балок в пределах 50 мкм. Для описания связи гистотопографических характеристик мегакариоцитов с нозологической формой заболевания использовали логистический регрессионный анализ.*

**Результаты.** Были получены следующие гистотопографические характеристики мегакариоцитов у больных ЭТ с мутацией JAK2: среднее расстояние между мегакариоцитами и костными балками —  $243,1 \pm 77,7$  мкм, доля мегакариоцитов, лежащих у костных балок в пределах 50 мкм —  $4,5 \pm 3,2$  %. У пациентов ПМФ с мутацией JAK2: среднее расстояние между мегакариоцитами и костными балками —  $255,5 \pm 104,8$  мкм, доля мегакариоцитов, лежащих у костных балок в пределах 50 мкм —  $5,0 \pm 3,1$  %. Модель логистической регрессии на основе данных кластеризации была статистически незначима ( $\chi^2(2) = 1,441$ ,  $p = 0,4$ , Nagelkerke  $R^2 = 3,7$  %).

**Выводы.** Отсутствие статистически значимых различий при морфометрической оценке тропности мегакариоцитов к поверхности костных балок у больных ЭТ и ПМФ с мутацией JAK2 может означать, что выраженность периостального расположения мегакариоцитов при гистологическом исследовании костного мозга не имеет существенного дифференциально-диагностического значения.

Бутолина М. А., Ветошкин К. А., Минаева Н. В.,  
Назарова Е. Л., Фокина Е. С., Осипова Е. С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

## ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОКИН-ПРОДУЦИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КЛЕТОК СТРОМЫ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

**Введение.** Множественная миелома (ММ) — это опухолевое заболевание кроветворной системы, морфологическим субстратом которого являются плазматические клетки. Патогенетические механизмы развития заболевания до конца не изучены. Считается, что необходимым условием прогрессирования опухоли является взаимодействие неопластических плазматических клеток с элементами костномозгового микроокружения, доминирующим клеточным компонентом которого являются мезенхимальные стромальные клетки (МСК). Однако функциональное состояние МСК костного мозга у больных ММ остается малоизученным.

**Цель работы.** Изучить цитокин-продуцирующую способность МСК костного мозга у пациентов с ММ.

**Материалы и методы.** Изучены показатели цитокинового профиля МСК у 10 больных ММ до начала проведения программной химиотерапии. Медиана возраста пациентов составила 61 год (42–65 лет). МСК выделяли из миеловзвеси, полученной путем пункционной биопсии костного мозга. Выделение ядерных клеток из миеловзвеси осуществляли путем фракционирования на градиенте плотности ( $\rho = 1,077$  при температуре 22 °С). МСК культивировали на поверхности пластиковых флаконов в среде  $\alpha$ MEM (StemCells) с добавлением богатой тромбоцитами плазмы (4 %), гепарина (Sigma, 2 Ед/мл), L-глутамин 2 мМ (StemCells), при температуре 37 °С и 5 % CO<sub>2</sub> в атмосфере. Подсчет фибробластных колониеобразующих единиц (КОЕ-Ф) проводили на 14 сутки культивирования. Уровень интерлейкинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12),

фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО  $\alpha$ ), трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) определяли методом иммуноферментного анализа в супернатантах культур МСК.

**Результаты.** При постановке диагноза количество плазматических клеток в костном мозге варьировало от 11,4 % до 74,2 % (медиана — 27,7 %). Среднее количество КОЕ-Ф в культурах составило  $2,8 \pm 1,8$  КОЕ-Ф ( $n = 10$ ) на  $1 \times 10^6$  выделенных миелокариоцитов. Установлена прямая корреляционная зависимость между количеством плазматических клеток и числом КОЕ-Ф (коэффициент Пирсона,  $r = 0,66$ ).

Продукция цитокинов МСК костного мозга больных с ММ ( $n = 10$ ) составила: ИЛ-1 $\beta$  —  $0,704 \pm 0,480$ , ИЛ-2 —  $0,648 \pm 0,324$ , ИЛ-6 —  $136,004 \pm 9,029$ , ИЛ-12 —  $0,430 \pm 0,111$ , ФНО  $\alpha$  —  $0,151 \pm 0,029$ , TGF $\beta$  —  $8,363 \pm 3,225$  пг/мл/сут.

Определена значимая корреляция между продукцией мезенхимальными клетками ФНО $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-12, TGF $\beta$  и уровнем плазматических клеток в костном мозге пациентов с ММ ( $r = 0,80, 0,69, 0,54$  и  $0,62$  соответственно), то есть, чем выше продукция указанных цитокинов, тем выше содержание плазматических клеток в костном мозге. Между продукцией ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2 и количеством плазматических клеток установлена слабая корреляционная зависимость ( $r = 0,13$  и  $0,16$  соответственно).

**Выводы.** Определена статистически значимая связь между количественными изменениями МСК стромы костного мозга у больных с ММ, их цитокин-продуцирующей способностью и объемом поражения костного мозга.

Войтко М. С.<sup>1,2</sup>, Мезит Е. В.<sup>1,2</sup>, Шебуняева Я. Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Новосибирск

<sup>2</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Городская клиническая больница № 2», Городской гематологический центр, г. Новосибирск

## РЕЗУЛЬТАТЫ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ КЛАССИЧЕСКОЙ ЛИМФОМОЙ ХОДЖКИНА ЗА 10-ЛЕТНИЙ ПЕРИОД В Г. НОВОСИБИРСКЕ

**Введение.** За последние десятилетия успехи в комбинированной терапии лимфомы Ходжкина (ЛХ) и появление таргетных препаратов позволяют достичь более 95 % 5-летней общей выживаемости (ОВ) даже при распространенных стадиях заболевания. Тем не менее, для 15–25 % пациентов с ЛХ характерна рефрактерность к первичной терапии или возникновение ранних рецидивов после ее проведения. В связи с появлением инновационных таргетных методов лечения ЛХ, информация об эффективности терапии требует обновления и имеет особую ценность в клинической практике.

**Цель.** Проанализировать долгосрочные результаты терапии у больных классической ЛХ (КЛХ), наблюдавшихся на базе Городского гематологического центра (ГГЦ) г. Новосибирска.

**Материал и методы.** В исследование включены 362 пациента с КЛХ, наблюдавшихся в ГГЦ г. Новосибирска с января 2008 г. по декабрь 2018 г. Возраст больных во время терапии варьировал от 11 до 81 года (средний возраст — 36 лет). Пациентов женского пола было 213 (58,8 %), мужского — 149 (41,2 %). Больные были включены в исследование в разные сроки от дебюта ЛХ: 28 (7,9 %) человек — на 1-м году болезни, 140 (38,6 %) — с давностью ЛХ 2–4 года, 164 (45,3 %) — 5–9 лет и 30 (8,2 %) больных с давностью заболевания 10 лет и более. По классификации Ann-Arbor больные распределялись следующим образом: I стадия диагностирована у 6 (1,9 %) человек, II — 144 (39,7 %) пациента, стадия III — у 115 (31,7 %) больных, стадия IV — у 97 (26,7 %). При анализе гистологических вариантов КЛХ было установлено: у 189 (52,2 %) пациентов выявлен нодулярный склероз, у 153 (42,2 %) — смешанно-клеточный вариант, вариант богатый лимфоцитами был диагностирован у 12 (3,3 %) обследуемых, лимфоидное истощение — у 8 (2,3 %). Больные КЛХ были рас-

пределены на прогностические группы, в соответствии с которыми выделяли пациентов с благоприятным (n = 88 (24,3 %)), промежуточным (n = 62 (17,1 %)) и неблагоприятным прогнозами (n = 212 (58,6 %)). В качестве терапии I линии 90 (24,8 %) пациентов получали режим ABVD, трое (0,8 %) — режим AVD, терапия по схемам ABVD-BEACOPP была проведена 33 (9,1 %) обследуемым, BEACOPP base получили 119 (32,8 %) больных, 57 (15,7 %) пациентам назначали режим BEACOPP-14, 5 (1,38 %) — режим BEACOPP-21, 3 (0,8 %) — BEACOPP esc, по протоколу COPP были пролечены 12 (3,3 %) человек, 40 пациентов (11,32 %) получали другие протоколы (CHOP, R-CHOP, EACOPP, CVPP, ACV, COPDIC, DAL-ND-2002). Лучевая терапия проводилась 224 (61,8 %) больным с КЛХ. Во второй линии терапии нуждались 84 (23,2 %) обследуемых, их них химиотерапия по протоколу DНАР проведена 48 (13,2 %) пациентам, ESHAP — 30 (8,3 %), терапия по другим схемам (DexaBEAM, PECC, CEVD, ProMACE-CytaBOM) назначена 6 (1,6 %) больным. Высокодозная химиотерапия с последующей трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) проведена у 18 человек. Терапия приводила к достижению полной и частичной ремиссии у 319 (88,1 %) пациентов. Статистическая обработка проводилась с использованием программы STATISTICA 10 (StatSoft Inc, 2011, США).

**Результаты.** Общая 10-летняя выживаемость у пациентов с I и II стадией составила 95,1 %, 5-летняя — 98 %, а у пациентов с распространенными стадиями эти показатели были равны 89,2 % и 90,5 % соответственно. Десятилетняя безрецидивная выживаемость (БРВ) у больных с ранними стадиями была равна 85 %, в то время как у пациентов с III и IV стадией — только 66,5 % (p = 0,001). Показатели выживаемости больных КЛХ с благоприятным прогнозом заболевания распределялись равномерно и в течение 5 и 10 лет



после лечения оказались равны 100 %, тогда как у пациентов с неблагоприятным прогнозом эти показатели составили 91,7 % и 88,9 % соответственно. Анализ БРВ в группе больных с благоприятным прогнозом показал, что 10-летняя БРВ равна 91 %, 5-летняя — 95 %. А соответствующие показатели среди обследуемых с неблагоприятным прогнозом составили 70 % и 80,8 % ( $p = 0,001$ ). Из 362 пациентов летальный исход наступил в 20 (5,5 %) случаях. Причиной смерти у 15 (4,1 %) больных была прогрессия ЛХ, в 1 (0,2 %) случае — вторичная опухоль (рак легких), у 4 (1,2 %) — в результате инфекционно-токсических осложнений.

**Выводы.** В настоящее время ЛХ считается первым и одним из немногих высококурабельных онкогематологических заболеваний. Полученные результаты свидетельствуют о высоком проценте выживаемости среди больных ЛХ и сопоставимы с литературными данными. Так, показатели 5-летней общей и безрецидивной выживаемости при использовании комбинированных методов превышают 95 % и 80 % соответственно. Тем не менее, необходимо продолжить дальнейший научный поиск оптимальных риск-адаптированных программ терапии ЛХ с целью определения основных перспектив дальнейшего улучшения результатов лечения.

**Габдулхакова А. Х., Овсепян В. А., Трезубова Е. В., Назарова Е. Л.**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров*

### **ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ТРОМБОЦИТЕМИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ МУТАЦИЙ ГЕНОВ *JAK2*, *CALR* И *MPL***

**Введение.** Эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) — миелопролиферативное заболевание, характеризующееся повышенной продукцией мегакариоцитов в костном мозге и тромбоцитозом в периферической крови. Одним из ключевых механизмов патогенеза ЭТ считается активация JAK-STAT сигнального пути, обусловленная наличием мутации *JAK2* V617F, либо более редкими мутациями генов *MPL* и *CALR*

В настоящее время лечение ЭТ направлено на снижение риска развития тромботических событий и лейкоемической трансформации, поэтому важно на этапе диагностики заболевания выявить индивидуальные особенности течения ЭТ у носителей мутаций патогенетически значимых генов.

**Цель.** Оценить распространенность драйверных соматических мутаций (ДМ) генов *JAK2*, *CALR*, *MPL* у пациентов с ЭТ в зависимости от фенотипа заболевания.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ историй болезни 192 пациентов с ЭТ, наблюдавшихся в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России с 1995 по 2019 гг. Их возраст в дебюте заболевания составил от 18 до 90 лет (медиана 57 лет). Среди обследованных было 64 (33,3 %) мужчин и 128 (66,7 %) женщин, сопоставимых по возраст-

ным характеристикам. Мутации генов *JAK2*, *CALR* и *MPL* определяли с помощью праймеров ЗАО «Евроген» (г. Москва) и «Синтол» (г. Москва). В качестве матрицы использовали геномную ДНК. Проводили полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с детекцией продуктов в полиакриламидном геле. Статистическая значимость различий количественных показателей оценивалась с помощью критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали отличия при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Драйверные мутации обнаружены у 166 (86 %) пациентов. Мутация V617F гена *JAK2* выявлена у 130 (67,7 %) человек, мутации гена *CALR* — у 35 (18,2 %) больных, в 1 случае (0,5 %) — мутация W515L гена *MPL* (*MPL+*). Остальные 26 (13,5 %) человек отнесены к обследованным с так называемым тройным негативным статусом (TN+). Мутационный статус гена *CALR* складывался из *like* мутаций p. L367fs\*46 (делеция в 52 п.о. — тип 1), которая обнаружена у 18 (51,4 %) пациентов, и p. K385fs\*47 (инсерция в 5 п.о. — тип 2), выявлена у 17 (48,6 %) больных. Установлено, что в дебюте ЭТ пациенты с мутацией гена *JAK2* были значительно старше больных с мутациями гена *CALR* типа 2/*like* (медианы: 58 (24–81) против 39 (31–78) лет соответственно,  $p = 0,008$ ) и пациентов с TN+ (медианы: 58

(24–81) против 48 (18–90) лет соответственно,  $p = 0,002$ ). Кроме того, у больных с мутацией гена *JAK2* уровень гемоглобина превышал аналогичный показатель у пациентов с мутациями гена *CALR* типа 1/like (медианы: 147 (102–219) против 131 (117–161) г/л соответственно,  $p = 0,007$ ) и с TN+ (медианы: 147 (102–219) против 136 (93–176) г/л соответственно,  $p = 0,004$ ). Содержание тромбоцитов у носителей мутации гена *JAK2* было значительно ниже, чем у пациентов с мутациями *CALR* типа 2/like (медианы:  $729 \times 10^9$  ( $448 \times 10^9$ – $2074 \times 10^9$ ) против  $1197 \times 10^9$  ( $676 \times 10^9$ – $3766 \times 10^9$ )/л соответственно,  $p = 0,000\ 006$ ).

Возрастные различия в дебюте заболевания и отличие в содержании тромбоцитов обнаружены при разных типах мутаций гена *CALR*. При выявлении мутации гена *CALR* типа 1/like, обследованные находились в старшем возрасте в дебюте заболевания по сравнению с носителями мутаций типа 2/like (медианы: 63,5 (31–88) г. против 39 (31–78) лет соответственно,  $p = 0,008$ ) и характеризовались низким содержанием тромбоцитов

в периферической крови (медианы:  $819 \times 10^9$  ( $623 \times 10^9$ – $1727 \times 10^9$ ) против  $1197 \times 10^9$  ( $676 \times 10^9$ – $3766 \times 10^9$ )/л соответственно,  $p = 0,01$ ). Больных с тройным негативным статусом отличал от пациентов с мутациями гена *CALR* типа 1/like ранний дебют заболевания (медианы: 48 (18–90) лет против 63,5 (31–88) г. соответственно,  $p = 0,005$ ), а от носителей мутаций типа 2/like низкий уровень тромбоцитов (медианы:  $838 \times 10^9$  ( $457 \times 10^9$ – $1657 \times 10^9$ ) против  $1197 \times 10^9$  ( $676 \times 10^9$ – $3766 \times 10^9$ )/л соответственно,  $p = 0,002$ ).

**Выводы.** Мутация V617F гена *JAK2* ассоциируется с дебютом эссенциальной тромбоцитемии в позднем возрасте и с высоким уровнем гемоглобина, чем у носителей других драйверных мутаций. Пациенты с мутациями гена *CALR* типа 2/like в сравнении с больными всех исследуемых групп имели наибольшее количество тромбоцитов. Также носители данной мутации (*CALR* типа 2/like) статистически значимо отличаются по возрасту дебюта заболевания и содержанию тромбоцитов от пациентов с мутацией типа 1/like.

*Гарифуллин А. Д., Волошин С. В., Мартынкевич И. С., Кувшинов А. Ю., Бакай М. П., Клеина Е. В., Линников С. Ю., Бессмельцев С. С.*

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

### ОЦЕНКА ОБЩЕЙ И БЕСПРОГРЕССИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ БОЛЬНЫХ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННОЙ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ В ГРУППАХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРАТИФИКАЦИИ MSMART 3.0

**Введение.** Стратификация риска при множественной миеломе прошла неоднократные обновления в связи с появлением новой информации о прогностическом воздействии генетических аномалий и других факторов. Наиболее обширной и современной системой в настоящее время является стратификация риска mSMART, включающая несколько параметров, таких как генетические аномалии, альбумин, бета-2-микроглобулин, ЛДГ, S-phase плазматических клеток и уровни GEP. Разделение пациентов в группы риска на основе генетических маркеров используется многими центрами для выбора и оптимизации тактики лечения. Тем не менее, роль комплексных и сочетанных генетических на-

рушений, а также аутологичной трансплантации костного мозга (гемопозитических стволовых клеток) остается до конца не ясной.

**Цель.** Определить влияние генетических аномалий и аутоТГСК на показатели выживаемости пациентов с впервые выявленной множественной миеломой соответственно стратификации риска.

**Материалы и методы.** Обследовано 159 пациентов с впервые выявленной множественной миеломой (медиана возраста 63 года, диапазон 28–83; соотношение мужчины/женщины — 1:1,37). Цитогенетическое исследование костного мозга проводилось по стандартному GTG-методу. FISH анализ проводили для выявления перестройки IgH, del13q

(13q14/13q34), amp/del 1p32/1q21, delP53/cep 17 (ДНК-зонды MetaSystems). У пациентов с перестройкой IgH дополнительно исследовались t(4;14), t(6;14), t(11;14), t(14;16) и t(14;20). Все пациенты получали бортезомиб-содержащие программы первичной противомиеломной терапии (VD, CVD, VMP, PAD).

**Результаты.** Частота встречаемости генетических aberrаций составила 49 % (78/159). Перестройка IgH была обнаружена в 26,4 % случаев (42/159): t(11;14) — 16,3 % (26/159), t(4;14) — 5,0 % (8/159); TP53/del17p — 5,6 % (9/159); 1p32/1q21 amp/del — 12 % (19/159); гиподиплоидия — 3,1 % (5/159); гипердиплоидия — 1,25 % (2/159); del5q — 0,6 % (1/159); другие аномалии не были обнаружены. Сочетание двух генетических аномалий было обнаружено у 11,9 % (19/159) пациентов, комплексный кариотип (более 3 ГА) у 4,4 % (7/159) пациентов). Медиана общей выживаемости (ОВ) в группе «2 генетические аномалии» и «комплексный кариотип» была ниже, чем в группе стандартного риска согласно стратификации риска mSmart 3.0 (нормальный кариотип, t(11;14), гиподиплоидия, гипердиплоидия и другие аномалии): 49 месяцев, 37 месяцев и не достигнута, соответственно. Медиана беспродвинутой выживаемости (БПВ) в этих группах составила 12, 11 и 30 месяцев соответственно (p = 0,004). На основании результатов ОВ и БПВ нами проведена модификация (mod) группы высокого риска mSMART 3.0 (TP53/del17p, t(4;14), t(4;16), t(14;20), +1q, R-ISS III) с добавлением пациентов, имеющих «2 генетические аномалии» и «комплексный кариотип».

Окончательный анализ выживаемости проводился по результатам комплексного

обследования 87 пациентов: 53 пациента в группе стандартного риска и 34 пациента в группе высокого риска. Медиана ОВ в группе стандартного риска mSMART 3.0 не была достигнута, в группе высокого риска mSMART 3.0mod — 50 месяцев: 5-летняя ОВ составила 65 % и 38 %, соответственно (p = 0,0073). Медиана БПВ составила 43 и 29 месяцев, соответственно (p = 0,02).

Наилучшие результаты БПВ и ОВ были достигнуты в обеих группах пациентов, которым выполнена аутоТГСК. Медиана ОВ в группе стандартного риска mSMART 3.0 с аутоТГСК (n = 37) не была достигнута, в группе высокого риска mSMART 3.0 mod с аутоТГСК — 48 месяцев (n = 20); в группе стандартного риска mSMART 3.0 без аутоТГСК — 40 месяцев (n = 16); в группе высокого риска mSMART 3.0 mod без аутоТГСК — 22 месяца (n = 14); 5-летняя ОВ составила 81 %, 60 %, 33 % и 28 % соответственно (p = 0,0015). Медиана БПВ не была достигнута, 46, 22 и 19 месяцев соответственно (p = 0,017).

**Выводы.** Сочетание двух генетических аномалий или комплексный кариотип являются неблагоприятным прогностическим маркером по сравнению с аномалиями стандартного риска или их отсутствием. Это может быть полезно для обновления системы стратификации риска в будущем. Медиана общей и беспродвинутой выживаемости достоверно выше у пациентов в группе стандартного риска, чем в группе высокого риска по данным mSMART 3.0 mod. Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток может улучшить результаты лечения, особенно у пациентов в группе высокого молекулярно-генетического риска.

**Гурьянова М. А., Шухов О. А., Чельшева Е. Ю., Быкова А. В.,  
Петрова А. Н., Немченко И. С., Поспелова О. М., Туркина А. Г.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава Российской Федерации, Москва

### **ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ НА СНИЖЕННЫХ ДОЗАХ ИНГИБИТОРОВ ТИРОЗИНКИНАЗ ВТОРОГО ПОКОЛЕНИЯ**

**Введение:** Современные подходы к терапии хронического миелолейкоза (ХМЛ) ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) первого и второго (ИТК2) поколений позволяют

вывести в состояние стабильного глубокого молекулярного ответа (МО) порядка 50–60 % больных. Данная категория пациентов может безопасно прекратить терапию ИТК и в поло-

вине случаев продолжить наблюдение в ремиссии без лечения. Однако большая часть пациентов продолжает постоянную непрерывную терапию ИТК, зачастую сопровождающуюся проявлениями токсического дозозависимого действия препаратов. Наиболее актуально снижение доз ИТК2 по причине их более выраженной клинически значимой токсичности и большой стоимости терапии. Редукция доз у пациентов со стабильным большим (БМО) и глубоким МО может быть альтернативной стратегией терапии и предшествовать полному прекращению терапии. Установлено, что выживаемость без молекулярного рецидива у пациентов, получавших редуцированные дозы ИТК перед полной отменой, была значимо выше, чем у пациентов, отменивших ИТК в стандартных дозах (72–79 % vs 40–60 %).

**Цель.** Оценить стабильность БМО и глубокого МО у больных ХМЛ, получающих терапию ИТК2 после редукции доз.

**Материалы и методы:** В исследование включено 30 пациентов с ХМЛ, которым производилась редукция доз ИТК2. Средний возраст на момент снижения дозы 46 лет (22–70), мужчины составляют 43 % ( $n = 13$ ). Медиана (Ме) длительности терапии ИТК до снижения дозы 39 мес. (25–202). Ме длительности БМО до снижения дозы 23 мес. (1–52). Снижение дозы нилотиниба проводилось у 22 (73 %), дазатиниба у 8 (27 %) больных. ИТК2 в первой и второй линии лечения получали 3 (10 %) и 27 (90 %) больных соответственно, включая 15/27 (56 %) больных с предшествующей неудачей терапии иматинибом. На момент снижения дозы у 6 (20 %) пациентов определялся БМО, у 24 (80 %) — глубокий МО.

Изначальные дозы нилотиниба составили 800 мг, 600 мг и 400 мг у 14 (64 %), 6 (27 %) и 2 (9 %) больных соответственно. Снижение доз нилотиниба проводилось до уровня 600 мг, 400 мг, 300 мг и 200 мг у 1 (4,5 %), 16 (73 %), 1 (4,5 %) и 4 (18 %) больных соответственно. Изначальные дозы дазатиниба составили 140 мг у одного (12,5 %) и 100 мг у 7 (87,5 %) больных, а снижение проводилось до 70 мг и 50 мг у 2 (25 %) и 6 (75 %) больных соответственно.

Оценивалась выживаемость без потери БМО и выживаемость без потери глубокого

МО после снижения дозы ИТК2 до минимальной. Потерей БМО считалось однократное повышение относительной экспрессии BCR-ABL более 0,1 %. В анализ выживаемости без потери глубокого МО включены только пациенты с уровнем BCR-ABL  $\leq 0,01$  % на момент деэскалации дозы. Потерей глубокого МО считалось повышение BCR-ABL  $\geq 0,01$  % по данным двух последовательных анализов либо однократная потеря БМО. Цензурирование проводилось по дате последнего молекулярного анализа, дате прекращения терапии или повышения дозы.

**Результаты.** Ме наблюдения после снижения доз ИТК2 составила 13 месяцев (от 3 до 51). Выживаемость без потери БМО и глубокого МО к 12 месяцу составила 88 % (ДИ 75 % – 100 %) и 96 % (ДИ 87 % – 100 %), соответственно.

Потеря БМО зафиксирована у 3 пациентов, у 2 из которых на момент снижения дозы был только БМО без глубокого МО на протяжении 6 и 8 месяцев, у третьего пациента длительность БМО перед снижением дозы составила только 3 месяца, на момент снижения дозы глубокий МО был констатирован впервые. Ни один пациент с длительностью БМО более 12 месяцев на момент снижения дозы не потерял молекулярный ответ.

У 3 пациентов с изначальным БМО на фоне снижения доз ИТК наблюдалось улучшение ответа и достижение глубокого МО.

Все больные с молекулярным рецидивом вернулись к терапии ИТК2 в изначальных дозах и восстановили БМО. Попытка ведения ремиссии без терапии впоследствии была предпринята у 8 (27 %) пациентов, у 4 (50 %) из них в настоящий момент сохраняется глубокий МО без приема ИТК.

**Выводы.** Снижение доз ИТК2 у больных со стабильным БМО и глубоким МО является безопасной опцией для большинства пациентов с ХМЛ, направленной на профилактику и коррекцию нежелательных явлений терапии. Данная тактика может быть обоснована и в контексте фармакоэкономической целесообразности с учетом стоимости ИТК2. Деэскалация ИТК2 может быть трамплином к полной отмене препарата у пациентов со стабильным глубоким МО.

Диникина Ю. В.<sup>2,3</sup>, Шадривова О. В.<sup>1</sup>, Белогурова М. Б.<sup>2,3</sup>,  
Игнатьева С. М.<sup>1</sup>, Богомолова Т. С.<sup>1</sup>, Бойченко Э. Г.<sup>4</sup>, Климко Н. Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

<sup>4</sup> Детская городская больница № 1, Санкт-Петербург

## ОСОБЕННОСТИ ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА У ДЕТЕЙ С ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

**Введение.** Инвазивный аспергиллез (ИА) является актуальной проблемой у детей с онкогематологическими заболеваниями. Количество исследований данной проблемы недостаточно.

**Цель.** Оценка факторов риска (ФР) и особенностей течения ИА у детей в зависимости от фонового заболевания.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ случаев ИА у детей с онкогематологическими заболеваниями за период с 1997 по сентябрь 2019 г. Диагноз ИА соответствовал критериям EORTC/MSG, 2008 г.

**Результаты.** Общее число пациентов детского возраста с онкологическими заболеваниями составило 56, средний возраст — 9,5 лет, мальчики — 78,2 %. Фоновые заболевания: гемобластозы у 84 % пациентов, солидные опухоли — 16 %. Среди онкогематологических заболеваний наиболее частыми в равном соотношении были острый миелобластный лейкоз и острый лимфобластный лейкоз (35,7 %). Среди солидных новообразований — опухоли центральной нервной системы (42,8 %). В дебюте фонового заболевания ИА диагностировали у 7 % больных, после проведения цитостатической полихимиотерапии (ПХТ) — 93 %, высокодозной ПХТ с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток — 17,8 %. Факторами риска ИА были длительная нейтропения  $\geq 10$  дней (89,2 %), терапия стероидами (70 %), длительная лимфоцитопения (60,7 %) и цитомегаловирусная инфекция (17,8 %). Клинические проявления ИА были неспецифичны. Легкие являлись преимущественной локализацией поражения (87,5 %). КТ признаки также были неспецифичны, симптом «матового

стекла» выявили у 39,2 % больных, симптом «серпа» — 3,5 %. Фибробронхоскопию выполнили у 62,5 % пациентов. Положительный результат теста на галактоманнан в БАЛ был у 86 % пациентов, в крови или цереброспинальной жидкости — 33 %. Микологическое исследование биоматериала было выполнено у 23 % пациентов, среди них септированный мицелий при микроскопии выявили у 17,8 %. Частота выделения *Aspergillus* spp. в культуре составила 26 %, из них: *A. fumigatus* — 54 %, *A. niger* — 26 % и *A. ustus* — 13 %. Противогрибковую терапию проводили у 100 % больных ИА, при этом с использованием монотерапии вориконазолом — 55,3 %. Общая 12-ти недельная выживаемость составила 85,7 %. Контроль над ИА в дебюте фонового заболевания достигали во всех случаях до начала противоопухолевой терапии. В 61 % случаев проведение противогрибковой терапии продолжали параллельно с цитостатической терапией с учетом межлекарственных взаимодействий.

**Выводы.** Случаи ИА в когорте детей с гематологическими заболеваниями регистрировались чаще по сравнению с когортой пациентов с солидными новообразованиями (84 % vs 16 %). Факторами риска ИА у представленной когорты больных являлись длительный агранулоцитоз (89,2 %), терапия кортикостероидами (70 %), лимфоцитопения (60,7 %). В большинстве случаев (55,3 %) в качестве антифунгальной терапии использовали монотерапию вориконазолом. Общая 12-ти недельная выживаемость составила 85,7 %. После достижения контроля ИА продолжали ПХТ с учетом возможных межлекарственных взаимодействий.

Дубровина А. А., Назарова Е. Л., Овсепян В. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров

## РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *VEGF* В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

**Введение.** Инфекционные осложнения (ИО) у пациентов с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) в 75–80 % случаев становятся основной причиной летального исхода. В основе повышенной чувствительности больных к инфекциям лежит, главным образом, нарушение механизмов реализации иммунного ответа, обусловленное супрессивным действием опухолевого клона и химиотерапии. Особенностью ХЛЛ, как и большинства онкозаболеваний, является повышенная ангиогенная активность опухоли. Существует прямая взаимосвязь между процессами образования новых кровеносных сосудов, воспалением и иммунитетом. Фактор роста эндотелия сосудов А (vascular endothelial growth factor А, VEGF-A) — многофункциональный белок, усиливающий проницаемость клеточной стенки для макромолекул и миграцию клеток моноцитарно-макрофагального ряда через эндотелий. Повышение сывороточного уровня данного фактора, а также избыточный ангиогенез оказывают иммуносупрессивное действие, нарушая миграцию клеток и ингибируя иммунный ответ, тем самым снижая резистентность организма к воздействию инфекционных агентов. Чрезмерную активность гена *VEGF* связывают с функциональной заменой гуанина на цитозин в 5'-нетранслируемой области в 643 положении (–643G/C).

**Цель работы.** Оценить роль функционального полиморфизма –643G/C гена *VEGF* в развитии инфекционных осложнений у пациентов с ХЛЛ.

**Материалы и методы.** В исследование включены 183 пациента с диагнозом ХЛЛ, в том числе 76 (41,5 %) женщин и 107 (58,5 %) мужчин в возрасте от 33 лет до 81 года (медиана — 62 года). Инфекционные заболевания выявлены у 56 (31,2 %) больных. Группу сравнения составили 127 пациентов с ХЛЛ без ИО. Этиология инфекционного процесса подтверждалась результатами бактериологического исследования образцов мокроты,

мочи, мазков со слизистых оболочек зева и носа, серологического и молекулярно-биологического анализов проб венозной крови. Пациенты с ИО разделены на три группы: в 1 группу вошло 22 (39,3 %) больных с наличием бактериальных инфекций, во 2–21 (37,5 %) пациент с заболеваниями бактериально-грибковой и грибковой этиологии, в 3–13 (23,2 %) больных с вирусными инфекциями. У больных 1 и 2 групп в 40,8 % и 59,4 % случаев соответственно диагностированы инфекции нижних дыхательных путей, инфекции мочевыводящих путей (14,8 % и 14,8 %), стоматиты (8,1 % и 8,1 %). Реже отмечались заболевания верхних дыхательных путей, септические состояния и инфекции кожных покровов. В 3 группе все возбудители вирусных ИО относились к семейству *Herpesviridae*. Генотипирование образцов ДНК, полученных из клеток венозной крови больных методом фенол-хлороформной экстракции, проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ЗАО «Евроген», Россия) на программируемом термоциклере («Bio-Rad», США). Достоверность результатов оценивали, используя точный критерий Фишера (F).

**Результаты.** Установлено, что носительство «мутантного» генотипа –643CC значимо чаще выявлялось у больных 1 группы по сравнению с пациентами без ИО, что увеличивало риск развития осложнений в 9 раз (18,2 % против 2,4 % соответственно;  $F = 0,013$ ). Вероятно, это связано с повышением активности гена *VEGF* и нарушением хемотаксиса клеток, участвующих в иммунном ответе, который реализуется при проникновении бактерий. Распределение гетерозиготного (–643CG) и «дикого» (–643GG) генотипов в 1 группе и группе сравнения было следующим: 40,9 % и 40,9 % против 41,7 % и 55,9 % соответственно ( $F = 0,013$ ). Аналогичная картина наблюдалась у пациентов 2 группы, у которых на долю гомозигот –643CC приходилось 23,8 %, тогда как в группе сравнения показатель составил 2,4 % ( $F = 0,003$ ), что может быть обусловлено

сходными механизмами иммунного ответа на присутствие бактериальной и грибковой инфекций. Количество носителей генотипов -643CG и -643CC в 2 группе и группе сравнения составляло 33,3 % и 42,9 % против 41,7 % и 55,9 % ( $F = 0,003$ ). При анализе распределения генотипов *VEGF* в группе больных с вирусными заболеваниями и группе сравнения

статистически значимых различий не выявлено ( $F = 0,44$ ).

**Выводы.** Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что генотип *VEGF*-643CC у больных ХЛЛ повышает риск развития инфекционных осложнений бактериальной и грибковой этиологии.

**Жернякова А. А.<sup>1</sup>, Кострома И. И.<sup>1</sup>, Карягина Е. В.<sup>2</sup>,  
Грицаев С. В.<sup>1</sup>, Четкин А. В.<sup>1</sup>, Бессмельцев С. С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург.

<sup>2</sup> Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения, городская больница № 15.

### **ДАРАТУМУМАБ В ТЕРАПИИ РАННЕГО РЕЦИДИВА МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ ПОСЛЕ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)**

**Введение.** Ранний рецидив множественной миеломы (ММ) после проведения аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (АутоТГСК), т.е. в течение ближайших 18 месяцев, рассматривается как неблагоприятное прогностическое событие, значительно ухудшающее течение заболевания. Вероятность ответа и длительной выживаемости становится еще более сомнительным в случае обнаружения экстрамедуллярных очагов поражения. Не исключено, что решение проблемы возможно при включении в состав лечебного пособия новых лекарственных препаратов, в частности, даратумумаба.

**Цель.** Демонстрация клинического случая успешного назначения даратумумаба больной с ранним посттрансплантационным рецидивом ММ, сопровождаемым множественными экстрамедуллярными очагами поражения.

**Материалы и методы.** Даратумумаб назначался в дозе 16 мг/кг. Частота введения согласно инструкции. Для профилактики инфузионных осложнений назначались кортикостероиды, антигистаминные препараты и антипиретики.

**Результаты.** Диагноз ММ Бенс-Джонса впервые верифицирован в 2016 году на основании данных комплексного обследования. Были выполнены компьютерная томография (множественные участки остеолизиса в костях скелета с наличием мягкотканного компонента), морфологическое исследование

мягкотканного образования бедренной кости с проведением иммуногистохимического исследования, иммунофиксация протеинов сыворотки крови и мочи (белок Бенс-Джонса, карра), пунктат костного мозга (плазматические клетки — 36,8 %), иммунофенотипирование. При цитогенетическом исследовании кариотип нормальный, FISH-исследование не проводилось. Повышения уровней креатинина и кальция крови на момент диагностики не отмечено. Диагностирована множественная миелома Бенс-Джонса (карра) диффузно-очаговая форма, III A ст. по Salmon-Durie, ISS III. Плазмоцитома правой подвздошной кости. Остеодеструктивный синдром.

Лечение по схеме CVD № 6. Констатирован частичный ответ. Переведена на схему RVD № 5. При контрольном обследовании: белок Бенс-Джонса и карра-цепи не определяются, отсутствие вовлечения костного мозга, новых очагов остеолизиса нет, снижение метаболической активности и размеров очагов по результатам ПЭТ-КТ.

Заготовлен аутооттрансплантат. После внутривенного введения высокодозного мелфалана 200 мг/м<sup>2</sup> инфузирования размороженная клеточная взвесь. На +30 и +100 дни продукции патологического белка нет. Исследование костной системы не проводилось. Назначена поддерживающая терапия леналидомидом.

Через 5 месяцев после АутоТГСК отмечено появление уплотнений на волосистой части

головы, в течение 2-х недель их количество и размеры нарастали, появилась одышка, увеличение в размерах с уплотнением и болезненностью левой молочной железы. По данным ПЭТ-КТ: метаболически активное образование в верхушке левого легкого с распространением по плевре, выпот в плевральной полости, метаболически активное поражение костей — отрицательная динамика. Выполнен плевроцентез с морфологическим и иммунологическим исследованиями — плазматические клетки тотально. Белок Бенс-Джонса и карра-цепи не определяются, инфильтрации костного мозга плазматическими клетками не выявлено. Инициирована монотерапия даратумумабом. После первых двух введений зафиксировано значимое уменьшение размеров плазмцитом волосистой части головы более чем на 50 %, отсутствие одышки, уменьшение отека и болезненности левой

молочной железы. После 3-го введения присоединена терапия по схеме VAD. После 5-го введения даратумумаба по данным ПЭТ-КТ отмечается уменьшение метаболической активности и размеров всех патологических очагов, данных в пользу вовлечения плевры и левого легкого, костного мозга не получено. Отмечено существенное улучшение общего состояния. Терапия продолжена. Запланирована повторная АутоТГСК с усилением режима кондиционирования.

**Выводы.** Даратумумаб — возможная лечебная опция для редукции опухолевой массы («префаза») у больных с прогрессированием ММ и значительным объемом поражения, включая внекостномозговое. При неблагоприятном варианте ММ целесообразна комбинация даратумумаба с другими противомиеломными препаратами, в том числе, и в качестве режима подготовки к АутоТГСК.

**Захваткина М. А., Козлова О. П., Суспицын Е. Н., Клишко Н. Н.**

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург*

## **ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО КАНДИДОЗА КОЖИ И СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК У ДЕТЕЙ**

**Введение.** Хронический кандидоз кожи и слизистых оболочек (ХККС) — это связанная с дефектами Т-клеток первичная иммунная недостаточность. Причиной ХККС являются различные генетические мутации. Количество публикаций, посвященных ХККС у детей, ограничено.

**Цель.** Оценка гематологических нарушений и особенностей клинических проявлений ХККС у детей с мутациями в генах AIRE, STAT1, CLEC7, IFI1.

**Материалы и методы.** В проспективное исследование включили 13 пациентов с ХККС. Молекулярно-генетические исследования проводили с помощью мультигенного целевого секвенирования (MiSeq, Illumina, USA).

**Результаты.** Медиана возраста пациентов — 7,5 лет (от 6 до 13), мальчики — 77 %. Молекулярно-генетическое исследование показало гетерозиготную мутацию в гене AIRE у 7, STAT1 у 4, CLEC7-1, IFI1 у 1 пациентов. Клинические проявления заболевания начались в возрасте 2 месяцев — 4 лет (меди-

ана — 2 года). Орофарингеальный кандидоз был у 100 % больных, поражение кожи — 54 %, эзофагит — 46 %, онихомикоз — 31 %. Рецидивирующее течение ХККС (более 4 раз в год) отмечали у всех пациентов. Причем у ряда пациентов с нарушением гена AIRE, CLEC7, IFI1 такие проявления как орофарингеальный кандидоз, онихомикоз в ряде случаев разрешались самостоятельно, без применения антимикотической терапии. Пациенты с нарушением гена STAT1 при каждом обострении ХККС получали антимикотическую терапию 14 дней и более. У всех пациентов выделили *Candida albicans*, у одного возбудитель был устойчив к флуконазолу и вориконазолу *in vitro*.

Гематологические проявления ХККС: у 50 % пациентов с нарушениями гена STAT1 выявили лимфоцитопению (медиана —  $CD3 + = 1,01 * 10^9/л$  ( $n = 1,3-2,1 * 10^9/л$ ),  $CD4 + = 0,4 * 10^9/л$  ( $n = 0,7-1,1 * 10^9/л$ ),  $CD8 + = 0,6 * 10^9/л$  ( $n = 0,6-0,95 * 10^9/л$ ), у 14 % пациентов с мутацией AIRE выявили гемолитическую анемию. Тяжесть течения



ХККС зависела от выраженности лимфоцитопении. У пациентов с нарушением генов CLEC7, IFIH1 гематологические особенности не выявили.

У всех пациентов с мутацией AIRE выявили эндокринные нарушения (первичная недостаточность надпочечников — 71 %, гипопаратиреоз — 71 %, аутоиммунный тиреоидит с гипотиреозом — 29 %) и аутоиммунные расстройства (аутоиммунный гастрит — 71 %, алоpecia — 29 %). У пациентов с нарушениями гена STAT1 аутоиммунный гастрит встречался в 29 % случаев. При обострении ХККС пациенты получали флуконазол 3 мг/кг/сут

в течение 7–14 дней, затем 3 мг/кг/сут 1 раз в неделю в течение 2 месяцев. На фоне терапии мы отмечали исчезновением симптомов кандидоза. Пациент с устойчивым к азолам *C. albicans* при обострении получал итраконазол раствор в дозе 5 мг/кг от 2 до 4 недель, с клиническим эффектом.

**Выводы.** У больных хроническим кандидозом кожи и слизистых оболочек гематологические нарушения чаще встречаются при мутации в гене STAT1. Тяжесть течения ХККС у пациентов с нарушением гена STAT1 зависит от выраженности лимфоцитопении.

**Корсакова Н. Е., Силина Н. Н., Котельников П. А., Кобилянская В. А.,  
Головина О. Г., Ефремова Е. В., Фоминых М. С., Полушкина Л. Б.,  
Мартынкевич И. С., Шуваев В. А., Волошин С. В., Папаян Л. П.**

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

### **ВЛИЯНИЕ АЛЛЕЛЬНОЙ НАГРУЗКИ JAK2V617F НА АКТИВНОСТЬ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИСТИННОЙ ПОЛИЦИТЕМИЕЙ И ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ТРОМБОЦИТЕМИЕЙ**

**Введение:** Тромботические осложнения являются одной из основных причин смертности и летальности пациентов с Rn-негативными миелопролиферативными новообразованиями (МПН), такими как истинная полицитемия (ИП) и эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ). У 95 % пациентов с ИП и 25–50 % с ЭТ обнаруживается точечная мутация JAK2V617F, ассоциированная с повышенным тромботическим риском. Особенности системы гемостаза, предрасполагающие к развитию протромботических состояний у больных с МПН, в частности, при наличии мутации JAK2V617F, изучены недостаточно.

**Цель.** Оценить состояние системы естественных антикоагулянтов у больных ИП и ЭТ, в том числе, в зависимости от уровня аллельной нагрузки JAK2V617F.

**Материалы и методы.** В исследование включено 49 пациентов с диагнозом ИП (возраст 25–77, медиана 60 лет) и 38 пациентов с ЭТ (возраст 21–80, медиана 37,5 лет). Наличие мутации JAK2V617F и аллельную нагрузку JAK2V617F определяли методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции. Определение активности естественных антикоагулянтов антитромбина (АТ)

и протеина С (РС), уровня свободного протеина S (PS) проводили с помощью стандартных клоттинговых, хромогенных и иммунотурбидиметрических методик. Контрольная группа включала 68 здоровых добровольцев (возраст 30–73, медиана 46 лет). Статистическую обработку данных проводили с использованием STATISTICA 6.0, рассчитывали медиану (Me) и 95 % доверительный интервал (ДИ). Для определения достоверности различий между группами применяли тест Манна-Уитни, для выявления корреляционных взаимосвязей использовали тест ранговой корреляции Спирмена, различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** У 45 (92 %) пациентов с ИП была выявлена мутация JAK2V617F. Данные аллельной нагрузки JAK2V617F получены для 21 пациента с ИП: Me 12,6 %, 95 % ДИ 2,7–34,8 %. Среди пациентов с ЭТ мутация JAK2V617F выявлена у 26 (68 %), данные аллельной нагрузки получены для 9 пациентов с ЭТ: 7,9 %; 2,9–13,6 %.

Активность АТ у пациентов с ИП и ЭТ была повышена по сравнению с показателями контрольной группы: Me 97,3 % (95 % ДИ 76,3–131,0 %) для ИП и 103,0 % (82,6–123,0 %) для

ЭТ против 91,0 % (81,1–116,0 %),  $p = 0,004$  и 0,00001 соответственно.

Активность PC, напротив, была достоверно снижена у пациентов с ИП относительно контроля: 89,0 % (59,0–124 %) против 102,0 % (76,7–145,0 %),  $p < 0,01$ .

Наиболее существенное снижение было обнаружено в отношении уровня свободного PS: 85,0 % (47,0–118,0 %) для ИП и 80,0 % (57,0–121,0 %) для ЭТ против 123,6 % (113,3–142,4 %),  $p < 0,000001$  в обоих случаях.

При проведении корреляционного анализа наблюдалась достоверная обратная связь между уровнем аллельной нагрузки *JAK2V617F* и активностью естественных антикоагулянтов AT, PC и уровнем свободного PS

при ИП ( $r = -0,58$ ,  $p = 0,002$ ;  $r = -0,50$ ,  $p = 0,01$  и  $r = -0,41$ ,  $p = 0,04$  соответственно) и уровнем свободного PS при ЭТ ( $r = -0,75$ ,  $p = 0,003$ ).

**Выводы.** Снижение активности естественных антикоагулянтов системы протеина C (PC и PS) при ИП и ЭТ может приводить к гиперкоагуляции, определяющей развитие протромботических состояний при данных патологиях. Повышение активности AT может иметь компенсаторное значение. Обратная корреляция между уровнем аллельной нагрузки *JAK2V617F* и активностью естественных антикоагулянтов может служить одним из механизмов, определяющих ассоциацию мутации *JAK2V617F* с повышенным тромботическим риском.

**Кузакбирдиева О. Х., Комиссаров К. А.**

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

### **ВОЗМОЖНОСТИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ИНФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

**Введение.** В структуре сердечно-сосудистой заболеваемости доля тромбооблитерирующих заболеваний составляет более 20 %. Несмотря на современные методы лечения, частота повторных госпитализаций по поводу хронической ишемии нижних конечностей (ХИНК) остается на высоком уровне. При развитии терминальных стадий ХИНК риск потери конечности возрастает многократно, что сопряжено с высоким риском последующей смерти от сопутствующих заболеваний (ИБС, цереброваскулярная болезнь и др.), что делает совместную терапию актуальной. В последнее время интенсивно развивается поиск новых методов консервативного лечения ХИНК при заболеваниях периферических артерий (ЗПА), включающих инфузионную терапию препаратами реологического и метаболического действия, совместно с антитромботической комбинированной терапией, с учетом ишемической болезни сердца и поражения других бассейнов. Представляется перспективным использование в качестве малообъемного метаболического препарата антигипоксического действия фумаратсодержащего раствора «Конфумин» в сочетании с современной комбинированной антитромботической терапией.

**Цель.** Оценить возможности совершенствования инфузионной терапии с применением фумаратсодержащего раствора «Конфумин» в сочетании с комбинированной антитромботической терапией у пациентов с ХИНК.

**Материал и методы.** С января 2019 г. по октябрь 2019 г. в хирургической клинике прошли лечение 30 пациентов с ХИНК IIa-IV стадии по А. В. Покровскому-Фонтейну. Больные были разделены на 2 группы: I (основная) группа — 12 пациентов, со стабильным атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей, получавшие антигипоксикант «Конфумин» в сочетании с комбинированной антитромбоцитарной терапией (Ривароксабан 2,5 мг x 2 раза в день + Аспирин 100 мг x 1 раз в день), II (контрольная) группа — 18 пациентов, получавших лечение пентоксифиллином, актовегином (антитромбоцитарная терапия назначалась по результатам исследования состояния периферического русла и клинической симптоматики больного). Средний возраст больных в обеих группах составил  $68 \pm 2,4$  лет. Преобладали пациенты мужского пола (64,5 %). Всем больным выполняли исследование системы гемостаза: АПТВ; протромбиновое время, тромбиновое время,

фибриноген, D-димер, антитромбин III, протеин С и протеин S, маркеры дисфункции эндотелия (С-реактивный белок, фактор фон Виллебранда). В дополнение к функциональным пробам и тестам всем пациентам проводилось ультразвуковое доплеровское сканирование (УЗДС). Результаты теста подтверждали соответствие критериям включения/исключения в клиническое исследование. УЗДС проводилось двукратно в 1-е и на 12-е сутки госпитализации пациента.

**Результаты.** Поражение брюшного отдела аорты, подвздошных артерий выявлено у 85 % пациентов; более 57 % пациентов имели атеросклеротические изменения периферических артерий нижних конечностей, и у 63,2 % наблюдалась сопутствующая сосудистая патология — ИБС, ЦВБ и/или гипертоническая болезнь. В анамнезе у 12 пациентов отмечался длительный стаж курения. Реконструктивные операции на нижних конечностях в анамнезе были у 3 пациентов из основной группы, в группе контроля — у 7. У пациентов обеих групп выявлены исходные изменения в свертываемости крови, повышение уровня фибриногена выявлено у 41 % пациентов. У пациентов с гиперфибриногемией, в большей степени, отмечалось по-

вышение активности фактора Виллебранда ( $182,2 \pm 12,6$  %), фактора VIII ( $211 \pm 3,75$  %) и содержание D-димера (1100 нг/мг). В обеих группах отмечено увеличение агрегации тромбоцитов с использованием индукторов агрегации (АДФ, ристоцетин). На фоне проведенного комплексного лечения, через 12 дней после госпитализации, прослеживалось снижение уровня маркеров дисфункции эндотелия (фактор фон Виллебранда), активности ФВ, фактора VIII у пациентов первой группы на фоне введения раствора «Конфумин», в отличие от пациентов второй группы. У пациентов I группы по данным УЗДС артерий нижних конечностей через 12 дней госпитализации отмечалось улучшение дистального кровотока. У всех пациентов кровообращение в нижних конечностях было компенсировано по окончании терапии, и необходимости в оперативных вмешательствах не возникло.

**Выводы.** Использование антигипоксического препарата «Конфумин» в сочетании с комбинированной антитромботической терапией у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей позволяло более эффективно осуществлять коррекцию эндотелиальной дисфункции по сравнению с пациентами контрольной группы.

**Кузьмина Т. П., Наумова К. В., Попельнюк Н. С., Мордвинова Е. В.**

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара*

### **СУБКЛИНИЧЕСКАЯ СОКРАТИТЕЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ МИОКАРДА И КАРДИОТОКСИЧНОСТЬ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ В ПРОЦЕССЕ ЛЕЧЕНИЯ ПО СХЕМЕ R-СНОР**

**Введение.** Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) — самый частый вид лейкозов у взрослых и в настоящее время данное заболевание является неизлечимым. Большинство заболевших пациентов — пожилые люди. В связи с этим цели лечения часто в большей мере определяют возраст, число и тяжесть сопутствующих заболеваний, нежели биологическая характеристика опухолевых клеток. В настоящее время кардиотоксическое воздействие противоопухолевых методов лечения в первую очередь оценивается путем определения фракции выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ), но данный параметр не учитывает структурные изменения, которые

происходят на уровне миокарда. Поэтому все большее значение приобретают методы, позволяющие верифицировать субклиническое снижение функции ЛЖ. Одним из таких методов является оценка глобальной продольной деформации ЛЖ (GLS). Схема полихимиотерапевтического лечения R-СНОР (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизолон) включает в себя доксорубицин из группы антрациклинов. Учитывая, что впервые кардиотоксичность была диагностирована в 1979 году D. D. Von Hoff и соавторами и в среднем встречалась у 2,2 % пациентов, получавших доксорубицин, изучение сократительной способности миокарда

у пациентов с ХЛЛ, получающих лечение по схеме R-СНОР представляется крайне важным.

**Целью настоящего исследования** была оценка нарушений сократительной способности ЛЖ в процессе химиотерапии по схеме R-СНОР у пациентов с ХЛЛ.

**Материалы и методы исследования.** Включено 19 пациентов (мужчин — 11, женщин — 8), со средним возрастом  $62 \pm 5,57$  лет с впервые выявленным ХЛЛ стадии В по Vinet в сочетании со стабильной стенокардией напряжения I–II функциональных классов и артериальной гипертензией 1–2 степени, не имеющие клинических признаков сердечной недостаточности, с ФВ ЛЖ более 50 %, у которых есть показания к лечению по схеме R-СНОР до начала лечения. Пациенты находились на стационарном лечении в отделениях гематологии и химиотерапии № 1 и № 2 Клиник ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Длительность наблюдения составила  $130 \pm 7$  дней. Всем пациентам проводилась эхокардиография до начала полихимиотерапии (ПХТ), после 3 курсов ПХТ и после 6 курсов. Для серийной оценки параметров ЭхоКГ использовался ультразвуковой сканер Philips EPIQ 5G.

**Результаты.** Исходно, до лечения, пациенты были однородны по параметрам диастолической и систолической функции ЛЖ и правого желудочка (ПЖ), все показатели находились в пределах нормального диапазона. GLS в группе составляла  $20,07 \pm 0,81$ . ФВ ЛЖ равнялась  $66,21 \pm 2,85$ . После 3 курса ПХТ мы отметили относительное снижение GLS на  $20,16 \pm 0,80$ , а клиническое значение имеет снижение GLS на 15 % и более и подобное уменьшение является предиктором кардиотоксичности. При этом ФВ не продемонстри-

ровала изменений, характеризующих развитие кардиотоксичности (снижение более чем на 10 % при значении менее 53 %), и составила  $63,96 \pm 3,07$ . После 6 курса химиотерапии показатель GLS продолжал прогрессивно снижаться и составил —  $13,63 \pm 0,77$  (относительное снижение по отношению к исходному параметру =  $32,09 \pm 0,45$ ). ФВ ЛЖ после 6 курса ПХТ продемонстрировала значительное снижение и составила  $59,45 \pm 5,3$ , у 5 пациентов (26 %) мы зафиксировали развитие кардиотоксичности.

Полученные данные свидетельствуют о развитии субклинической систолической дисфункции ЛЖ у всех обследованных пациентов в процессе проведения химиотерапевтического лечения по схеме R-СНОР, диастолическая функция оставалась в норме. Изменения GLS являются более чувствительными по сравнению с ФВ ЛЖ и предшествуют ее снижению, а при динамическом наблюдении во время химиотерапии определяют популяцию с высоким риском развития кардиотоксических эффектов среди пациентов с ХЛЛ. Мы убеждены, что в группе пациентов с клинически значимым снижением GLS необходимым является более тщательное (с увеличением кратности визитов) и персонализированное ЭхоКГ-наблюдение и назначение кардиопротективной терапии.

**Выводы.** На основании полученных результатов можно сделать вывод, что клинически значимое снижение GLS является маркером субклинической сократительной дисфункции ЛЖ и прогнозирует развитие кардиотоксичности у пациентов с ХЛЛ в процессе химиотерапевтического лечения по схеме R-СНОР.

**Минаев М. С., Дьяконов Д. А., Перфилова Е. А., Зорина Н. А., Хоробрых М. Н.**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», г. Киров*

### **ОСОБЕННОСТИ ЛОКАЛИЗАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ CD163-ПОЗИТИВНЫХ МАКРОФАГОВ ПРИ НОДУЛЯРНОМ СКЛЕРОЗЕ ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА**

**Введение.** Классическая лимфома Ходжкина (ЛХ) — злокачественная моноклональная опухоль лимфоидной ткани. К наиболее часто встречающемуся подтипу при данной

нозологической относится вариант нодулярного склероза. Характерным его морфологическим признаком является развитие в лимфатических узлах коллагеновых фиброзных тя-

жей, формирующих нодулы, внутри которых локализуются крупные опухолевые элементы: многоядерные клетки Рид-Штернберга и одноядерные клетки Ходжкина, развивающиеся из В-клеток герминативного центра фолликула.

Значительная часть лимфоидной ткани представлена реактивным неоднородным опухолевым микроокружением, в котором выделяют Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы, эозинофилы, плазмоциты, а также макрофагально-гистиоцитарные элементы. В настоящее время активно изучается вопрос взаимосвязи опухолевого субстрата с клетками микроокружения. При этом существенное внимание уделяется оценке содержания макрофагов и гистиоцитов. Получены результаты об их участии в запуске и координации ранних этапов иммунного ответа на опухоль. Накапливаются данные о роли CD163-позитивных клеток при ЛХ в качестве предикторов течения заболевания. Однако проводимые исследования немногочисленны и носят преимущественно описательный характер.

**Цель работы.** Оценка локализации и относительного количества CD163-позитивных макрофагальных элементов у пациентов при нодулярном склерозе ЛХ.

**Материалы и методы.** Для исследования отобраны архивные парафиновые блоки лимфатических узлов 20 пациентов с вариантом нодулярного склероза ЛХ, наблюдавшихся в клинике КНИИГиПК ФМБА России в период с 2011 по 2018 гг. Медиана возраста соответствовала 35 годам (от 21 до 72 лет). Все больные разделены на 2 группы: группу 1 (n = 12) составили обследуемые, достигшие полной ремиссии при проведении стандартной полихимиотерапии 1 линии по схеме BEACOPP; во 2 группу (n = 8) включены пациенты с минимальным ответом на терапию 1 линии.

Постановку иммуногистохимических реакций осуществляли по стандартной методике в соответствии с протоколом для системы визуализации EnVISION (DAB+, «Дако»). Подсчет относительного количества макрофагов, имевших цитоплазматическую реакцию с моноклональным антителом CD163 (клон

MRQ26), выполняли путем световой микроскопии с использованием микроскопа «Leica DM 1000» (Германия) со встроенной фото/видеокамерой и программным обеспечением анализа изображений ImageScope Color, версии М. Исследование каждого образца проводили в 10 полях при окулярах x10 и объективе x100.

Для статистической обработки данных применялась программа Stadia. При сравнении количественных показателей использовали непараметрические критерии Крускала-Уоллиса, Манна-Уитни. Результаты исследований представлены с указанием медианы, а также верхнего и нижнего квартилей для каждой группы. Различия между показателями считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** В результате проведенного анализа определены отличия в характере расположения и относительном количестве CD163+ клеток в гистологических срезах лимфатических узлов пациентов 1 и 2 исследуемых групп. Так, у больных 1 группы макрофаги в препарате локализовались неравномерно по срезу, в виде небольших или умеренных очаговых скоплений, с эксцентричным распределением по отношению к лимфоидным нодулам. У обследуемых 2 группы CD163-позитивные элементы находились преимущественно на границе между фиброзными тяжами и нодулами (циркулярно по периферии нодулы), что напоминало своего рода «барьер», ограждающий опухолевый субстрат от условно здоровой ткани. В результате морфометрического анализа выявлено, что относительное количество CD163+ экспрессирующих клеток у больных 1 группы было существенно меньше, чем у пациентов 2 группы: 9,7% (4,6;14,7) против 19,6% (12,6;25,6) соответственно ( $p = 0,002$ ).

**Выводы.** Таким образом, у больных нодулярным склерозом ЛХ установлены различия в особенностях расположения и относительного содержания CD163-позитивных макрофагов в зависимости от ответа на терапию. Вероятно, это может служить дополнительным прогностическим критерием при предварительной оценке ответа на терапию.

Михалева М. А.<sup>1</sup>, Кувшинов А. Ю.<sup>1</sup>, Волошин С. В.<sup>1</sup>, Красников Е. Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница № 40», г. Санкт-Петербург

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ РАЗВИТИЯ НЕХОДЖКИНСКОЙ ЛИМФОМЫ У ПАЦИЕНТКИ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ТРОМБОЦИТЕМИЕЙ

**Введение.** Случаи наблюдения пациентов с эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ) и неходжкинской лимфомой (НХЛ) крайне редки.

**Целью данной работы** является описание клинического случая 31-летней женщины с развитием НХЛ после пятилетнего анамнеза ЭТ.

**Материалы и методы.** Диагноз ЭТ был установлен в 2013 г.: рецидивирующие тромбозы поверхностных вен левой голени, персистирующий тромбоцитоз (максимальный уровень тромбоцитов —  $853 \times 10^9/\text{л}$ ); JAK2 (V617F)+; биопсия костного мозга — пролиферация мегакариоцитарного ростка; несоответствие критериям ВОЗ 2016 г. для диагностики хронического миелолейкоза, истинной полицитемии, первичного миелофиброза, миелодиспластического синдрома или других миелоидных новообразований. Пациентке в ноябре 2013 г. начата антиагрегантная терапия, но учитывая непереносимость препаратов ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела (интенсивная головная боль, головокружение, тошнота), с января 2014 г. начата терапия альфа-интерфероном 3 млн. МЕ, подкожно 3 раза в неделю. Однако, в связи с плохой переносимостью (возбуждение, галлюцинации, выраженная слабость), с апреля 2014 г. пациентка переведена на терапию пегинтерфероном 2а 90 мкг, подкожно 1 раз в неделю, которую получала до июня 2016 г. Переносимость была удовлетворительная, на проводимой терапии зафиксировано достижение полного клинико-гематологического ответа и отсутствие молекулярного ответа. Терапия интерфероном была отменена по желанию пациентки (планирование беременности). Пациентка оставалась под динамическим наблюдением гематолога без терапии. В январе 2018 г.: увеличение правых подмышечных лимфатических узлов. По данным гистологического и иммуногистохимического исследований лимфатического узла — анапластическая крупноклеточная лимфома (АККЛ) CD30+

TIA-1+ CD4+EMA+ ALK- CD2- CD3- CD5- CD15- CD20- CD45- Рах-5-. ПЭТ-КТ с 18-ФДГ выявило наличие двух имплантов (аугментационная маммопластика проведена в 2008 г.), метаболически активных (Deauville-4) лимфатических узлов правой подмышечной группы и образования верхних квадрантов правой молочной железы. Пациентке был установлен диагноз имплант-ассоциированный АККЛ. В феврале 2018 г. были удалены импланты и выполнена тотальная капсулэктомия с эксцизией образования правой молочной железы. Установлена II В стадия имплант-ассоциированной АККЛ. В марте 2018 г. инициирована терапия бендамустином 90 мг/м<sup>2</sup> Д1, 2 и брентуксимаб-ведотином 1,8 мг/м<sup>2</sup> Д1, 28-дневный цикл. Учитывая развитие пульмонотоксичности после второго цикла, доза бендамустина была редуцирована до 70 мг/м<sup>2</sup>. Проведено 4 цикла лечения.

**Результаты.** По данным контрольного обследования (ПЭТ-КТ с 18-ФДГ) после четырех циклов (в июне 2018 г.) достигнут полный метаболический ответ. Проведено два цикла брентуксимаб-ведотином в качестве консолидации. В настоящее время пациентка находится под динамическим наблюдением гематолога. Полный метаболический ответ имплант-ассоциированной АККЛ и полный клинико-гематологический ответ ЭТ в настоящее время сохраняются, учитывая, что с июня 2016 г. пациентка не получает лечения по поводу ЭТ.

**Выводы.** Описанный клинический случай демонстрирует редкое сочетание эссенциальной тромбоцитемии и неходжкинской имплант-ассоциированной анапластической крупноклеточной лимфомы. По данным литературы существует несколько гипотез патогенетических механизмов, лежащих в ассоциации миелопролиферативных и лимфопрлиферативных новообразований, но тем не менее не представляется возможным исключить совпадение развития двух заболеваний.

Мордвинова Е. В., Наумова К. В., Кузьмина Т. П., Попельнюк Н. С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения российской Федерации, Самара

## ИЗМЕНЕНИЯ В РЕГУЛЯЦИИ ТОНУСА МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

**Введение.** Множественная миелома (ММ) — это злокачественная плазмоклеточная опухоль, синтезирующая моноклональный иммуноглобулин. ММ является вторым по распространенности гематологическим злокачественным новообразованием и занимает 1% всех новообразований и 10% от гематологических. Медиана возраста диагностирования — 69 и 72 года в США и Европе, соответственно. Миелома характеризуется болью в костях, переломами, повреждением почек, анемией и инфекцией, все вместе они существенно снижают качество жизни. В течение последних 10–15 лет особое распространение получила таргетная терапия данного заболевания. С использованием иммуномодулирующих препаратов и ингибиторов протеасом пятилетняя выживаемость больных составила в 2012 году 48,5% по сравнению с 34,5% в 2000 году. Но многие из применяемых лекарственных средств обладают эндотелиотоксичностью и нарушают процессы микроциркуляции. По этой причине, особое внимание уделяется изучению причин и особенностей развития данных патологических процессов у больных ММ, получающих полихимиотерапию (ПХТ).

**Цель исследования.** Изучить изменения в регуляции тонуса микроциркуляторного русла у больных множественной миеломой.

**Материалы и методы исследования.** С помощью анализатора ЛАКК-2 было изучено функциональное состояние микроциркуляторного русла 68 пациентов с ММ (1 группа), находившихся на стационарном лечении в отделениях гематологии № 1 и № 2 Клиник СамГМУ в 2018–2019 гг, получающих ПХТ по схеме PAD. Исследовались больные в возрасте от 41 до 78 лет, медиана возраста составила 62 года. Группу сравнения составили 15 пациентов с впервые выявленной ММ до получения ПХТ (2 группа), контрольная группа включала 20 практически здоровых людей (3 группа), сопоставимых по полу и возрасту. Тестируемой областью являлась ладонная поверхность второго пальца правой руки. Критериями включения в исследование были:

- пациенты с множественной миеломой до начала лечения, те же пациенты после 3

курсов ПХТ по схеме PAD и практически здоровые люди;

- информированное добровольное согласие пациентов на участие в исследовании.

Критериями невключения были:

- сахарный диабет I /II типа;
- хроническая болезнь почек I — V стадии;
- ишемическая болезнь сердца II–IV функционального класса;
- гиперхолестеринемия;
- наличие в анамнезе курения и алкоголизма.

**Результаты исследования.** У пациентов 1 группы терапия множественной миеломы сопровождалась достоверным снижением значения амплитуды колебания микрокровотока, связанного с эндотелиальной регуляцией микрососудов ( $Aэ = 0,28$ ;  $p < 0,05$ ) относительно данного показателя в группе сравнения (группа 2), что соответствует гиперемическому типу нарушения микроциркуляции. Показатель нейрогенного тонуса, также как и миогенного находился в пределах нормы ( $Am = 0,44$ ;  $An = 0,4$ ;  $p > 0,05$ ). Кроме того, на основании снижения индекса относительной перфузионной сатурации кислорода ( $Sm = 2,5$ ;  $p < 0,05$ ) в микрокровотоке пациентов с ММ была выявлена гипоперфузия тканей. Что касается группы сравнения (2 группа), то наблюдалось выраженное повышение эндотелиального компонента регуляции микроциркуляторного русла ( $Aэ = 0,6$ ;  $p < 0,05$ ), показатель нейрогенного тонуса, также как и миогенного находился в пределах нормы ( $Am = 0,38$ ;  $An = 0,48$ ;  $p > 0,05$ ), гипоперфузии тканей не наблюдалось ( $Sm = 2,94$ ;  $p > 0,05$ ). В контрольной группе было зафиксировано нормальное функционирование эндотелиального компонента регуляции сосудистого тонуса ( $Aэ = 0,37$ ;  $p > 0,05$ ), умеренное повышение миогенного и нейрогенного тонуса сосудов микроциркуляторного русла ( $Am = 0,55$ ;  $An = 0,54$ ;  $p > 0,05$ ). На основании значений индекса относительной перфузионной сатурации кислорода ( $Sm$ ) в микрокровотоке практически здоровых людей была выявля-

на достоверно достаточная перфузия тканей ( $Sm = 3,45$ ;  $p > 0,05$ ).

Выводы. Выявленные изменения регуляции тонуса микроциркуляторного русла у больных множественной миеломой являются допол-

нительными диагностическими признаками, которые следует учитывать при выборе стратегии превентивной терапии дисфункции эндотелия и нарушения функционирования микроциркуляции у данных пациентов.

**Наумова К. В., Кузьмина Т. П., Попельнюк Н. С., Мордвинова Е. В.**

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Самарский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара*

## **ПОВРЕЖДЕНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ, ПРИНИМАЮЩИХ ИНГИБИТОРЫ ТИРОЗИНКИНАЗ**

**Введение.** Кардиоонкология — развивающаяся область, которая использует совместный подход с кардиологами, онкологами и гематологами для профилактики, раннего выявления и лечения сердечно-сосудистых осложнений у онкологических больных в ходе терапии. Препараты, эффективные при лечении хронического миелолейкоза (ХМЛ), могут приводить к развитию сердечной недостаточности, ишемической болезни сердца, тромбозу периферических артерий и вен, плевральным и перикардальным выпотам, нарушениям ритма сердца и проводимости. Поэтому пациенты с ХМЛ, принимающие ингибиторы тирозинкиназ (ИТК), требуют тщательного наблюдения гематолога и кардиолога. Дисфункция эндотелия предшествует развитию атеросклероза, который в свою очередь приводит к сердечно-сосудистым заболеваниям.

**Цель.** Определить значение биохимических маркеров системного воспаления и нарушения функции эндотелия в развитии эндотелиальной дисфункции как раннего предиктора сердечно-сосудистых заболеваний у больных ХМЛ, принимающих ИТК.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на базе клиники и кафедры госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии ФГБОУ ВО СамГМУ МЗ РФ (г. Самара) и ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава РФ (г. Санкт-Петербург). Обследовано 124 больных ХМЛ в возрасте от 30 до 50 лет, принимающих ИТК более 6 месяцев. В 1-ю группу ( $n = 27$ ) вошли пациенты, принимающие иматиниб в дозе 400 мг/сут., во 2-ю группу ( $n = 25$ ) — дазатиниб в дозе 100 мг/сут., в 3-ю группу ( $n = 26$ ) — нилотиниб 800 мг/сут. Группу срав-

нения составили 25 пациентов, принимающих иматиниб в средней дозе 600 мг/сут., группу контроля — 21 пациент с впервые выявленным ХМЛ. Лабораторные исследования включали в себя исследование: общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеинов высокой (ХС-ЛПВП), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП), триглицеридов (ТГ), коэффициента атерогенности (КА); функции эндотелия с помощью биохимических показателей (С-реактивный белок (СРБ), фибриноген, гомоцистеин, эндотелин-1 (ЭТ-1), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF)). Состояние сосудистой стенки оценивали, измеряя лодыжечно-плечевой индекс (АВІ), индекс жесткости сосудов (САVІ) и толщину комплекса интима-медиа (ТКИМ) при проведении ЦДС БЦС.

**Результаты.** Выраженные изменения липидного спектра отмечены у больных ХМЛ, принимающих ИТК II поколения (дазатиниб 100 мг, нилотиниб 800 мг). В 3-й группе уровень ОХ составил  $6,27 \pm 0,22$  ммоль/л, ХС-ЛПНП —  $4,33 \pm 0,28$  ммоль/л, ХС-ЛПОНП —  $0,92 \pm 0,17$  ммоль/л, ТГ —  $1,85 \pm 0,07$  ммоль/л, что достоверно ( $p < 0,001$ ) выше, чем в других исследуемых группах. Уровень ХС-ЛПВП характеризовался достоверным ( $p < 0,001$ ) снижением до  $1,16 \pm 0,10$  ммоль/л в сравнении с другими группами пациентов. Во 2-й группе увеличение концентрации ОХ и ТГ, значение КА достоверно ( $p < 0,05$ ) отличались от группы контроля; в 3-й группе значение КА составило  $3,94 \pm 0,27$  и было достоверно ( $p < 0,001$ ) выше, чем в других исследуемых группах. Индекс АВІ у пациентов во 2-й 3-й группах был снижен до  $1,22 \pm 0,05$  и  $0,93 \pm 0,03$  у.е. соответственно,



и достоверно ( $p < 0,05$ ) отличался от значений в других исследуемых группах. Значения индекса САVI у пациентов 2-й и 3-й группы имели противоположные тенденции. Наибольшее значение жесткости сосудистой стенки, наблюдалось при приеме нилотиниба 800 мг ( $8,44 \pm 0,15$  у.е.). ЦДСБЦС показало, что при приеме дазатиниба 100 мг и нилотиниба 800 мг значения ТКМ ( $0,94 \pm 0,05$  мм и  $1,21 \pm 0,04$  мм соответственно) были достоверно ( $p < 0,01$ ) выше, чем в других группах. У пациентов с ХМЛ выявлены особенности, указывающие на наличие эндотелиальной дисфункции: достоверное увеличение ( $p < 0,01$ ) уровня гомоцистеина, ЭТ-1 и VEGF ( $14,84 \pm 0,26$  мкмоль/л,  $0,92 \pm 0,05$  фмоль/мл и  $166,57 \pm 12,41$  пг/мл соответственно) в 3-й группе по сравнению с 1-й и 2-й группами ( $9,58 \pm 0,30$  мкмоль/л и  $10,89 \pm 0,37$  мкмоль/л,  $0,18 \pm 0,06$  фмоль/мл и  $0,34 \pm 0,04$  фмоль/мл,  $54,75 \pm 7,47$  пг/мл и  $108,91 \pm 12,84$  пг/мл соответственно), а также с группой

сравнения ( $10,14 \pm 0,33$  мкмоль/л,  $0,22 \pm 0,06$  фмоль/мл,  $76,84 \pm 7,18$  пг/мл) и группой контроля ( $9,32 \pm 0,28$  мкмоль/л,  $0,07 \pm 0,04$  фмоль/мл,  $36,47 \pm 6,64$  пг/мл). Корреляционный анализ показал достоверную выраженную зависимость всех маркеров повреждения эндотелия (СРБ, фибриноген, гомоцистеин, ЭТ-1, VEGF) и показателей липидного обмена (общий холестерин, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПОНП, ХС-ЛПВП, ТГ, КА).

Выводы. Прием ИТК II поколения у пациентов с ХМЛ приводит к более выраженному нарушению липидного обмена, увеличению жесткости сосудистой стенки и ее ремоделированию. Прием ИТК приводит к нарушению функции эндотелия, более выраженному при использовании ИТК II поколения. Взаимосвязь показателей липидного спектра и маркеров повреждения эндотелия у пациентов с ХМЛ свидетельствует о единстве процессов атерогенеза и эндотелиальной дисфункции.

**Петрова А. Н.<sup>1</sup>, Ионова Т. И.<sup>2</sup>, Чельшева Е. Ю.<sup>1</sup>, Шухов О. А.<sup>1</sup>, Быкова А. В.<sup>1</sup>,  
Немченко И. С.<sup>1</sup>, Никитина Т. П.<sup>2</sup>, Порфирьева Н. М.<sup>3</sup>, Зинковская А. В.<sup>3</sup>,  
Цыба Н. Н.<sup>1</sup>, Туркина А. Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Клиника высоких медицинских технологий им. Н. И. Пирогова, Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Межнациональный центр исследования качества жизни, Санкт-Петербург

## **КАЧЕСТВО ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ ПОСЛЕ ПРЕКРАЩЕНИЯ ТЕРАПИИ ИНГИБИТОРАМИ ТИРОЗИНКИНАЗ**

**Введение:** исследования по оценке качества жизни (КЖ) у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) после прекращения терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) в настоящее время немногочисленны, имеющиеся данные противоречивы. Анализ КЖ включен в протокол проспективного многоцентрового исследования RU-SKI по ведению больных ХМЛ в ремиссии без лечения.

Цель исследования: изучить КЖ больных ХМЛ с длительным глубоким молекулярным ответом (МО) до и после отмены терапии ИТК, а также оценить влияние сопутствующих заболеваний (СЗ) и токсичности ИТК на параметры КЖ в динамике.

**Материалы и методы исследования.** в анализ включено 97 взрослых больных ХМЛ в хронической фазе, получавших терапию ИТК  $\geq 3$  лет, с глубоким МО ( $BCR-ABL \leq 0,01$  % IS) спо-

ком  $\geq 2$  лет. Медиана (Me) возраста составила 46 лет, 48 % мужчин. Прием ИТК возобновляли при потере большого молекулярного ответа (БМО,  $BCR-ABL > 0,1$  %). КЖ исследовали до отмены терапии ИТК и в течение 12 месяцев после отмены. С помощью опросника RAND SF-36 оценивались 8 функциональных шкал — физическое функционирование (ФФ), ролевое физическое функционирование (РФФ), боль (Б), общее здоровье (ОЗ), жизнеспособность (Ж), социальное функционирование (СФ), ролевое эмоциональное функционирование (РЭФ), психическое здоровье (ПЗ) и интегральный показатель качества жизни (ИПКЖ). Для статистического анализа использовали тест Манна-Уитни, дисперсионный анализ (ANOVA), тест Бонферрони. Многофакторный анализ выполнялся с помощью метода «общая линейная модель» (General Linear Model, GLM).

Результаты: до отмены ИТК у 81 (83,5 %) больного имелись СЗ, из них у 42 — в стадии обострения. Токсичность ИТК отмечена у 60 (62 %). Сочетание СЗ и токсичности ИТК на момент отмены терапии наблюдалась у 54 (67 %) больных. При Ме наблюдения 25 мес (12–42 мес) выживаемость без потери БМО составила 52 %.

Перед отменой ИТК показатели КЖ больных ХМЛ были несущественно ниже по сравнению с условно здоровыми респондентами, значимые различия выявлены лишь по шкале ФФ. В группе больных с СЗ в стадии обострения средние показатели КЖ перед отменой ИТК были значимо ниже по большинству шкал, а ИПКЖ в этой группе составлял 0,477 против 0,582 в группе с наличием СЗ вне обострения и 0,596 в группе без СЗ. В группе больных с токсичностью терапии ИТК 2-ой степени (n = 18) на момент отмены лечения показатели КЖ значимо ниже по шкалам РФФ и Ж по сравнению с группами больных без токсичности или токсичностью 1й степени (p < 0,05). Многофакторный анализ показал, что наличие СЗ в обострении перед отменой ИТК является значимым фактором, связанным с ухудшением качества жизни по всем шкалам опросника SF-36 и ИПКЖ (p < 0,05).

В течение 12 мес после отмены ИТК отмечена тенденция к улучшению показателей КЖ во всей когорте пациентов; значимые различия установлены для ФФ, ОЗ и РЭФ (p < 0,05). В группе пациентов, имевших обо-

стрение СЗ как до отмены ИТК, так и через 3 мес без терапии (n = 30), наблюдалась наиболее выраженная положительная динамика; статистически значимо улучшились показатели ОЗ, Ж, ПЗ и ИПКЖ через 3 мес без лечения по сравнению с исходными. Токсичность, имевшаяся перед отменой терапии ИТК, у 95 % больных разрешилась к 3 мес наблюдения без лечения. В группе пациентов, имевших токсичность 2-ой степени перед отменой лечения, через 3 мес без терапии отмечалось значимое улучшение показателей РФФ, ОЗ, и Ж (p < 0,05).

Выводы: в настоящем исследовании проведена оценка КЖ группы больных ХМЛ, достигших глубокой МО на фоне терапии ИТК и после ее отмены. Показатели качества жизни у больных ХМЛ с длительным глубоким МО на терапии ИТК оказались незначительно снижены в сравнении с показателями условно-здоровых лиц, что сопоставимо с результатами других исследований. Перед отменой терапии отрицательное влияние на КЖ было обусловлено наличием сопутствующих заболеваний в стадии обострения, однако именно в этой группе пациентов через 3 мес наблюдения без терапии ИТК отмечается наиболее выраженное улучшение показателей КЖ. Можно предположить взаимосвязь такого результата с прекращением воздействия побочных эффектов ИТК после отмены терапии. При медиане наблюдения 2 года более половины больных сохранили БМО. В целом, в течение года после отмены терапии ИТК у больных ХМЛ отмечается положительная динамика показателей КЖ.

**Пивоварова В. И., Шадривова О. В., Клишко Н. Н.**

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург*

### **ИНВАЗИВНЫЙ АСПЕРГИЛЛЕЗ У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ: АНАЛИЗ ДАННЫХ РЕГИСТРА**

**Введение.** Инвазивный аспергиллез (ИА) — тяжелая микотическая инфекция, возникающая преимущественно у онкогематологических пациентов. Особенности ИА у больных множественной миеломой (ММ) изучены недостаточно.

**Цель исследования.** Выявление особенностей ИА у больных ММ.

**Материалы и методы.** Ретроспективный анализ данных 337 взрослых онкогематоло-

гических пациентов с ИА. В основную группу включили 39 больных ММ, медиана возраста — 56 лет (41–79), женщин — 59 %. Группу сравнения составили 298 других онкогематологических пациентов с ИА, медиана возраста — 53 года (40–78), женщин — 56 %. Фоновыми состояниями у пациентов группы сравнения были: острый лейкоз — 45 %, лимфомы — 36 %; хронический лейкоз — 13 %, миелодиспластический синдром — 5 %; дру-

гие — 1 %. Диагностировали ИА и оценивали эффективность терапии в соответствии с критериями EORTC/MSG, 2008.

**Результаты.** При анализе факторов риска развития ИА выявили, что у больных ММ реже, чем в группе сравнения наблюдали агранулоцитоз (51 % vs. 76 %,  $p = 0,03$ ; медиана 14 vs. 18 дней) и лимфоцитопению (33 % vs. 53 %,  $p = 0,03$ ; медиана 10 vs 12,5 дней). Среди больных ММ было меньше реципиентов аллогенных трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), (8 % vs. 13 %), однако им достоверно чаще проводили ауто-ТГСК (28 % vs. 4 %,  $p = 0,01$ ). Глюкокортикоиды (ГКС) в терапии также чаще использовали у пациентов основной группы (87,5 % vs. 59,5 %,  $p = 0,03$ ).

Основным локусом инфекции в обеих группах были легкие (97,4 % vs. 97,3 %), преимущественно выявляли двустороннее поражение (69 % vs. 77 %). Клинические признаки ИА в обеих группах были неспецифичными, наиболее частыми симптомами были лихорадка (80 % vs. 78 %) и кашель (69 % vs. 61 %). Особенности клинических проявлений ИА у больных ММ являлись более частые жалобы на боли в грудной клетке (16 % vs. 5 %,

$p = 0,03$ ) и отсутствие кровохарканья (0 % vs. 6,4 %,  $p = 0,001$ ).

Рост *Aspergillus* spp. при посеве биосубстратов получили в 69 % vs. 46 % случаев. Этиология ИА у больных ММ: *A. niger* — 45 %, *A. fumigatus* — 35 %, *A. flavus* — 10 %, *A. candidus* — 5 %, *A. ochraceus* — 5 %. Антимикотическую терапию получало большинство пациентов (100 % vs. 98 %), преимущественно использовали вориконазол (68,2 % vs. 64 %). Общая выживаемость больных ММ в течение 12-ти недель составила 96 %, что достоверно выше показателя группы сравнения (80 %,  $p = 0,01$ ).

**Выводы.** У пациентов с множественной миеломой инвазивный аспергиллез развивается преимущественно на фоне терапии глюкокортикоидами (87,5 %). Другие факторы риска: тяжелая длительная нейтропения и лимфоцитопения (51 % и 33 %, соответственно), а также проведение ауто-ТГСК (28 %). Основной локализацией инфекции являются легкие (97,4 %). Наиболее частые возбудители — *A. niger* (45 %) и *A. fumigatus* (35 %). Общая 12-недельная выживаемость больных ММ (96 %) достоверно выше этого показателя у других гематологических больных инвазивным аспергиллезом (80 %).

Самарина С. В.<sup>1</sup>, Лучинин А. С.<sup>1</sup>, Минаева Н. В.<sup>1</sup>,  
Ванеева Е. В.<sup>1</sup>, Семенова Н. Ю.<sup>2</sup>, Грицаев С. В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», Киров

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

## ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА PD1 И ЛИГАНДА PDL1 У БОЛЬНЫХ ДИФУЗНОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМой

**Введение.** Прогнозирование течения диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ), а именно вероятности достижения ответа на стандартную индукционную схему R-CHOP, включает в себя использование клинических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических маркеров. Учитывая гетерогенность опухолевого процесса, применение общепризнанных предикторов не всегда может спрогнозировать безрецидивную выживаемость (БРВ) и общую выживаемость (ОВ). В настоящее время активно изучается роль рецепторов PD1 на активированных Т- и В-клетках и лиганда PDL1 на атипичных лимфоцитах и клетках опухоле-

вого микроокружения как потенциальных маркеров особенностей течения ДВККЛ.

**Цель.** Определить зависимость экспрессии рецептора PD1 и его лиганда PDL1 на клетках лимфомы от клинико-морфологических показателей и оценить их влияние на БРВ больных ДВККЛ.

**Материалы и методы.** В исследование включено 35 пациентов ДВККЛ в возрасте от 42 до 83 лет, медиана 62 года. Все пациенты получили 6 курсов индукционной терапии по схеме R-CHOP. Период наблюдения за больными колебался от 1 до 110 мес. (медиана — 20 мес.). Экспрессию белков PDL1 и PD1 изучали на гистологических образцах опухолевого суб-

страта с помощью иммуногистохимического метода. Положительной считали экспрессию PDL1 и PD1 более 10 %, отрицательной — менее 10 %. Для статистической обработки результатов применялся Wilcoxon rank test и Fisher test.

**Результаты.** Положительная экспрессия PDL1 и PD1 выявлена у 7 (20,0 %) и 17 (48,6 %) пациентов соответственно. В группе с положительной экспрессией PDL1 все пациенты имели non-GCB подтип ДВККЛ согласно алгоритму Ханса.

Среди больных с отрицательной экспрессией PDL1 подтип GCB обнаружен у 8 из 24 (33 %) пациентов, подтип non-GCB — у 16 (67 %) пациентов. Различия по иммуногистохимическому подтипу в группах с положительной и отрицательной экспрессией PDL1 было незначимо;  $p = 0,146$ .

В группе больных ДВККЛ с положительной экспрессией рецептора PD1 у 4 (29 %) пациентов имелся GCB подтип, у 10 (71 %) — non-GCB подтип. В группе с отрицательной экспрессией рецептора PD1 подтип GCB обнаружен у 4 (27 %) и non-GCB — у 11 (63 %) пациентов. Различия по иммуногистохимическому подтипу между группами с положительной и отрицательной экспрессией рецептора PD1 также статистически незначимо.

Различия по международному прогно-

стическому индексу (IPI) между группами больных с положительной и отрицательной экспрессией PDL1 и PD1 статистически незначимо:  $p = 0,94$  и  $p = 0,54$  соответственно.

Медиана БРВ больных с положительной экспрессией PD1 составила 13 мес., при отрицательной экспрессии — медиана не достигнута (HR = 1.4, 95 %CI 0.4–4.84,  $p = 0.6$ ).

В группе больных с положительной экспрессией PDL1 медиана БРВ не достигнута и составила 100 %. При отрицательной экспрессии-медиана БРВ – 13 мес. ( $p = 0,6$ ).

**Выводы.** Установлена тенденция к снижению БРВ у пациентов с положительной экспрессией рецептора PD1. Различий между группами GCB и non-GCB подтипами с положительной и отрицательной экспрессией белков PD1 и PDL1 не выявлено в данном исследовании. Также не обнаружено статистически достоверных различий между группами больных с положительной и отрицательной экспрессией PDL1 и PD1 по международному прогностическому индексу (IPI).

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности продолжения исследования значения экспрессии PD1 и PDL1 как потенциальных предикторов особенностей течения ДВККЛ.

**Свитина С. П., Жернякова А. А., Дрижун Ю. С.,  
Сидорова Ж. Ю., Грицаев С. В., Капустин С. И.**

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

## **ОСОБЕННОСТИ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА РЯДА ГЕНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

**Введение.** Множественная миелома (ММ) является одним из наиболее распространённых лимфопролиферативных заболеваний и характеризуется неконтролируемой пролиферацией клональных плазматических клеток, продуцирующих патологический моноклональный иммуноглобулин. Патогенез ММ связан с наличием разнообразных хромосомных нарушений и патологией стромального микроокружения. Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) в настоящее время явля-

ется стандартным методом лечения молодых ( $\leq 65$  лет) пациентов без серьёзной сопутствующей патологии, и, несмотря на появление новых лекарственных препаратов, не утратила свое место в лечении больных ММ. На сегодняшний день доказано важное значение цитокинов в регуляции гемопоэза и иммунного ответа при ММ. Продукция цитокинов, секретируемых клетками стромы, а затем и опухолевыми клетками, определяет развитие заболевания — высокий уровень интерлейкина-6 выявляется при прогрессии заболевания,

а повышенная продукция интерлейкина-1 влияет на диссеминацию опухолевых клеток и их контакт с клетками стромы, сосудами. В современной литературе есть сведения не только о влиянии полиморфизма генов цитокинов на их биологическую активность и скорость секреции, но и о роли этих генетических вариаций в патогенезе некоторых заболеваний. Так, например, было показано, что полиморфизм G-174C в промоторной зоне гена IL6 влияет на выживаемость после аллогенной ТГСК у пациентов с заболеваниями системы крови.

**Цель.** Оценить значимость аллельного полиморфизма ряда генов иммунной системы (IL-6, TNF-A, IL-1B, IL-10) у больных ММ при выполнении аутоТГСК.

**Материалы и методы.** Было обследовано 23 больных ММ (11 мужчин и 12 женщин) в возрасте от 40 до 66 лет, всем пациентам была проведена аутоТГСК. Частичный (ЧО), очень хороший частичный (ОХЧО) и полный ответы (ПО) после проведения первой аутоТГСК были констатированы у 9, 5 и 9 больных соответственно. Контрольную группу (КГ) составили 236 здоровых лиц. Полиморфизм генов IL-6 (G-174C), IL-1B (T-31C), IL-10 (C-592A) и TNF-A (G-308A) определяли методом полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом. Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы GraphPad Prism 5.0. Различия в распределении аллелей и генотипов оценивались с помощью точного критерия Фишера.

**Результаты.** Оценка распределения исследуемых аллелей и генотипов TNF-A, IL-6, IL-1B и IL-10 не обнаружила статистически значимых различий между группой больных ММ и КГ. Тем не менее, в группе больных доля гомозигот по варианту IL-6-174G почти в полтора раза превышала таковую в КГ (45,8 % против 32,0 % соответственно; OR = 1,8; 95 % CI: 0,7-4,2; p = 0,18). Кроме того, в группе больных обнаружено двукратное увеличение доли носителей аллеля -31C гена IL-1B (22,7 % против 11,1 % в КГ; OR = 2,3; 95 % CI: 0,8-6,9; p = 0,16). Напротив, генотип -592AA гена IL-10 встречался только у здоровых лиц (7,0 % в КГ против 0,0 % в группе больных ММ; OR = 0,26; 95 % CI: 0,01-4,8; p = 0,35). При анализе особенностей аллельного полиморфизма изученных генов в подгруппах больных, выделенных в зависимости от ответа на терапию, существенных различий в распределении генетических вариантов не наблюдалось.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о возможной роли аллельного полиморфизма генов IL-6, IL-1B и IL-10 в патогенезе ММ. Для уточнения значимости вариантов указанных генов в развитии заболевания, особенностях его течения и ответа на аутоТГСК необходимы дальнейшие исследования с расширением группы больных. Представляется целесообразным изучение дополнительных генетических маркеров, способных оказывать влияние на эффективность проведения аутоТГСК у больных ММ.

**Семенова Н. Ю.**

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

### **ПЕРЕСТРОЙКА МИКРООКРУЖЕНИЯ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ**

**Введение.** Множественная миелома (ММ) — заболевание, протекающее с развитием клона миеломных клеток, длительно пролиферирующих в интрамедуллярных пространствах костной ткани, и выраженных нарушений остеогенеза. Рост и развитие опухоли опосредуется взаимодействием опухолевых клеток с микроокружением костного мозга (КМ), в котором мезенхимные стромальные клетки (МСК) являются важнейшими участниками гемопоэтической ниши.

**Цель.** Оценить морфофункциональные особенности опухолевого микроокружения и культуральные характеристики МСК у пациентов с ММ.

**Материал и методы.** Материалом исследования послужили цельные фрагменты подвздошной кости 32 пациентов с ММ в возрасте от 48 до 78 лет (медиана возраста 56 лет). В исследовании применяли гистологические, иммуногистохимические (ИГХ) и культуральные методы.

**Результаты.** Морфологически были определены изменения стромальных нишеобразующих элементов: площадь сосудистого компонента, увеличение количества эндостальных клеток, усиление ретикулинового рисунка. Причем эти особенности сохранялись и после проведенного лечения.

Повышенный ангиогенез коррелировал с количеством плазматических клеток в миелограмме ( $r = 0,58$ ;  $p < 0,05$ ), с типом инфильтрации КМ ( $r = 0,85$ ;  $p < 0,05$ ), а также с остеодеструктивными изменениями в анамнезе больного ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,05$ ).

У всех пациентов определялось увеличенное количество микрососудов в паренхиме КМ и в частности в субэндостальной зоне —  $12,7 \pm 2,3$  % при интерстициальной инфильтрации и  $15,2 \pm 2,8$  % при диффузной по сравнению с  $7,1 \pm 1,2$  % в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). На эндосте отмечалось повышение количества клеток на единицу длины костной трабекулы  $2,5 \pm 0,3$  при интерстициальной инфильтрации и  $2,7 \pm 0,4$  при диффузной по сравнению с  $1,4 \pm 0,2$  в контроле ( $p < 0,05$ ). Также в субэндостальной зоне и вокруг синусов КМ наблюдалось увеличение экспрессии коллагена IV типа и зоны ярко выраженного ретикулинового склероза. Показано сокращение площади костной ткани максимально до  $12,6 \pm 2,7$  % по сравнению с  $21,0 \pm 2,41$  % в контрольной группе.

При культуральных исследованиях МСК КМ пациентов с ММ по сравнению со здоровыми донорами показано снижение скорости

пролиферации (в среднем в 2,4 раза), снижение общего времени пассирования с 7 до 5 пассажей. После АутоТГСК пролиферативная активность сильно варьирует в разных культурах. После лечения только у небольшой части больных (17 %) происходило восстановление кривой роста до показателей доноров.

Отмечалось снижение остеогенного потенциала МСК КМ пациентов с ММ по сравнению с МСК ЗД. Прослеживалась корреляция с типом опухолевой инфильтрации КМ: культуры МСК КМ пациентов с ММ с низкой степенью инфильтрации КМ сохраняли способность к остеогенной дифференцировке, культуры МСК КМ пациентов с высокой степенью инфильтрации КМ показали снижение по этому параметру.

По сравнению с культурами МСК от здоровых доноров при ММ происходит увеличение уровня синтеза  $\alpha$ -ГМА, причём при низкой степени инфильтрации КМ количество положительных культур составляет 25 %, а при высокой — 75 %.

**Выводы.** В проведенных исследованиях было показано, что культуры МСК и нишеформирующие элементы КМ пациентов с ММ обладают чертами опухоли-ассоциированного микроокружения. Результаты, полученные в культуральных исследованиях, дополняют и подтверждают полученные морфологическими методами данные о нарушении состояния васкулярной и эндостальной ниш в условиях прогрессии заболевания.

Работа поддержана Грантом Президента РФ № МК-6706.2018.7.

**Шебуняева Я. Ю.<sup>1</sup>, Войтко М. С.<sup>1,2</sup>, Мезит Е. В.<sup>1,2</sup>, Ступакова В. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Новосибирск

<sup>2</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Городская клиническая больница № 2», Городской гематологический центр, г. Новосибирск

## **ГЕМАТОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ЛИМФОМОЙ ХОДЖКИНА**

**Введение.** Лимфома Ходжкина (ЛХ) составляет не более 1 % всех злокачественных новообразований. Заболеваемость лимфомой Ходжкина в России составляет 2,1 случая на 100 000 населения в год. Стандартом терапии I линии является проведение полихимиотерапии (ПХТ) по протоколам BEACOPP, ABVD, в связи с чем продолжительность жизни боль-

ных значительно увеличилась, однако развитие токсических осложнений, ассоциированных с применением химиотерапевтических протоколов, является неизбежным и ожидаемым следствием терапии заболевания. С учетом механизма действия цитостатических агентов целесообразно выделять гематологическую токсичность, представленную одно-

двух- и/или трехростковой цитопенией. Клиническими проявлениями такой депрессии кроветворения могут стать тяжелые инфекционные, геморрагические и гипоксические состояния, приводящие к заметному снижению эффективности проводимой терапии.

**Цель.** Изучить структуру, частоту гематологической токсичности, формирующуюся после проведения 1, 4, 6 курсов ПХТ (ВЕАСОРР-14, АВВД) у пациентов с лимфомой Ходжкина.

**Материал и методы.** Проведен ретроспективный анализ историй болезни 110 пациентов с диагнозом лимфома Ходжкина, установленным на базе гематологического отделения ГБУЗ НСО «ГКБ № 2» г. Новосибирска в период с 2015 г. по 2018 г. Оценка гематологической токсичности проводилась согласно критериям СТСАЕ4.03.

**Результаты.** Среди обследованных пациентов протокол ВЕАСОРР-14 был проведен у 68 (62 %) человек, АВВД — у 42 (38 %) больных. После 1 курса ПХТ анемия была зарегистрирована у 38 (34,55 %) обследованных, из них у 32 (29,09 %) больных она соответствовала легкой степени тяжести (Hb  $114,0 \pm 6,3$  г/л), у 6 (5,46 %) пациентов анемия была средней степени тяжести (Hb  $85,87 \pm 4,02$  г/л). Анемия тяжелой степени не была зарегистрирована ни в одном случае. После 4 курсов ПХТ анемия была выявлена у 48 (43,64 %) из 110 больных: анемия легкой степени тяжести (Hb  $110,23 \pm 7,7$  г/л) — у 38 пациентов (34,55 %), средней степени тяжести (Hb  $82,94 \pm 3,01$  г/л) — у 9 (8,18 %) и анемия тяжелой степени была выявлена у 1 (0,91 %) обследованного (Hb 68 г/л). После 6 курсов ПХТ анемия была диагностирована уже у 69 (62,7 %) из 110 больных: анемия легкой степени тяжести (Hb  $105,21 \pm 4,7$  г/л) определялась у 60 больных (54,55 %), средней степени тяжести (Hb  $80,12 \pm 4,03$  г/л) у 6 (5,45 %) па-

циентов и тяжелой степени (Hb  $67,7 \pm 1,53$  г/л) у 3 (2,7 %) человек.

Среди 110 обследованных нами пациентов лейкопении в дебюте заболевания, а так же после проведения 1 курса ПХТ не было зарегистрировано ни в одном случае. После 4-го курса ПХТ у 3 (2,7 %) больных выявлена лейкопения, среднее количество лейкоцитов составило  $3,47 \pm 0,31 \times 10^9$ /л. После 6 курса специфической полихимиотерапии лейкопения была выявлена у 4 (3,64 %) обследованных, при этом среднее количество клеток не превышало  $3,32 \pm 0,67 \times 10^9$ /л.

Среди всех обследованных 110 пациентов с лимфомой Ходжкина снижения уровня тромбоцитов ниже  $150 \times 10^9$ /л не было зарегистрировано ни в одном случае в дебюте заболевания (средний уровень  $198,3 \pm 62,8 \times 10^9$ /л) и после 1-го курса ПХТ (среднее количество тромбоцитов  $213,38 \pm 5,02 \times 10^9$ /л). После проведения 4-го и 6-го курсов специфической полихимиотерапии тромбоцитопения выявлена у 4 (3,64 %) и 5 (4,54 %) больных соответственно, средние уровни тромбоцитов составили  $117,25 \pm 20,2 \times 10^9$ /л и  $113,8 \pm 18,73 \times 10^9$ /л.

**Выводы.** У пациентов с ЛХ проведение стандартных протоколов ПХТ с дальнейшей интенсификацией терапии может быть лимитировано риском развития токсических эффектов, связанных с продолжительной миелосупрессией, при этом в динамике противоопухолевого лечения (после 4–6 курсов ПХТ) увеличивается доля лиц с анемией, лейкопенией и тромбоцитопенией. Своевременная профилактика и коррекция развившихся нарушений, проведение соответствующей сопроводительной терапии являются залогом сохранения качества жизни и увеличения эффективности проводимого лечения.

**Юрьев Е. Ю., Ханевич М. Д., Гипарович М. А., Алборов А. Э.**

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

## **ТАКТИКА КОРРЕКЦИИ АНЕМИИ ПЕРЕД ХИРУРГИЧЕСКИМ ЛЕЧЕНИЕМ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА**

**Введение.** Несмотря на снижение в последние годы удельного веса больных раком желудка, заболеваемость этой нозологией

остается высокой. В Российской Федерации в структуре онкологической патологии у мужчин рак желудка занимает 4-е, у женщин —

5-е место, а в структуре смертности у обоих полов — 3-е место. Рак желудка относится к опухолям с высоким уровнем летальности. Данная ситуация связана с диагностикой заболевания на поздних стадиях. Хирургический метод был и остается до настоящего времени основным в лечении больных раком желудка. Анемия встречается более чем у 1/3 пациентов со злокачественными новообразованиями желудка.

Снижение показателей красной крови при раке желудка обусловлено различными этиологическими факторами: постгеморрагические, метапластические, гипопластические и гемолитические факторы. Коррекция анемии представляет собой непростую задачу из-за риска осложнений в послеоперационном периоде после проведения трансфузионной терапии и увеличения объема инфузионной терапии.

**Цель.** Изучить возможность снижения объема трансфузионной терапии путем включения в комплекс периоперационного лечения препаратов, стимулирующих эритропоэз (железосодержащие препараты, эритропоэтины). Оценить влияние трансфузии эритроцитсодержащих сред на развитие послеоперационных осложнений.

**Материалы и методы.** К настоящему времени мы располагаем опытом применения препаратов, стимулирующих эритропоэз в комплексе периоперационной терапии у 48 больных. Препараты применялись в предоперационном периоде.

Схема коррекции анемии на основе гемостимулирующей терапии заключалась в введении внутривенных препаратов железа, в нашем случае Феринжект 7 мг/кг за 14,7 суток, и один день до хирургической операции, а также на протяжении 2-х недель подкожное введение эритропоэтинов, в нашем случае эпоэтин альфа «Эральфон» 100 Ед/кг через день. Оценка эффективности проводимой терапии производилась за 7 и 1 день до предполагаемого хирургического вмешательства. Когда данная схема коррекции анемии была

недостаточно эффективна, выполнялась трансфузия эритроцитной взвеси для достижения необходимого уровня гемоглобина и сатурации газов крови.

Группу сравнения составили 57 пациентов, которым коррекция анемии проводилась путем трансфузии эритроцитной взвеси. У всех больных, была выполнена гастрэктомия или субтотальная резекция, включающие лимфодиссекцию D2. Все осложнения классифицировали по шкале Dindo-Clavien.

**Результаты.** Применение препаратов, стимулирующих эритропоэз, во всех наблюдениях позволило повысить уровень показателей красной крови до приемлемых значений, что дало возможность отказаться или снизить объем трансфузии эритроцитной взвеси.

Осложнения возникли у 17 (35,42 %) в основной группе и у 22 (38,60 %) в группе сравнения. Следует отметить, что нехирургические осложнения в значительной мере превалировали над хирургическими.

В обеих группах в разной степени наблюдались сердечно-сосудистые осложнения: у 12 (25 %) больных в основной группе, у 19 (33,3 %) в группе сравнения. Воспалительные осложнения у 7 (14,58 %) в основной группе получающей стимуляцию гемопоэза, и у 16 (28,07 %) в группе сравнения, получавших трансфузионную терапию.

Летальный исход в основной группе был отмечен у 2 пациентов (4,16 %), в группе сравнения у 4 (7,01 %).

**Выводы.** Применение стимулирующих эритропоэз препаратов в комплексе периоперационной терапии больных раком желудка способствует адекватной коррекции анемии, что позволяет в большинстве отказаться от применения трансфузии эритроцитсодержащих сред или значительно снизить объем инфузионно-трансфузионной терапии в послеоперационном периоде. Использование препаратов для стимуляции гемопоэза и уменьшение объема трансфузий эритроцитсодержащих сред снижает число послеоперационных осложнений и летальности.