

Международный научно-практический журнал

ГЕМАТОЛОГИЯ ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

Восточная
Европа

2024, том 10, № 2

Hematology Transfusiology Eastern Europe

International scientific journal

2024, volume 10, number 2



Водопад Мулафоссур является визитной карточкой Фарерских островов.

Расположен около деревни Гасадалур на острове Вагар и падает в океан в красивом заливе из скал.

ISSN 2411-8966 (Print)

ISSN 2414-3693 (Online)



9 772411 896008



ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ
ИЗДАНИЯ

Международный научно-практический журнал

ГЕМАТОЛОГИЯ ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

Восточная
Европа

gemtrans.recipe.by
recipe-russia.ru

2024, том 10, № 2

Основан в 2015 г.

Беларусь

Учредители:

УП «Профессиональные издания»;
ГУ «Республиканский научно-практический центр
детской онкологии, гематологии и иммунологии»;
ГУ «Республиканский научно-практический центр
трансфузиологии и медицинских биотехнологий»;
ГУ «Минский научно-практический центр хирургии,
трансплантологии и гематологии»

Журнал зарегистрирован

Министерством информации
Республики Беларусь.
Свидетельство № 1763 от 27 апреля 2015 г.

Адрес редакции:

220049, Минск, ул. Кнорина, 17.
Тел.: +375 (17) 322 16 77, (17) 322 16 78,
e-mail: gemtrans@recipe.by

Директор Евушенко Л.А.

Заместитель главного редактора Глушук В.А.

**Руководитель службы рекламы
и маркетинга** Коваль М.А.

Технический редактор Нужин Д.В.

Россия

Учредитель и издатель:

ООО «Вилин – Профессиональные издания»

При поддержке

НКО «Ассоциация врачей гематологов»

Журнал зарегистрирован

Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий
и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
30 октября 2015 г.
Свидетельство ПИ № ФС77-63513

Адрес редакции:

214522, Смоленская обл., Смоленский р-н,
с.п. Катинское, п. Авторемзавод, д. 1А, пом. 413,

e-mail: gemtrans@recipe.by

Директор Рабкова Н.А.

Электронная версия журнала доступна на сайтах
gemtrans.recipe.by, recipe-russia.ru, в базе данных East View,
в электронной библиотечной системе IPRbooks,
в электронных каталогах на сайтах агентств: ООО «Прессинформ»,
ООО «Криэтив Сервис Бэнд», ООО «Екатеринбург-ОПТ»,
ООО «Глобалпресс», в Научной электронной библиотеке eLibrary.ru,
onliner.bookchamber.ru, oek.rsl.ru.
В Беларуси подписка оформляется через каталог РУП «Белпочта»:
индивидуальный индекс – 00315, ведомственный индекс – 003152.

Журнал выходит 1 раз в 3 месяца.
Цена свободная.

Подписано в печать: 19.06.2024
Дата выхода в свет: 28.06.2024

Тираж (Беларусь) 500 экз.
Тираж (Россия) 3000 экз.
Заказ №
Формат 165×240. Печать офсетная

Отпечатано

Производственное дочернее унитарное предприятие
«Типография Федерации профсоюзов Беларуси».
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий
№2/18 от 26.11.2013.
пл. Свободы, 23-103, г. Минск.
ЛП №02330/54 от 12.08.2013.

© «Гематология Трансфузиология Восточная Европа»

Авторские права защищены. Любое воспроизведение материалов издания возможно только с обязательной ссылкой на источник.

© УП «Профессиональные издания», 2024

© Оформление и дизайн УП «Профессиональные издания», 2024

© ООО «Вилин – Профессиональные издания», 2024

Беларусь

Главный редактор

Усс Анатолий Леонидович, доктор медицинских наук, профессор, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (Минск)

Редакционная коллегия

Белевцев Михаил Владимирович, кандидат биологических наук, заместитель директора по научной работе, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск)

Зуховицкая Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент 1-й кафедры внутренних болезней, Гродненский государственный медицинский университет (Гродно)

Искров Игорь Александрович, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий отделом онкогематологии, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (Минск)

Карпенко Федор Николаевич, доктор медицинских наук, Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск)

Климович Ольга Владимировна, кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по трансфузиологии, 6-я городская клиническая больница (Минск)

Кривенко Светлана Ивановна, доктор медицинских наук, доцент, заместитель главного врача по науке, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (Минск)

Лебедева Татьяна Викторовна, кандидат медицинских наук, ученый секретарь, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (Минск)

Миланович Наталья Феодосиевна, кандидат медицинских наук, заведующий отделением трансплантации костного мозга, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (Минск)

Потапнев Михаил Петрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом клеточных биотехнологий, Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск)

Пролесковская Инна Витальевна, кандидат медицинских наук, доцент, главный внештатный детский онкогематолог Министерства здравоохранения Республики Беларусь, заместитель директора по клинике Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск)

Рожко Александр Валентинович, доктор медицинских наук, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (Гомель)

Углова Татьяна Алексеевна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией клинических исследований научного отдела, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск)

Ходулева Светлана Александровна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней №1 с курсами эндокринологии и гематологии Гомельский государственный медицинский университет (Гомель)

Рецензируемое издание

Входит в Перечни научных изданий Республики Беларусь и Российской Федерации для опубликования результатов диссертационных исследований.

Журнал включен в базы данных EBSCO, Ulrich's Periodicals Directory, CNKI, РИНЦ.

Ответственность за точность приведенных фактов, цитат, собственных имен и прочих сведений, а также за разглашение закрытой информации несут авторы.

Редакция может публиковать статьи в порядке обсуждения, не разделяя точку зрения автора.

Ответственность за содержание рекламных материалов и публикаций с пометкой «На правах рекламы» несут рекламодатели.

Россия

Главный редактор

Рукавицын Олег Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, начальник гематологического центра Главного военного клинического госпиталя им. академика Н.Н. Бурденко Минобороны России (Москва)

Редакционная коллегия

Волошин Сергей Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент, руководитель клинического отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга, Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства (Санкт-Петербург)

Губкин Андрей Владимирович, кандидат медицинских наук, главный гематолог Центральной дирекции здравоохранения – филиала ОАО «РЖД» (Москва)

Капланов Камилл Даниялович, кандидат медицинских наук, заведующий гематологическим отделением, Городская клиническая больница им. С.П. Боткина (Москва)

Логина Мария Александровна, доктор биологических наук, помощник директора по деятельности Федерального регистра доноров костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, заведующий научно-исследовательской лабораторией прикладной иммуногенетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства"; профессор кафедры Микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Вятский государственный университет» (Киров)

Парамонов Игорь Владимирович - доктор медицинских наук, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства" (Киров).

Рагимов Алигейдар Агаалекпер оглы, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической трансфузиологии, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Москва)

Румянцев Александр Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, академик Российской академии наук, Президент центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева Минздрава России (Москва)

Стуклов Николай Игоревич, доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсами эндокринологии, гематологии и клинической лабораторной диагностики, Российский университет дружбы народов; главный научный сотрудник отделения высокодозной химиотерапии с блоком трансплантации костного мозга, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиала Национального медицинского исследовательского центра Радиологии Минздрава России (Москва)

Трахтман Павел Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением трансфузиологии, заготовки и процессинга гемопоэтических стволовых клеток, Центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева Минздрава России (Москва)

Шатохин Юрий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гематологии, Ростовский государственный медицинский университет (Ростов-на-Дону)

International scientific journal

HEMATOLOGY TRANSFUSIOLOGY

Eastern Europe

Hematologija Transfusiologija Vostochnaja Evropa

gemtrans.recipe.by
recipe-russia.ru

2024, volume 10, № 2

Founded in 2015

Belarus

Founder:

UE "Professional Editions";
GU "Republican Scientific and Practical Center of Pediatric Oncology,
Hematology and Immunology"; GU "Republican Scientific-Practical
Center of Transfusion and medical biotechnologies";
GU "Minsk Scientific-Practical Center
of Surgery, Hematology and Transplantology"

The journal is registered

in the Ministry of information
of the Republic of Belarus
Registration certificate № 1763 27.04.2015

Editorial address:

220049, Minsk, Knorin str., 17.
Phone: +375 (17) 322 16 77, (17) 322 16 78,
e-mail: gemtrans@recipe.by

Director Evtushenko L.

Deputy editor-in-chief Glushuk V.

Head of advertising and marketing Koval M.

Technical editor Nuzhyn D.

Russia

Founder and publisher:

LLC "Vilin – Professional Editions"

With the participation of the NGO "Association of hematologists"

The journal is registered

by the Federal Service for Supervision of Communications,
Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor)
October 30, 2015
Certificate ПИ No. ФЦ77-63513

Editorial address:

LLC "Vilin"
214522, Smolensk region, Smolensk district, rural settlement
Katynskoye,
Avtoremzavod village, 1A, office 413

e-mail: gemtrans@recipe.by

Director Rabkova N.

The electronic version of the journal is available on gemtrans.recipe.by,
recipe-russia.ru, on the Scientific electronic library eLibrary.ru,
in the East View database, in the electronic library system IPRbooks,
in the electronic catalogs on web-sites of agencies: LLC "Pressinform",
LLC "Kriektiv Servis Bend", LLC "Ekaterinburg-OPT", LLC "Globalpress"
In Belarus the subscription is made out through the Republican
unitary enterprise "Belposhta" individual index – 00315;
departmental index – 003152.

The frequency of journal is 1 time in 3 months.
The price is not fixed.

Sent for the press: 19.06.2024
Release date: 28.06.2024

Circulation is 500 copies (Belarus).
Circulation is 3000 copies (Russia).
Order №
Format 165×240.

Printed in printing house

© "Hematology Transfusiology Eastern Europe"

Copyright is protected. Any reproduction of materials of the edition is possible only with an obligatory reference to the source.

© "Professional Editions" Unitary Enterprise, 2024

© Design and decor of "Professional Editions" Unitary Enterp, 2024

© LLC "Vilin – Professional Editions", 2024

Belarus

Editor-in-chief

Anatoly L. Uss, Doctor of Medical Sciences, Professor, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology (Minsk)

Editorial Board

Mikhail V. Belevtsev, Candidate of Biological Sciences, Deputy Director for Research, Republican Scientific and Practical Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Minsk)

Elena V. Zukhovitskaya, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the 1st Department of Internal Diseases, Grodno State Medical University (Grodno)

Igor A. Iskov, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Oncohematology, Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology (Minsk)

Fedor N. Karpenko, Doctor of Medical Sciences, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (Minsk)

Olga V. Klimovich, Candidate of Medical Sciences, Deputy Chief Physician for Transfusiology, 6th City Clinical Hospital (Minsk)

Svetlana I. Krivenko, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Deputy Chief Physician for Science, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology (Minsk)

Tatyana V. Lebedeva, Candidate of Medical Sciences, Scientific Secretary, Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology (Minsk)

Natalia F. Milanovich, Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Bone Marrow Transplantation, Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology (Minsk)

Mikhail P. Potapnev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Cell Biotechnologies, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (Minsk)

Inna V. Proleskovskaya, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Chief Freelance Pediatric Oncohematologist of the Ministry of Health of the Republic of Belarus, Deputy Clinical Director of the Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Minsk)

Alexander V. Rozhko, Doctor of Medical Sciences, Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology (Gomel)

Tatyana A. Uglova, Candidate of Medical Sciences, Head of the Clinical Research Laboratory of the Scientific Department, Republican Scientific and Practical Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Minsk)

Svetlana A. Khoduleva, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Internal Diseases No. 1 with courses in endocrinology and hematology Gomel State Medical University (Gomel)

Peer-Reviewed Edition

The journal is included in the Lists of scientific publications of the Republic of Belarus and the Russian Federation for publishing the results of dissertation research.

The journal is included in the databases EBSCO, Ulrich's Periodicals Directory, CNKI, RSCI.

Responsibility for the accuracy of the given facts, quotes, own names and other data, and also for disclosure of the classified information authors bear.

Editorial staff can publish articles as discussion, without sharing the point of view of the author.

Responsibility for the content of advertising materials and publications with the mark "On the Rights of Advertising" are advertisers.

Russia

Editor-in-chief

Oleg A. Rukavitsyn, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Haematological Centre of Burdenko Main Military Clinical Hospital (Moscow)

Editorial Board

Sergey V. Voloshin, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Clinical Department of Chemotherapy of Hemoblastoses, Depressions of Hematopoiesis, and Bone Marrow Transplantation, Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency (Saint Petersburg)

Andrey V. Gubkin, Candidate of Medical Sciences, Chief Hematologist of the Central Directorate of Healthcare – the branch of the JSC "Russian Railways" (Moscow)

Kamil D. Kaplanov, Doctor of Medical Sciences, Head of the Hematology Department, Botkin City Clinical Hospital (Moscow)

Igor V. Paramonov, Doctor of Medical Sciences, Head of the Federal State Budgetary Institution of Science "Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency of Russia" (Kirov)

Maria A. Loginova, Doctor of Biological Sciences, Assistant Director for Activities of the Federal Bone Marrow Donor Registry, head of the of Research Laboratory of Applied Immunogenetics of the Federal State Budgetary Institution of Science "Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency of Russia"; professor of the Department of Microbiology of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Vyatka State University" (Kirov)

Aligeidar Agaalekper oglu Rahimov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Clinical Transfusiology, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow)

Alexander G. Rumyantsev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, President of the Rogachev Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow)

Nikolay I. Stuklov, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Hospital Therapy with the courses of Endocrinology, Hematology and Clinical Laboratory Diagnostics, Peoples' Friendship University of Russia; Chief Researcher of the Department of High-dose Chemotherapy with the Unit of Bone Marrow Transplantation, P. A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology – the branch of the National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of Russia (Moscow)

Pavel E. Trakhtman, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Transfusiology, Harvesting and Processing of Hematopoietic Stem Cells, D. Rogachev Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow)

Yuri V. Shatokhin, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Hematology, Rostov State Medical University (Rostov-on-Don)

Оригинальные исследования.

Научные публикации

Силина Н.Н., Головина О.Г., Корсакова Н.Е., Матвиенко О.Ю., Ефремова Е.В., Сидоркевич С.В.
Влияние терапии на функциональную активность микрочастиц плазмы крови у пациентов с Rh-негативными миелопролиферативными новообразованиями 129

Пролесковская И.В., Пахомова И.В., Вашкевич Е.П., Конопля Н.Е.
Методы диагностики и прогностическое значение минимальной метастатической и минимальной остаточной болезни при нейробластоме группы высокого риска у детей 138

Герасимович О.В., Искров И.А., Лендина И.Ю., Смольникова В.В.
Динамика субпопуляции лимфоцитов у пациентов с острым лейкозом на этапах индукционной терапии 153

Маршан Л.З., Искров И.А., Шепетько М.М., Лендина И.Ю.
Ингибитор белка BCL-2 в лечении резистентных и рефрактерных форм острого миелоидного лейкоза 164

Дашкевич Э.В., Романчук И.А., Коледа И.Н.
Криоконсервирование тромбоцитов и интегральная оценка их функциональных свойств 172

Обзоры. Лекции

Косенкова В.П., Неверова А.Л., Виноградова О.Ю.
Эпидемиологические аспекты ряда гемобластозов. Обзор литературы 184

Муха Л.А., Панкрашкина М.М., Виноградова О.Ю.
Диагностика и терапия первичной иммунной тромбоцитопении у взрослых пациентов.
Обзор литературы 198

Мурзабекова М.А., Марченко Я.М., Шихбабаева Д.И., Виноградова О.Ю.
Генетические аспекты классических Rh-негативных миелопролиферативных новообразований (обзор литературы) 210

Саридзе Э.Х., Зарембо С.А.
Практические вопросы коррекции гемодинамики 219

Врачебная практика

Герасимович О.В., Искров И.А., Лендина И.Ю., Смольникова В.В.
Вакцинопрофилактика у пациентов с острыми лейкозами: опыт одного центра 228

Третьяк Д.С., Трухан А.П., Гуляев А.А., Бузин А.Н.
Применение кровесберегающих технологий в лечении пациентов с огнестрельными и минно-взрывными ранениями 240

Организация и контроль

Жибурт Е.Б., Хамитов Р.Г., Похабов Д.С., Кузьмин Н.С., Мадзаев С.Р., Шалыгин Л.Д., Шестаков Е.А.
36-я конференция «Новое в трансфузиологии: нормативные документы и технологии»: что меняется? 248

Original research.

Scientific publications

Silina N., Golovina O., Korsakova N., Matvienko O., Efremova E., Sidorkevich S.
The Effect of Therapy on the Functional Activity of Plasma Microparticles in Patients with Ph-Negative Myeloproliferative Neoplasms 130

Proleskovskaya I., Pakhomava I., Vashkevich E., Konoplya N.
Diagnostic Methods and Prognostic Value of Minimal Metastatic and Minimal Residual Disease in High-Risk Neuroblastoma in Children 139

Gerasimovich O., Iskrov I., Lendina I., Smolnikova V.
Dynamics of the Lymphocyte Subpopulation in Patients with Acute Leukemia at the Stages of Induction Therapy 154

Marshan L., Iskrov I., Shapetska M., Lendina I.
BCL-2 Protein Inhibitor in the Treatment of Resistant and Refractory Forms of Acute Myeloid Leukemia 165

Dashkevich E., Romanchuk I., Koleda I.
Cryopreservation of Platelets and Integral Assessment of Their Functional Properties 173

Reviews. Lectures

Kosenkova V., Neverova A., Vinogradova O.
Epidemiological Aspects of Hemoblastoses. Literature Review 185

Muha L., Pankrashkina M., Vinogradova O.
Diagnosis and Treatment of Primary Immune Thrombocytopenia. Literature Review 199

Murzabekova M., Marchenko Ya., Shikhbabaeva D., Vinogradova O.
Genetic Aspects Classical Ph-negative Myeloproliferative Neoplasms (Literature Review) 211

Saridze E., Zarembo S.
Practical Issues in Hemodynamic Correction 219

Practice

Gerasimovich O., Iskrov I., Lendina I., Smolnikova V.
Vaccinal Prophylaxis in Patients with Acute Leukemia: Experience from One Center 229

Tretyak D., Trukhan A., Gulyaev A., Buzin A.
Application of Blood-Saving Technologies in the Treatment of Patients with Gunshot and Mine-Explosive Wounds 240

Organization and control

Zhiburt E., Khamitov R., Pokhabov D., Kuzmin N., Madzaev S., Shalygin L., Shestakov E.
36th conference "New in Transfusiology: Regulatory Documents and Technologies": What is Changing? 249



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.2.005>
УДК 616.155-006-085



Силина Н.Н.✉, Головина О.Г., Корсакова Н.Е., Матвиенко О.Ю., Ефремова Е.В., Сидоркевич С.В.

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

Влияние терапии на функциональную активность микрочастиц плазмы крови у пациентов с Rh-негативными миелопролиферативными новообразованиями

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Силина Н.Н. – идея исследования, формулировка цели и задач, участие в сборе материала, лабораторная/клиническая диагностика, статистическая обработка, написание рукописи; Головина О.Г. – идея исследования, формулировка цели и задач, участие в сборе материала, лабораторная/клиническая диагностика, статистическая обработка, написание рукописи; Корсакова Н.Е. – идея исследования, формулировка цели и задач, участие в сборе материала, лабораторная/клиническая диагностика, статистическая обработка, написание рукописи; Матвиенко О.Ю. – лабораторная/клиническая диагностика; Ефремова Е.В. – участие в сборе материала, клиническая диагностика; Сидоркевич С.В. – лабораторная/клиническая диагностика.

Финансирование. Работа не имела спонсорской поддержки.

Подана: 02.04.2024

Принята: 25.05.2024

Контакты: silina@niigt.ru

Резюме

Rh-негативные миелопролиферативные новообразования (МПН) – заболевания клональной природы, характеризующиеся аномальным развитием миелоидного ростка кроветворения. Тромбозы – частое клиническое проявление МПН. Существенную роль в их развитии вносит наличие в кровотоке микрочастиц (МЧ), которые образуются в результате внутрисосудистой активации клеток. Оценка коагуляционной способности МЧ позволит получить информацию о возможном влиянии терапии и/или профилактических мер на протромботическую направленность системы гемостаза у пациентов с МПН.

Цель. Сравнительная оценка влияния разных видов терапии на функциональную активность микрочастиц у пациентов с МПН.

Материалы и методы. Обследовано 119 пациентов с МПН, из которых с истинной полицитемией (ИП) было 44 человека: 22 получали антиагрегантную и 22 – комбинированную (циторедуктивную и антиагрегантную) терапию; 39 пациентов с эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ), терапия которых включала антиагрегантные и циторедуктивные препараты (13 человек) или только антиагрегантные (26 человек); из 36 пациентов с первичным миелофиброзом (ПМФ) 10 человек принимали антиагреганты, 12 – комбинированную терапию и 14 – таргетную терапию руксолитинибом. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц. Оценку коагуляционной активности МЧ производили методом калиброванной автоматизированной тромбинографии, определяя эндогенный потенциал тромбина (ЭПТ). Для статистической обработки использовали программы Microsoft Office Excel и Statistica 12.0.

Результаты. У пациентов с ИП, получающих профилактические дозировки ацетилсалициловой кислоты, было выявлено значимое повышение ЭПТ (PRP-reagent) относительно контрольной группы и выраженная тенденция к увеличению данного показателя по сравнению с результатами пациентов, принимающих комбинированную терапию ($p=0,143$). Пациенты с ЭТ, получающие циторедуктивные препараты, обнаружили тенденцию к росту показателя ЭПТ (PRP-reagent) относительно нормальных значений ($p=0,083$). У пациентов с ПМФ, принимающих антиагрегантные препараты, параметр ЭПТ (PRP-reagent) был достоверно выше, чем у пациентов, принимающих руксолитиниб. Показатели ЭПТ (MP-reagent), характеризующие участие ТФ МЧ в процессе генерации тромбина, независимо от терапии сохраняли тенденцию к увеличению относительно контрольных значений в каждой обследованной группе пациентов с МПН.

Заключение. Влияние терапии на функциональную активность МЧ плазмы крови обусловлено ограничением уровня генерации тромбина, зависимой от отрицательно заряженных фосфолипидов, на фоне приема циторедуктивных и/или таргетных препаратов. Уровень образования тромбина, обусловленный тканевым фактором микрочастиц, не зависит от применяемой терапии, что необходимо учитывать при назначении профилактических противотромботических препаратов у пациентов с МПН.

Ключевые слова: истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз, микрочастицы, антиагрегантная, циторедуктивная, таргетная терапия, тест генерации тромбина

Silina N., Golovina O., Korsakova N., Matvienko O., Efremova E., Sidorkevich S.
Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, Russia

The Effect of Therapy on the Functional Activity of Plasma Microparticles in Patients with Ph-Negative Myeloproliferative Neoplasms

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Silina N. – the idea of the study, the goals and objectives, participation in the collection of material, laboratory/clinical diagnostics, statistical processing, writing an article; Golovina O. – the idea of the study, the goals and objectives, participation in the collection of material, laboratory/clinical diagnostics, statistical processing, writing an article; Korsakova N. – the idea of the study, the goals and objectives, participation in the collection of material, laboratory/clinical diagnostics, statistical processing, writing an article; Matvienko O. – laboratory/clinical diagnostics; Efremova E. – participation in the collection of material, clinical diagnostics; Sidorkevich S. – laboratory/clinical diagnostics.

Funding. No financial support was received for this study.

Submitted: 02.04.2024

Accepted: 25.05.2024

Contacts: silina@niigt.ru

Abstract

Ph-negative myeloproliferative neoplasms (MPN) are clonal diseases characterized by abnormal hematopoiesis and thrombotic complications. It is known that a significant contribution to the development of prothrombotic potential in patients with MPN is



made by the appearance of microparticles (MP) in the bloodstream, which are result of intravascular activation of blood cells. MP expresses tissue factor (TF) and procoagulant phospholipids on their surface that can enhance prothrombogenic potential of blood plasma. Thus, unsafe and effective prevention of thromboembolic complications remains a major question in the management of these patients.

Purpose. To estimate the functional activity of microparticles in patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasms receiving the different therapy.

Methods. 119 patients with MPN were examined, of which 44 were with polycythemia vera (PV): 22 received antiplatelet and 22 – combined (cytoreductive and antiplatelet) therapy; 39 patients with essential thrombocytemia (ET): 26 received antiplatelet and 13 – combined (cytoreductive and antiplatelet) therapy; 36 patients with primary myelofibrosis (PMF) received antiplatelet therapy (n=10), combined therapy (n=12), and ruxolitinib (n=14) and 30 healthy controls. The coagulation activity of MP was measured by calibrated automated thrombinography (CAT). Microsoft Office Excel and Statistica 12.0 were used.

Results. ETP (PRP-reagent) in patients with PV receiving the antiplatelet therapy was significantly higher versus controls and tended to marked increase to the combined therapy values ($p < 0.143$). Patients with ET receiving the combined therapy had a tendency to rise of ETP (PRP-reagent) versus control ($p = 0.083$). In patients with PMF receiving the antiplatelet therapy the ETP (PRP-reagent) value was significantly higher than it with targeted therapy. The ETP (MP-reagent) values did not depend on therapy in patients with MPN.

Conclusion. The therapy influence on functional MP activity was restricted by thrombin generation depended on procoagulant phospholipids. Combined (antiplatelet plus cytoreductive) therapy in patients with PV and targeted therapy with ruxolitinib in patients with PMF leads to a significant decrease of thrombin generation caused by phospholipids of microparticles. Thrombin generation caused by TF of MP did not depend on therapy and had a tendency to increase in all patients with MPN.

Keywords: polycythemia vera, essential thrombocytemia, primary myelofibrosis, microparticles, antiplatelet, cytoreductive, targeted therapy, thrombin generation test

■ ВВЕДЕНИЕ

Истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) и первичный миелофиброз (ПМФ) – заболевания клональной природы, относящиеся к группе Ph-негативных миелолипролиферативных новообразований (МЛН). Отличительной особенностью является наличие аномальной пролиферации клеток миелоидного ростка кроветворения и соединительнотканых структур костного мозга [1]. Наиболее частыми и инвалидизирующими, а нередко и приводящими к летальному исходу (в 30–50% случаев) осложнениями являются артериальные и венозные тромбозы различной локализации [2, 3]. В настоящее время имеются данные о том, что частота венозных тромбоземболических осложнений (ВТЭО) различается при разных онкологических заболеваниях и зависит от локализации опухолевого процесса [4]. Самый

высокий риск ВТЭО имеют пациенты с онкогематологическими заболеваниями (относительный риск = 28; 95% доверительный интервал (ДИ) 4,00–199,70) [4]. С другой стороны, идиопатический тромбоз, а также тромбоз нетипичной локализации (вен брюшной полости – печеночной, портальной, брыжеечной) может быть первым проявлением злокачественного процесса у 10–20% пациентов, при этом большинство новообразований выявляются в течение первых 6–12 месяцев после тромботического эпизода [3–5].

Патогенез тромбоза у пациентов с МПН неразрывно связан с целым комплексом клинических факторов, таких как возраст, наличие тромбозов в анамнезе, ожирение, артериальная гипертензия и гиперлипидемия, а также изменения клеток крови, происходящие по причине клональной пролиферации гематопоетических стволовых клеток. Качественные нарушения лейкоцитов, тромбоцитов и эритроцитов включают экспрессию прокоагулянтов и адгезивных молекул, а также выраженное усиление секреции провоспалительных цитокинов, что обуславливает приобретение ими протромботического фенотипа [6]. Перечисленные особенности способствуют повышению вязкости крови, а также развитию эндотелиальной дисфункции и нарушению атромботических свойств сосудистой стенки. Существенный вклад в развитие протромботического потенциала крови вносит наличие в циркуляции микрочастиц (МЧ), которые появляются в результате внутрисосудистой активации клеток крови [7]. МЧ обнаруживаются в плазме крови при физиологических и различных патологических состояниях – отделяются от эндотелиоцитов и клеток крови (тромбоцитов, моноцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, эритроцитов) под действием разнообразных активирующих стимулов, а также в процессе их старения и апоптоза [8]. МЧ экспрессируют тканевой фактор (ТФ) и прокоагулянтные отрицательно заряженные фосфолипиды (ФЛ) на своей поверхности, что способствует росту уровня генерации тромбина, приводя к увеличению протромботического потенциала плазмы [9]. Для плазмы крови характерно присутствие МЧ, произведенных клетками крови и эндотелия при различных воздействиях. Самыми многочисленными и коагуляционно активными являются тромбоцитарные МЧ, которые составляют около 70–90% от общего числа МЧ. В условиях физиологической нормы в достаточном количестве встречаются лейкоцитарные, эритроцитарные и в меньшем количестве – эндотелиальные МЧ [10]. Благодаря особенностям процесса микровезикуляции МЧ несут на своей поверхности отрицательно заряженные ФЛ, которые могут служить местом сборки прокоагулянтных комплексов. Антигенный состав МЧ зависит от типа клеток, которые их образуют, и от природы стимула, приводящего к их высвобождению. ТФ, который является основным триггером коагуляционного каскада, представлен на МЧ, образованных клетками, экспрессирующими этот трансмембранный рецептор. Строение и биохимический состав МЧ дают возможность предполагать, что они могут участвовать в передаче различных активирующих стимулов, сопровождающих развитие иммунного ответа, воспалительных реакций, а также тромботических состояний [8].

У пациентов с ИП при наличии мутации JAK2V617F наблюдается повышенный процент МЧ плазмы крови тромбоцитарного происхождения [11, 12]. У пациентов с ЭТ наиболее высокие значения прокоагулянтных МЧ эритроцитарного и тромбоцитарного происхождения были выявлены у носителей мутации JAK2V617F независимо от наличия тромбоза, в отличие от пациентов, имеющих мутацию в гене CALR и тройных отрицательных (ТН) по всем драйверным мутациям [7, 13]. Белки МЧ вовлечены



в активацию тромбоцитов, в развитие иммунного/воспалительного, прокоагулянтного ответа и ангиогенез. Также наличие более высокого содержания мембранных маркеров эритроцитов, тромбоцитов, моноцитов и эндотелиоцитов у пациентов с ИП и ЭТ указывает на повышенное количество МЧ соответствующего происхождения [14–16]. Отмечается, что у пациентов с ИП и ЭТ, страдающих тромбозами и не получающих циторедуктивную терапию, был выявлен повышенный уровень прокоагулянтных МЧ, экспрессирующих ТФ [17]. У пациентов с ИП и ЭТ наблюдают резистентность к тромбомодулину (ТМ), которая, по мнению авторов, частично определяется циркулирующими МЧ и способствует развитию гиперкоагуляции у пациентов с МПН [18]. Таким образом, циркулирующие МЧ с высокой прокоагулянтной активностью можно расценивать как маркер тромботических осложнений. Тромбозы у этой категории пациентов могут возникать как до или во время постановки диагноза, так и/или после манифестации заболевания примерно с одинаковой частотой (20–25%) [11].

Таким образом, в связи с тем, что основным вопросом в ведении пациентов с МПН остается безопасная и эффективная профилактика тромбоэмболических осложнений, необходимо учитывать прокоагулянтный потенциал МЧ плазмы крови.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительная оценка влияния разных видов терапии на функциональную активность микрочастиц у пациентов с МПН.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 119 пациентов с МПН и 30 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту. Пациентов с ИП было 44, из них 22 получали антиагрегантную терапию профилактическими дозировками ацетилсалициловой кислоты (АСК) (медиана (Ме) возраста – 56,00, межквартильный интервал (Q1–Q3) – 43,00–61,00 года; мужчин (М) было 11, женщин (Ж) – 11). У всех пациентов выявлена мутация JAK2V617F. Тромбозы различной локализации были в анамнезе у 8 (36,36%) человек. Комбинированную терапию циторедуктивными и антиагрегантными препаратами назначили 22 пациентам (возраст Ме 66,00; Q1–Q3 60,00–69,00 года, М/Ж – 10/12). У 21 (95,45%) человека выявлена мутация JAK2V617F и у 1 (1,45%) – не наблюдалось искомой поломки. Тромбозы в анамнезе были у 5 (22,73%) пациентов. С диагнозом ЭТ наблюдали 39 человек. Из них антиагрегантную терапию препаратами АСК получали 26 пациентов (Ме возраста 45 лет, Q1–Q3 составил 34–57, 7 мужчин и 19 женщин). Мутация JAK2V617F обнаружена у 17 (65,38%) человек, CALR – у 6 (23,08%) и трипл-негативными были 3 (11,54%) человека, тромбозы в анамнезе отмечены у 7 (26,92%) пациентов этой группы с ЭТ. Комбинированную терапию циторедуктивными и антиагрегантными препаратами получали 13 пациентов с ЭТ (Ме возраста 64,5 года, Q1–Q3 составил 54,75–72,50, 5 мужчин, 8 женщин). Мутация JAK2V617F обнаружена у 8 (61,54%), CALR – у 3 (23,08%), трипл-негативными были 2 (15,38%) человека, тромбозы в анамнезе отмечены у 7 (53,85%) пациентов. Также под наблюдением находилось 36 пациентов с ПМФ: из них 10 человек принимали АСК (возраст 61,00; 56,00–71,00 года, М/Ж – 2/8). У 7 (70%) пациентов была выявлена мутация JAK2V617F и у 3 (30%) – CALR. Тромбоз в анамнезе был у 1 (10%) пациента с ПМФ. Комбинированную терапию (циторедуктивную и антиагрегантную) получали 12 человек (Ме возраста – 66,50, Q1–Q3 составил 62,50–68,75,

3 мужчин, 9 женщин). Мутация JAK2V617F обнаружена у 8 (66,67%) человек, CALR – у 4 (33,33%). Тромбозы в анамнезе отмечены у 1 пациента. Таргетная терапия руксолитинибом назначалась 14 пациентам (медиана возраста 65,00; Q1–Q3 – 57,00–67,00 года, соотношение мужчин и женщин – 2/12). Мутация JAK2V617F была выявлена у 7 (50%) пациентов, CALR – у 5 (35,71%), трипл-негативными были 2 (14,29%) человека. Тромбозы в анамнезе наблюдались у 1 (7,14%) пациента с ПМФ.

Генерацию тромбина исследовали в свободной от тромбоцитов плазме методом калиброванной автоматизированной тромбинографии (CAT) [19]. Были использованы следующие реагенты: FluCa-kit, PRP-reagent, содержащий rTF (1 пМ), MP-reagent, содержащий негативно заряженные фосфолипиды (4 мкМ), ингибитор контактной активации СТ1 (40 мкг/мл). Определяли эндогенный потенциал тромбина (ЭПТ, нМ*мин).

Статистическую обработку данных проводили при помощи программ Microsoft Office Excel и Statistica 12.0. Для представления результатов использовали Me и Q1–Q3. Для определения различий между группами применяли критерий Манна – Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные обследования пациентов с ИП представлены в табл. 1.

Отрицательно заряженные ФЛ оказывали выраженное влияние на рост ЭПТ (PRP-reagent) у пациентов с ИП, получающих только антиагрегантную терапию. В то же время у пациентов, получающих комбинированную терапию, данный параметр не отличался от такового в контрольной группе и имел выраженную тенденцию к снижению относительно пациентов, получающих препараты АСК ($p=0,143$). ТФ не оказывал значимого влияния на ЭПТ (MP-reagent) у пациентов обеих групп, хотя отмечалась тенденция к повышению относительно нормальных значений ($p=0,395$ для обеих групп пациентов). Между показателями пациентов, получающих различную терапию, разница не обнаружена (табл. 1).

Результаты, полученные при обследовании пациентов с ЭТ, представлены в табл. 2.

Данные, представленные в табл. 2, свидетельствуют об отсутствии изменений относительно референтных величин параметров ЭПТ (PRP-reagent) у пациентов с ЭТ, которые находились на антиагрегантной терапии, в то время как добавление в схему

Таблица 1

Показатели тромбинограмм у пациентов с ИП и в контрольной группе (Me; Q1–Q3)

Table 1

Parameters of thrombinogram in patients with PV and in the control group (Me; Q1–Q3)

Показатели	Антиагрегантная терапия, n=22	Комбинированная терапия (антиагрегантная + циторедуктивная), n=22	Контрольная группа, n=30
ЭПТ, нМ*мин (PRP-reagent)	654,91*, ** 405,03–869,98	417,98 326,06–607,19	471,84 384,25–564,09
ЭПТ, нМ*мин (MP-reagent)	695,46‡ 441,65–1093,96	700,41‡ 562,85–876,96	566,59 462,25–708,00

Примечания: * $p < 0,05$ различия между пациентами и контрольной группой; † $p < 0,4$ различия между пациентами и контрольной группой; ‡ $p < 0,4$ различия между пациентами, которые получают антиагрегантную или комбинированную терапию.



Таблица 2
Показатели тромбинограмм у пациентов с ЭТ и в контрольной группе (Me; Q1–Q3)

Table 2
Parameters of thrombinogram in patients with ET and in the control group (Me; Q1–Q3)

Показатели	Антиагрегантная терапия, n=26	Комбинированная терапия (антиагрегантная + циторедуктивная), n=13	Контрольная группа, n=30
ЭПТ, нМ*мин (PRP-reagent)	473,9** 370,2–720,3	585,2* 435,8–787,1	471,84 384,25–564,09
ЭПТ, нМ*мин (MP-reagent)	874,7* 409,3–1159,3	941,8* 484,4–1456,8	566,59 462,25–708,00

Примечания: * p<0,4 различия между пациентами и контрольной группой; ** p<0,4 различия между пациентами, которые получают антиагрегантную или комбинированную терапию.

Таблица 3
Показатели тромбинограмм у пациентов с ПМФ и в контрольной группе (Me; Q1–Q3)

Table 3
Parameters of thrombinogram in patients with PMF and in the control group (Me; Q1–Q3)

Показатели	Антиагрегантная терапия, n=10	Комбинированная терапия (антиагрегантная + циторедуктивная), n=12	Таргетная терапия, n=14	Контрольная группа, n=30
ЭПТ, нМ*мин (PRP-reagent)	605,42*, ** 487,24–887,79	399,8** 219,2–762,5	362,39* 270,43–498,59	471,84 384,25–564,09
ЭПТ, нМ*мин (MP-reagent)	729,31* 450,36–1168,22	597,6 397,3–1130,5	867,69* 372,36–1254,87	566,59 462,25–708,00

Примечания: * p<0,05 различия между группами пациентов и здоровых лиц; ** p<0,05 различия между пациентами, которые получают антиагрегантную или таргетную терапию; * p<0,4 различия между пациентами и контрольной группой; ** p<0,4 различия между пациентами, которые получают антиагрегантную или комбинированную терапию.

лечения циторедуктивных препаратов сопровождалось тенденцией к увеличению роли отрицательно заряженных ФЛ в генерации тромбина (p=0,083). Влияние ТФ на уровень ЭПТ (MP-reagent) не имело значимых последствий у пациентов обеих групп и ассоциировалось только с тенденцией к увеличению данного параметра относительно нормальных параметров (p=0,066 и p=0,060 у пациентов, получающих антиагрегантную или комбинированную терапию соответственно).

Показатели коагуляционной активности микрочастиц у пациентов с ПМФ представлены в табл. 3.

Результаты, приведенные в табл. 3, говорят о значимом увеличении относительно нормальных показателей ЭПТ (PRP-reagent) у пациентов с ПМФ, получающих антиагрегантную терапию. Также данный параметр значимо превышал показатели в группе пациентов, получающих таргетную терапию, что свидетельствует о влиянии руксолитиниба на снижение уровня генерации тромбина, обусловленного отрицательно заряженными ФЛ. Участие ТФ в генерации тромбина у пациентов с ПМФ, получающих антиагрегантную или таргетную терапию, выражалось лишь в тенденции к повышению показателя ЭПТ (MP-reagent) относительно контрольной группы (p=0,395 и p=0,186 соответственно). В то же время у пациентов, получающих циторедуктивные препараты, данный параметр не отличался от нормы. Между группами пациентов, получающих разную терапию, отличий не было обнаружено.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Одной из клинических особенностей МПН является ассоциация с развитием тромбозомболических осложнений (ТЭО), которые усугубляют тяжесть течения заболевания, а также приводят к увеличению смертности. В связи с этим профилактика и лечение ТЭО – важнейшие направления в ведении пациентов с МПН. Развитие гиперкоагуляционных состояний у пациентов с МПН связано с увеличением содержания и/или активности белков острой фазы, со снижением эффективности систем естественных антикоагулянтов, что в значительной степени обусловлено наличием определенных драйверных мутаций, распространенностью аномального клона и другими особенностями заболевания [20]. Значительно меньшее внимание уделяют влиянию МЧ плазмы крови на состояние гемостатического потенциала при данной патологии. Благодаря особенностям своего образования и строения МЧ обладают определенным коагуляционным потенциалом, который может вносить свой вклад в увеличение генерации тромбина [10]. Применение в нашей работе модификации ТГТ позволило определить уровень образования тромбина у обследованных пациентов, обусловленный отрицательно заряженными ФЛ или ТФ при использовании в качестве триггерных реактивов PRP-reagent и MP-reagent соответственно. Широкое распространение в качестве антитромботической профилактики получило использование антиагрегантов, в основном препаратов АСК, что обусловлено известной выраженной активацией тромбоцитов при данной патологии [21]. Как показали наши исследования, монотерапия антиагрегантными препаратами не оказывает выраженного эффекта на величину образования тромбина МЧ плазмы крови, обусловленного прокоагулянтными ФЛ: у пациентов с ЭТ величина ЭПТ (PRP-reagent) осталась в пределах нормальных значений, в то время как соответствующие параметры пациентов с ИП и ПМФ превышали референтные показатели. Добавление в схему лечения циторедуктивных препаратов, в основном гидроксимочевины, приводило к уменьшению клеточности и сопровождалось ограничением генерации тромбина за счет отрицательно заряженных ФЛ, о чем можно судить по тенденции к снижению показателя ЭПТ (PRP-reagent) у пациентов с ИП и ПМФ относительно параметров пациентов, получающих только антиагреганты. Однако у пациентов с ЭТ применение циторедуктивной терапии не приводило к такому эффекту. Наибольшее влияние на участие прокоагулянтных ФЛ в образовании тромбина отмечено у пациентов с ПМФ, получающих таргетную терапию руксолитинибом, результатом которой явилась выраженная тенденция к уменьшению показателя ЭПТ (PRP-reagent) относительно референтных показателей и значимое снижение данного параметра относительно результатов пациентов, получающих только препараты АСК. В отличие от прокоагулянтных ФЛ влияние ТФ МЧ плазмы крови на уровень образования тромбина практически не зависело от получаемой пациентами терапии. Так, у пациентов с ИП и ЭТ показатели ЭПТ (MP-reagent) независимо от терапии имели тенденцию к увеличению относительно параметров контрольной группы, не обнаружено различий между ними. У пациентов с ПМФ тенденция к росту относительно нормальных значений уровня генерации тромбина, зависимой от ТФ МЧ, выявлена в группах лиц, получающих антиагрегантную или таргетную терапию. Прием циторедуктивных препаратов ассоциировался с показателями ЭПТ (MP-reagent), не отличающимися от нормы. В то же время в каждой группе обследованных пациентов с ПМФ параметры ЭПТ (MP-reagent) не имели различий между собой, подчеркивая отсутствие влияния той или иной терапии на экспрессию ТФ МЧ плазмы крови.



■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Влияние терапии на функциональную активность МЧ плазмы крови у пациентов с МПН зависит от экспрессированных на них отрицательно заряженных ФЛ, участие которых в генерации тромбина ограничивается на фоне приема циторедуктивных или таргетных препаратов у пациентов с ИП и ПМФ, приводя к снижению уровня образованного тромбина. Проводимое лечение не оказывает значимого эффекта на гемостатический потенциал, который обусловлен тканевым фактором МЧ, что необходимо учитывать при назначении антитромботической терапии или профилактических мер пациентам с МПН.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Abdulkadirov K.M., Shuvaev V.A., Martinkevich I.S. *Myeloproliferative neoplasms*. Moscow: Litterra; 2016. 304 p. (In Russ.).
2. Zhang W., Qi J., Zhao S. et al. Clinical significance of circulating microparticles in Ph⁺ myeloproliferative neoplasms. *Oncology Letters*. 2017;14:2531–2536. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6459>.
3. Keohane C., McLoman D.P., Sanchez K. et al. The effects of JAK inhibitor therapy upon novel markers of thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. 2015;100:348–350. <https://doi.org/10.3324/haematol.2015.128918>.
4. Somonova O.V., Elizarova A.L., Blindar V.N. et al. Treatment of cancer-related thrombosis: from recommendations to real clinical practice. *Journal of Modern Oncology*. 2019;21(1):60–65. <https://doi.org/10.26442/18151434.2019.1.190247> (In Russ.).
5. Falanga A., Marchetti M. Thrombotic disease in the myeloproliferative neoplasms. *Hematology. Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:571–581. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2012.1.571>.
6. Landolfi R., Di Gennaro L. Pathophysiology of thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. 2011;96:183–186. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.038299>.
7. Charpentier A., Lebreton A., Rauch A. et al. Microparticle phenotypes are associated with driver mutations and distinct thrombotic risks in essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2016;101:365–368. <https://doi.org/10.3324/haematol.2016.144279>.
8. Matvienko O.U. (2013) *The role of plasma microparticles in the development of hypercoagulation* (PhD Thesis Abstract). Saint Petersburg, 22 p. (In Russian).
9. Zubairov D.M. *Molecular foundations of blood clotting and thrombosis*. Kazan, Fen: 2000:343–355. (In Russ.).
10. Momot A.P., Tsarigorodtseva N.O., Fedorov D.V., et al. Platelet microvesicles and their role in providing hemostatic capacity (literature review). *Siberian scientific medical journal*. 2020;40(2):4–14. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200201> (In Russ.).
11. Ahadon M., Abdul Aziz S., Wong Ch.L. Plasma-Derived Microparticles in Polycythaemia Vera. *Malaysian J Pathol*. 2018;40(1):41–48.
12. Catani L., Cavo M., Palandri F. The Power of Extracellular Vesicles in Myeloproliferative Neoplasms: "Crafting" a Microenvironment That Matters. *Cells*. 2021;10:2316. <https://doi.org/10.3390/cells10092316>.
13. Marchetti M., Tartari C.J., Russo L., et al. Phospholipid-dependent procoagulant activity is highly expressed by circulating microparticles in patients with essential thrombocythemia. *Am. J. Hematol*. 2014;89:68–73. <https://doi.org/10.1002/ajh.23590>.
14. Fel A., Lewandowska A.E., Petrides P.E. et al. Comparison of Proteome Composition of Serum Enriched in Extracellular Vesicles Isolated from Polycythemia Vera Patients and Healthy Controls. *Proteomes*. 2019;7:20. <https://doi.org/10.3390/proteomes7020020>.
15. Tan X., Shi J., Fu Y. et al. Role of erythrocytes and platelets in the hypercoagulable status in polycythemia vera through phosphatidylserine exposure and microparticle generation. *Thromb. Haemost.* 2013;109:1025–1032. <https://doi.org/10.1160/TH12-11-0811>.
16. Trappenburg M.C., van Schilfgaarde M., Marchetti M. et al. Elevated procoagulant microparticles expressing endothelial and platelet markers in essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2009;94:911–918. <https://doi.org/10.3324/haematol.13774>.
17. Taniguchi Y., Tanaka H., Luis E.J. et al. Elevated plasma levels of procoagulant microparticles are a novel risk factor for thrombosis in patients with myeloproliferative neoplasms. *Int. J. Hematol*. 2017;106:691–703. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1412098>.
18. Duchemin J., Ugo V., Ianotto J.C. et al. Increased circulating procoagulant activity and thrombin generation in patients with myeloproliferative neoplasms. *Thromb. Res*. 2010;126:238–242. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2010.06.025>.
19. Hemker H.C., Giesen P., R.A. Dierik R.A. et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 2003;33(1):4–15.
20. Melikyan A.L., Kovrigina A.M., Subortseva I.N., et al. National Clinical Guidelines on Diagnosis and Treatment of Ph-Negative Myeloproliferative Neoplasms (Polycythemia Vera, Essential Thrombocythemia, and Primary Myelofibrosis) (Edition 2020). *Clinical oncohematology*. 2021;14(2):262–98. <https://doi.org/10.21320/2500-2139-2021-14-2-262-298> (In Russ.).
21. Panteleev M.A., Novichkova G.A. Mechanisms of disturbance of platelet hemostasis at oncohematological diseases. *Pediatrics*. 2018;97(4):181–186. DOI: 10.24110/0031-403X-2018-97-4-181-186 (In Russ.).



Пролесковская И.В.¹✉, Пахомова И.В.¹, Вашкевич Е.П.¹, Конопля Н.Е.²

¹ Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

Методы диагностики и прогностическое значение минимальной метастатической и минимальной остаточной болезни при нейробластоме группы высокого риска у детей

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Пролесковская И.В., Конопля Н.Е.; сбор материала – Пролесковская И.В.; обработка материала и выполнение лабораторных тестов – Вашкевич Е.П., Пахомова И.В.; написание текста – Пролесковская И.В.; редактирование – Конопля Н.Е., Пролесковская И.В.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Подана: 09.04.2024

Принята: 10.05.2024

Контакты: proleskai@mail.ru, Pachomova.Irina@gmail.com, katsiaryna.vashkevich@gmail.com, n.konoplya@mail.ru

Резюме

Цель. Выбор методов оценки минимальной метастатической (ММБ) и минимальной остаточной болезни (МОБ) у пациентов с нейробластомой на момент постановки диагноза и на этапах терапии с последующей оценкой их прогностического значения.

Материалы и методы. В исследование включено 60 пациентов с первично диагностируемой нейробластомой группы высокого риска, проходивших лечение в ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии» в период с октября 2007 по август 2016 года. Материалом для исследования послужили образцы костного мозга (КМ) и аутологичной периферической стволовой клетки (ПСК) пациентов. Поражение КМ оценивалось на момент постановки диагноза с помощью 4 методов: световая микроскопия, проточная цитометрия, иммуноцитохимия, ПЦР в режиме реального времени (определение экспрессии генов ТН и РНОХ2В). Этапы терапии для оценки МОБ были выбраны следующие: ПСК, КМ на момент завершения индукционной фазы и момент завершения специального лечения.

Результаты. При проведении мультивариантного анализа было выявлено, что наличие ММБ в КМ на момент постановки диагноза, определяемой по уровню экспрессии гена РНОХ2В, выше предела отсечения в 0,366 HR 1,57 отрицательно влияет на показатели общей выживаемости пациентов с нейробластомой группы высокого риска. Для бессобытийной выживаемости значимым является наличие ММБ, определяемой морфологическим методом в КМ, выше предела отсечения в 20% нейробластов HR 3,1. На точку определения МОБ в ПСК наиболее информативным методом является проточная цитометрия, при этом наличие МОБ в ПСК является противопоказанием к ее использованию. Наличие МОБ в КМ момент окончания индукции, выявляемой по экспрессии генов ТН и РНОХ2В, отрицательно влияет на исход заболевания.



Выводы. Рекомендуются следующие методы для определения ММБ на момент постановки диагноза: проточная цитометрия (определение опухолеспецифического фенотипа), иммуноцитохимия (экспрессия GD2 антигена), ПЦР в режиме реального времени (экспрессия TH и PHOX2B). Для определения МОБ в ПСК предпочтительно использовать метод проточной цитометрии. Обнаружение клеток с опухолеспецифическим фенотипом в ПСК является противопоказанием к его использованию. На момент окончания индукционной терапии и завершения лечения МОБ оценивается с помощью ПЦР в режиме реального времени по уровню экспрессии генов TH и PHOX2B, а также иммуноцитохимии. Необходимо исследование как минимум двумя методами для исключения ложноположительных/ложноотрицательных результатов.

Ключевые слова: нейробластома, дети, минимальная метастатическая болезнь, минимальная остаточная болезнь, прогноз

Proleskovskaya I.¹, Pakhomava I.¹, Vashkevich E.¹, Konoplya N.²

¹ Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

² N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk, Belarus

Diagnostic Methods and Prognostic Value of Minimal Metastatic and Minimal Residual Disease in High-Risk Neuroblastoma in Children

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study – Proleskovskaya I., Konoplya N.; collection material – Proleskovskaya I.; processing of material and performing laboratory tests – Vashkevich E., Pakhomava I.; writing the text – Proleskovskaya I.; editing – Konoplya N., Proleskovskaya I.

Submitted: 09.04.2024

Accepted: 10.05.2024

Contacts: proleskai@mail.ru, Pachomova.Irina@gmail.com, katsiaryna.vashkevich@gmail.com, n.konoplya@mail.ru

Abstract

Purpose. To select methods for assessing minimal metastatic disease (MMD) and minimal residual disease (MRD) in patients with neuroblastoma at the time of diagnosis and during the times of therapy. Assessing the prognostic value of the presence of MMB and MRD in patients with neuroblastoma.

Materials and methods. In the process of work, to evaluate data on MMB and MRD, we used data on 60 patients with primary diagnosed high-risk neuroblastoma who were treated at the State Institution "Belarusian Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology" from October 2007 to August 2016. The material for the study was bone marrow (BM) and autologous peripheral stem cells (PBSC) from patients. Bone marrow (BM) involvement was assessed at the time of diagnosis using the following methods: light microscopy, flow cytometry, immunocytochemistry, real-time PCR (determining relative expression levels (REL) of the TH and PHOX2B genes). The following stages of therapy were selected to evaluate MRD: in the PBSC, in the BM at the time of completion of the induction phase and the time of completion of special treatment.

Results. At the time of diagnosis of the disease, MMD is determined by all 4 methods. When conducting a multivariate analysis, it was revealed that the presence of MMD, determined by the molecular biological method by the REL of the PHOX2B gene in the bone marrow, above the cut-off limit of 0.366 HR 1.57 negatively affects the OS of patients with high-risk neuroblastoma. For BM of patients with neuroblastoma, the presence of MMD, determined by morphological method in the bone marrow, is above the cutoff limit of 20% of neuroblasts HR 3.1. For the determination of MRD in PBSC, the most informative method is flow cytometry; the presence of MRD in PBSC positive by this method is a contraindication to its use. The presence of MRD in the bone marrow, detected by the REL of the TH and PHOX2B genes using a molecular biological method in the bone marrow of high-risk patients at the end of induction, negatively affects the outcome of the disease.

Conclusion. Methods for determining MRD at the time of diagnosis are as follows: flow cytometry (detecting a tumor-specific phenotype), immunocytochemistry (determining the expression of the GD2 antigen) in BM, real-time PCR (determining REL TH and PHOX2B indicators). To determine MRD in the harvested autograft (PBSC), it is preferable to use the flow cytometry method. The detection of cells with a tumor-specific phenotype in PSC is a contraindication to its use. MRD in BM at the end of induction therapy and completion of treatment is assessed using the REL of the TH and PHOX2B genes using real-time PCR, as well as immunocytochemistry. It is necessary to study at least two methods to exclude both false positive and false negative results.

Keywords: neuroblastoma, children, minimal metastatic disease, minimal residual disease, prognosis

■ ВВЕДЕНИЕ

Нейробластома составляет 10% от детских онкологических заболеваний. Более 40% пациентов на момент постановки диагноза имеют метастазы в костный мозг (КМ), кости, лимфоузлы, печень и другие органы. Для пациентов старше 1 года наличие поражения КМ означает отнесение их в группу высокого риска, в которой, несмотря на применение комплексного метода лечения, прогноз остается неудовлетворительным [1, 2].

Существующие в настоящее время методы оценки степени поражения КМ при нейробластоме имеют ряд недостатков. Так, чувствительность цитологических методов не превышает 0,1% [3, 4], определение экспрессии анти-GD2, несмотря на высокую чувствительность (одна позитивная клетка на 10^6 мононуклеарных клеток), не является опухолеспецифичным тестом, так как экспрессия GD2 характерна для клеток КМ и периферической крови (ПК) [5–7]. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени характеризуется высокой чувствительностью (одна позитивная клетка на 10^4 – 10^5 мононуклеарных клеток) и, следовательно, может являться методом выбора для оценки степени поражения КМ и мониторинга минимальной метастатической (ММБ) и минимальной остаточной болезни (МОБ) при нейробластоме [8–11].

Одной из наиболее важных характеристик маркера для указанной цели является его высокая специфичность для клеток нейробластомы: отсутствие экспрессии в нормальных компартаментах (КМ и ПК) и высокая экспрессия в опухолевой ткани.



Количественная ПЦР-диагностика таких наиболее часто используемых мишеней, как тирозингидроксилаза (ТН) [8, 10, 12, 13] и дисиалоганглиозид GD2, также демонстрируют слабую экспрессию в значительном количестве нормальных тканей [8, 10, 11, 15, 16]. Для других таргетов, таких как GAGE [17, 18], MAGE [19], PGP9.5 [20, 21], DDC [22], Cyclin D1 [23], ELVAL4 [8], фоновая экспрессия также была описана. Наличие экспрессии гена-мишени в нормальном КМ лимитирует чувствительность определения МОБ. Поэтому выявление специфических опухолевых маркеров является важным для более эффективной оценки поражения КМ и отслеживания МОБ.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В процессе проведения исследования использовались данные о 60 пациентах с первично диагностируемой нейробластомой группы высокого риска, проходивших лечение в ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии» в период с октября 2007 по август 2016 года. Постановка диагноза и терапия пациентов проводилась согласно клиническому протоколу NB 2004М. Распределение по полу: мальчики – 31 (51,6%), девочки – 29 (48,4%). Возраст пациентов варьировал от 0,46 до 10,34 года, медиана возраста составила 2,79 года. Распределение по стадиям: 1-я стадия – 3 пациента (5% от исследуемой группы), 3-я стадия – 5 пациентов (8,3%), 4-я стадия – 52 пациента (86,7%). Диагноз был верифицирован морфологически. Критериями включения пациентов в группу высокого риска были следующие показатели: наличие у пациента MYC-N-амплификации в опухоли, независимо от стадии болезни; 4-я стадия заболевания у пациентов старше 1 года на момент первичной диагностики.

Материалом для исследования послужили КМ и ПСК пациентов. Для оценки ММБ забор материала был осуществлен путем проведения пункции КМ из 4 точек (для детей старше 6 месяцев проводились 2 трепанобиопсии и 2 пункции КМ). На момент постановки диагноза поражение КМ оценивалось с помощью следующих методов: световая микроскопия, проточная цитометрия, иммуноцитохимия, ПЦР в режиме реального времени (определение показателей экспрессии генов ТН и PNOX2B). При оценке уровня экспрессии генов PNOX2B и ТН в образцах КМ, полученных из нескольких костей, учитывалось наибольшее значение исследуемого показателя. Наличие МОБ в образцах ПСК было исследовано с использованием указанных методов. Забор материала проводился после 2–4-го блока полихимиотерапии (ПХТ). Второй этап определения МОБ осуществлялся на момент окончания индукционного этапа лечения (после 6 циклов ПХТ), третий – на момент окончания лечения.

Оценка экспрессии генов ТН и PNOX2B с использованием ПЦР в режиме реального времени. Выделение КМ осуществлялось путем лизиса эритроцитов с последующей экстракцией тотальной РНК с использованием TRI-reagent в соответствии с инструкциями производителя. Для реакции обратной транскрипции был использован набор реагентов SuperScript™ III Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific, США). Определение показателей экспрессии генов ТН и PNOX2B осуществлялось методом полуколичественной ПЦР в режиме реального времени с использованием CFX96 Real-Time System (BIO-RAD, USA) [23].

Проточная цитометрия. Образец КМ (100–200 мкл) или ПСК (50 мкл) помещали в пробирки для проточной цитофлуориметрии и добавляли моноклональные антитела в следующей комбинации: Syto16 Green/ CD81 PE/ CD56 PE-Cy5/ CD45 PE-Cy7,

согласно инструкции производителя. Затем образцы перемешивали и инкубировали в течение 20 мин. при комнатной температуре в темноте. После инкубации проводили лизирование эритроцитов на автоматической станции Beckman Coulter TQprep, США, с использованием растворов для лизирования и фиксации. Учет и анализ результатов проводили на проточном цитофлуориметре Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США) в программе CXP. Учитывали не менее 500 тыс. Syto16 Green позитивных (ядросодержащих) клеток. В ходе анализа ядросодержащие, жизнеспособные клетки выделяли на точечных графиках Syto16 Green/SSC и FSC/SSC, затем на графике CD45/CD56 выделяли регион CD45-CD56+ клеток, среди которых определяли CD81+ популяцию. Атипичные клетки преимущественно имели высокую экспрессию CD56 маркера. Таким образом, количество диссеминированных или остаточных опухолевых клеток с фенотипом Syto16+CD45-CD56+CD81+ выражали как процент от всех ядросодержащих клеток. Положительным считали результат $\geq 0,01\%$.

Иммуноцитохимия для определения GD2-позитивных клеток в костном мозге. При первичной обработке биоматериала выделяли мононуклеарные клетки (МНК) на градиенте плотности Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich, Германия), согласно инструкции производителя. Из полученных таким способом МНК готовили 6 препаратов-цитоспинов диаметром 17 мм, содержащих 5×10^5 клеток. Для оценки полученных результатов использовали следующие морфологические критерии: клетки с круглыми ядрами, с зернистой структурой и небольшим количеством цитоплазмы рассматривались как положительные; клетки с незначительным показателем соотношения размеров ядра и цитоплазмы или имеющие типичные морфологические признаки кроветворных клеток, расценивались как отрицательные. Для оценки результатов также применялись иммуноцитологические критерии: клетки с выраженной красной окраской клеточной мембраны и цитоплазмы расценивались как положительные; слабая окраска, неравномерная окраска расценивалась как отрицательная.

В качестве контроля использовали нейробластомную клеточную линию IMR32. При окраске этой линии с использованием первичных анти-GD2 антител во всех клетках наблюдалось специфическое красное (положительное) окрашивание. При использовании первичных мышиных античеловеческих IgG2a антител (как отрицательный контроль) клетки данной линии давали только голубую (отрицательную) окраску.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы STATISTICA для Windows XP Professional. Для оценки достоверности различий был использован χ^2 -тест. Построение кривых выживаемости осуществлялось по методу Каплана – Майера, их сравнение – с использованием Log-rank test. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$. Для проведения мультивариантного анализа использовалось построение регрессии Кокса (модель пропорциональных рисков).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения ММБ в КМ у пациентов с нейробластомой группы высокого риска на точку постановки диагноза отражены в табл. 1.

Таким образом, наиболее чувствительными методами для определения ММБ в КМ у пациентов группы высокого риска с нейробластомой являются молекулярно-



Таблица 1
Результаты определения минимальной метастатической болезни в костном мозге пациентов с нейробластомой группы высокого риска

Table 1
Results of determining minimal metastatic disease in bone marrow of patients with high-risk neuroblastoma

Метод	Всего	ММБ+, n (%)	ММБ-, n (%)
Цитология	60	34 (56,7%)	26 (43,3%)
Проточная цитометрия	55	43 (78,2%)	12 (21,8%)
Иммуноцитология (GD2)	36	25 (69,4%)	11 (30,6%)
Экспрессия гена ТН	54	49 (90,7%)	5 (9,3%)
Экспрессия гена РНОХ2В	48	41 (85,4%)	7 (14,6%)

Примечание: ММБ – минимальная метастатическая болезнь.

биологические методы: определение относительного уровня экспрессии (ОУЭ) генов ТН и РНОХ2В в костном мозге.

Методом определения корреляционной зависимости Спирмена были определены коэффициенты корреляции между 4 методами определения ММБ в КМ и произведено их сопоставление с данными морфологического исследования. Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2
Коэффициенты корреляции между методами определения минимальной метастатической болезни в костном мозге пациентов с нейробластомой группы высокого риска

Table 2
Correlation coefficients between methods for determining minimal metastatic disease in bone marrow of patients with high-risk neuroblastoma

Метод	Цитология	Экспрессия гена ТН	Экспрессия гена РНОХ2В	ИФТ	Иммуноцитология (GD2)
Цитология	1,000000	0,748032	0,799053	0,731233	0,597503
ИФТ		0,634357	0,747533	1,000000	0,508871
Иммуноцитология, экспрессия GD2			0,637849	0,508871	1,000000
Экспрессия гена ТН				0,634357	0,628966
Экспрессия гена РНОХ2В					0,637849

Примечание: ИФТ – иммунофенотипирование.

Таблица 3
Медианно-квартильное распределение показателей минимальной метастатической болезни для количественных методов определения

Table 3
Median quartile distribution of minimal metastatic disease for quantitative methods

Метод, единица измерения	Всего, n	Минимум	25%	50%	75%	Максимум
Цитология, % нейробластов	60	0	5	20	70	100
ИФТ, % клеток с опухолевым иммунофенотипом	55	0	0,020	0,740	2,645	45,000
Экспрессия гена ТН	54	0	0,008	0,124	1,654	32,150
Экспрессия гена РНОХ2В	48	0	0,016	0,089	0,366	8,037

Примечание: ИФТ – иммунофенотипирование.

Таблица 4
Влияние минимальной метастатической болезни на прогноз заболевания
Table 4
Impact of minimal metastatic disease on disease prognosis

Метод, единица измерения	Порог отсечения	n	Ме наблюдения, года	ОВ	p	БВ	Ме наблюдения, года	p
Морфология, % атипичных клеток	≤20%	n=32	2,62	69±9%	0,015	60±10%	2,62	0,003
	>20%	n=28	2,57	34±11%		16±7%	1,51	
ИФТ, % клеток с опухолевым фенотипом	≤2,645%	n=41	3,76	65±8%	0,032	41±9%	2,58	0,0016
	>2,645%	n=14	1,61	21±17%		0	1,19	
Экспрессия гена TH	≤1,8	n=41	3,50	67±8%	0,009	47±9%	2,53	0,0187
	>1,8	n=11	1,26	15±14%		14±13%	1,19	
Экспрессия гена PNOX2B	≤0,366	n=36	3,63	67±10%	0,001	47±10%	2,55	0,033
	>0,366	n=12	1,53	24±14%		24±15%	1,26	
Иммуноцитология, экспрессия GD2	GD2-	n=11	4,48	58±17%	0,718	55±15%	2,58	0,448
	GD2+	n=25	2,42	47±14%		0	1,82	

Примечания: ОВ – общая выживаемость; БВ – бессобытийная выживаемость; ИФТ – иммунофенотипирование.

Как можно отметить из табл. 2, на точку постановки диагноза имеются сильные корреляционные связи между всеми методами определения ММБ в образцах КМ у пациентов с нейробластомой группы высокого риска. В табл. 3 отражено медианно-квартильное распределение количественных параметров определения ММБ на точку диагноза различными методами.

Для экспрессии GD2-ганглиозида такое представление данных невозможно, так как этот параметр оценивался качественно: наличие/отсутствие свечения на клетках.

Унивариантный анализ методом Каплана – Майера для каждого из методов, характеризующих ММБ на точку постановки диагноза. На точку постановки диагноза с помощью проведения унивариантного анализа методом Каплана – Майера для каждого из методов, характеризующих ММБ, были найдены пороги отсечения (cut-off), влияющие на общую выживаемость (ОВ) и бессобытийную выживаемость (БВ) пациентов с нейробластомой группы высокого риска.

Мультивариантный анализ параметров на точку постановки диагноза. Так как между методами, оценивающими ММБ на точку диагноза, выявлен высокий коэффициент корреляции, были построены мультифакторные модели, включающие возраст, стадию, наличие MYC-N амплификации и один из анализируемых параметров в точке отсечения, выявленной унивариантным анализом. При анализе, влияющем на ОВ, достоверной оказалась модель, представленная в табл. 5. Представленная модель достоверна, наибольшее влияние на ОВ при нейробластоме группы высокого риска оказывало наличие в КМ высоких показателей экспрессии гена PNOX2B (порог отсечения – выше 0,366).



Таблица 5
Мультифакторный анализ на точку диагноза для общей выживаемости
Table 5
Multivariate analysis at diagnosis for overall survival

Параметр	Порог отсечения	ОР	95% ДИ	p
Возраст	≤18 месяцев / >18 месяцев	0,65	0,1240–3,456	0,6178
Стадия	Локальные/метастатические	1,46	0,1451–14,788	0,7466
Амплификация MYCN	Нет/да	0,88	0,2882–2,686	0,8222
Экспрессия гена PNOX2B	≤0,366/>0,366	1,57	0,490–15,417	0,0086

Примечания: значение логрангового критерия = 10,95 on 4 df (p=0,0314); ОР – отношение рисков; ДИ – доверительный интервал.

Для БВ достоверной оказалась модель, отраженная в табл. 6. Таким образом, наличие на момент постановки диагноза более 20% нейробластов в КМ в мультифакторном анализе достоверно негативно сказывается на БВ HR 3.1.

Наличие МОБ в ПСК, используемых для проведения аутоТГСК, исследовалось следующими методами: проточная цитометрия (определение специфического фенотипа, иммуоцитохимия (определение GD2-позитивных клеток), ПЦР в режиме реального времени (оценка уровня экспрессии генов TH и PNOX2B).

С помощью методов иммуоцитохимии было исследовано 30 образцов трансплантата. Позитивных образцов выявлено не было. Молекулярно-биологическим методом определения ОУЭ гена PNOX2B было исследовано 43 образца. Позитивных образцов выявлено не было.

С помощью метода проточной цитометрии исследовано 42 образца, 2 из которых были позитивными. Показатель ОВ в группе с негативными образцами составил 64,8±9%, в группе с позитивными образцами 0 (p=0,00096), медиана наблюдения в первой группе составила 2,79 года (от 0,65 до 8,68 года) во второй – 1,37 года (от 1,33 до 1,4 года). Показатель БВ в группе с негативными образцами составил 47±9%, во второй 0% (p=0,0125), медиана наблюдения в первой группе составила 1,91 года (от 0,45 до 8,68 года), во второй – 1,09 года (от 1,03 до 1,25 года).

С помощью молекулярно-биологического метода определения ОУЭ гена TH было исследовано 47 образцов, 3 из них были позитивными. Общая выживаемость в группе с негативными образцами составила 61,4±9%, в группе с позитивными образцами –

Таблица 6
Мультифакторный анализ на точку диагноза для бессобытийной выживаемости
Table 6
Multivariate analysis at diagnosis for event-free survival

Параметр	Порог отсечения	ОР	95% ДИ	p
Возраст	≤18 месяцев / >18 месяцев	0,62	0,2518–1,556	0,3136
Стадия	Локальные/метастатические	0,81	0,1951–3,395	0,7747
Амплификация MYCN	Нет/да	0,93	0,4289–2,049	0,8713
Морфология, % нейробластов	≤20%/>20%	3,1	1,3604–7,077	0,0071

Примечания: значение логрангового критерия = 10,04 on 4 df (p=0,04); ОР – отношение рисков; ДИ – доверительный интервал.

33,3±2,7% (p=0,26), медиана наблюдения в первой группе составила 3,8 года (от 0,65 до 9,47 года), во второй – 2,42 года (от 1,79 до 5,9 года). Показатель БВ в группе с негативными образцами составил 45,1±9%, во второй – 33,3±2,7% (p=0,65), медиана наблюдения в первой группе составила 2,46 года (от 0,45 до 9,47 года), во второй – 1,86 года (от 1,46 до 5,95 года). Таким образом, экспрессия гена ТН в ПСК не имеет прогностического значения для ОВ и БВ для пациентов с нейробластомой группы высокого риска, что соответствует литературным данным [24].

Учитывая, что только один из методов (проточная цитометрия) определения МОБ в ПСК при проведении унивариантного анализа методом Каплана – Майера имел прогностическое значение, проведение многофакторного анализа в этой точке терапии нецелесообразно.

Таким образом, отрицательное значение МОБ в ПСК, определяемое методом иммунофенотипирования, по-видимому, не имеет прогностического значения. Наличие же МОБ в ПСК, определяемое данным методом, говорит о том, что такой материал не может быть использован для проведения аутоТГСК.

Оценка МОБ после окончания индукции. Наличие МОБ в КМ на этом этапе терапии исследовалось следующими методами: иммунофенотипирование (определение специфического фенотипа), иммуноцитохимия (определение GD2-позитивных клеток), молекулярно-биологический метод определения ОУЭ генов ТН и РНОХ2В.

Методом иммунофенотипирования КМ на эту точку был исследован у 36 пациентов, из них у 31 пациента результат отрицательный, у 5 – положительный. Методом иммуноцитохимии на эту точку КМ был исследован у 21 пациента, из них у 20 пациентов результат отрицательный, у 1 – положительный. В табл. 7 представлены данные по выживаемости с используемым пределом наличия либо отсутствия МОБ.

На рис. 1 отражена динамика снижения ОУЭ генов ТН и РНОХ2В в костном мозге от точки постановки диагноза к точке окончания индукции. Следует отметить значительное снижение ОУЭ обоих генов в костном мозге у пациентов группы высокого риска к моменту окончания индукционной терапии, примерно на 4–5 логарифмов у большинства пациентов.

При проведении унивариантного анализа влияния МОБ на ОВ и БВ пациентов с нейробластомой группы высокого риска был определен cut-off для ОУЭ генов ТН и РНОХ2В: 0,00018 и 0 соответственно. Результаты по ОВ и БВ пациентов группы высокого риска на точку окончания индукции в зависимости от наличия МОБ в КМ

Таблица 7

Результаты анализа выживаемости на точку окончания индукции методами проточной цитометрии и иммуноцитохимии

Table 7

The results of the analysis of survival at the end point of induction by methods of flow cytometry and immunocytochemistry

Метод, единица измерения	Порог отсечения	n	ОВ	p	БВ	p
ИФТ, % клеток с опухолевым фенотипом	0	31	52±11%	0,16	37±10%	0,40
	>0	5	100		50±25%	
Иммуноцитология, экспрессия GD2	0	20	86±9%	0,80	40±19%	0,34
	>0	1	100%		0	

Примечания: ОВ – общая выживаемость; БВ – бессобытийная выживаемость; ИФТ – иммунофенотипирование.

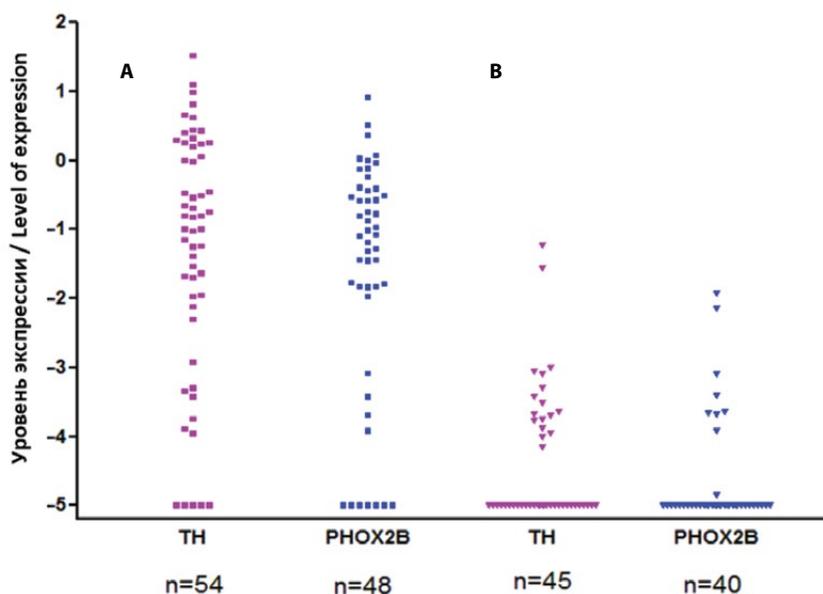


Рис. 1. Относительный уровень экспрессии генов TH и PHOX2B в костном мозге пациентов с нейробластомой высокой группы риска: А – на момент постановки диагноза; В – на момент окончания индукции

Fig. 1. Relative expression levels of TH and PHOX2B genes in the bone marrow of patients with high-risk neuroblastoma: A – at the time of diagnosis; B – at the end of induction therapy

по данным молекулярно-биологического исследования ОУЭ гена TH представлены на рис. 2 (А и В). Различия по ОВ и БВ статистически высокодостоверны. Для ОВ медиана наблюдения в первой группе составила 3,95 года (от 0,79 до 8,89 года) во второй – 1,8 года (от 0,91 до 6,32 года). Для БС медиана наблюдения в первой группе составила 2,58 года (от 0,79 до 8,89 года), во второй – 1,32 года (от 0,76 до 5,95 года).

Результаты по ОВ и БВ пациентов группы высокого риска на точку окончания индукции в зависимости от наличия МОБ в КМ по данным молекулярно-биологического исследования ОУЭ гена PHOX2B представлены на рис. 3 (А и В). Различия по ОВ и БВ статистически высокодостоверны. Для ОВ медиана наблюдения в первой группе составила 2,71 года (от 0,79 до 8,68 года), во второй – 4,02 года (от 0,91 до 6,32 года). Для БС медиана наблюдения в первой группе составила 2,57 года (от 0,79 до 8,68 года), во второй – 4,42 года (от 0,76 до 8,72 года).

Таким образом, наличие МОБ в костном мозге, выявляемой по ОУЭ генов TH и PHOX2B, определяемой с помощью ПЦР в режиме реального времени в образцах КМ пациентов группы высокого риска на момент окончания индукции, резко отрицательно влияет на исход заболевания. По-видимому, для данной когорты пациентов следует изменять подходы к терапии, так как применяемая для них стандартная терапия группы высокого риска неэффективна.

В табл. 8 и 9 приведена регрессионная модель Кокса для БС в зависимости от уровня экспрессии генов PHOX2B и TH.

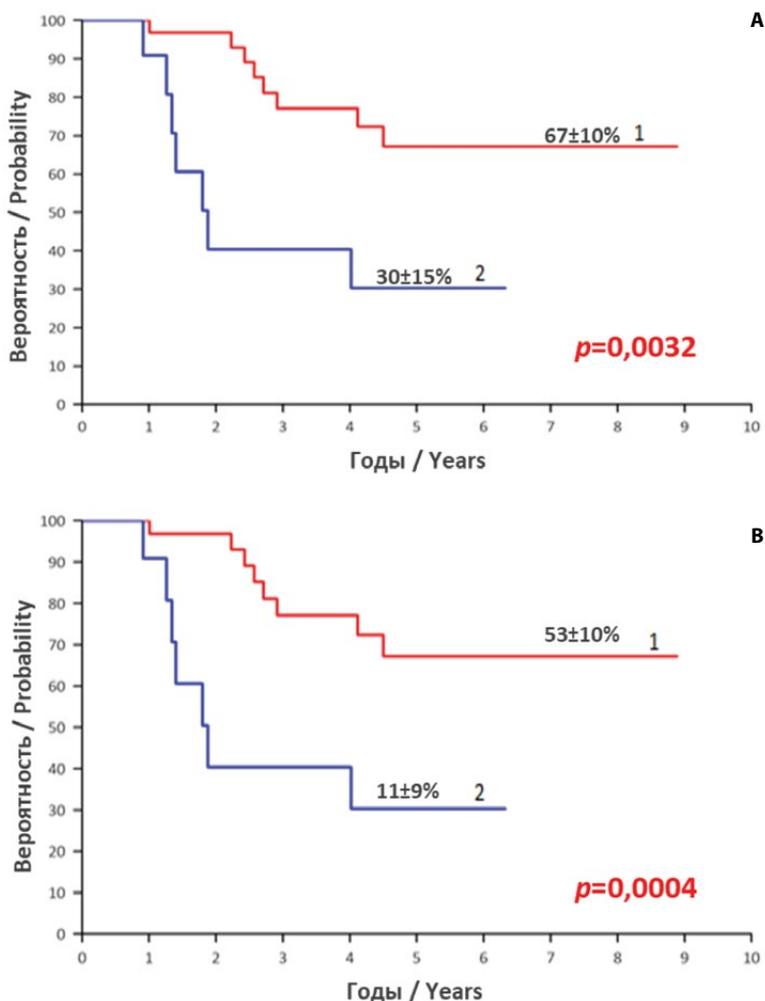


Рис. 2. Выживаемость пациентов с нейробластомой высокой группы риска в зависимости от уровня экспрессии гена TH: А – общая выживаемость; В – бессобытийная выживаемость; 1 – уровень экспрессии гена TH $\leq 0,00018$ (n=34); 2 – уровень экспрессии гена TH $> 0,00018$ (n=11)
Fig. 2. Survival of patients with high-risk neuroblastoma depending on the level of TH gene expression: А – overall survival; В – event-free survival; 1 – TH gene expression ≤ 0.00018 (n=34); 2 – TH gene expression > 0.00018 (n=11)

Таким образом, в многофакторной модели относительно БС и уровней экспрессии генов РНОХ2В и ТН являются наиболее мощными факторами прогнозирования события и единственно статистически значимыми в рамках рассматриваемых моделей. Так как статистическая значимость модели с ОУЭ гена РНОХ2В ($p=0,006$) выше, чем с ОУЭ гена ТН ($p=0,03$), то показатель ОУЭ РНОХ2В лучше прогнозирует наступление события (рецидива/прогрессии заболевания).

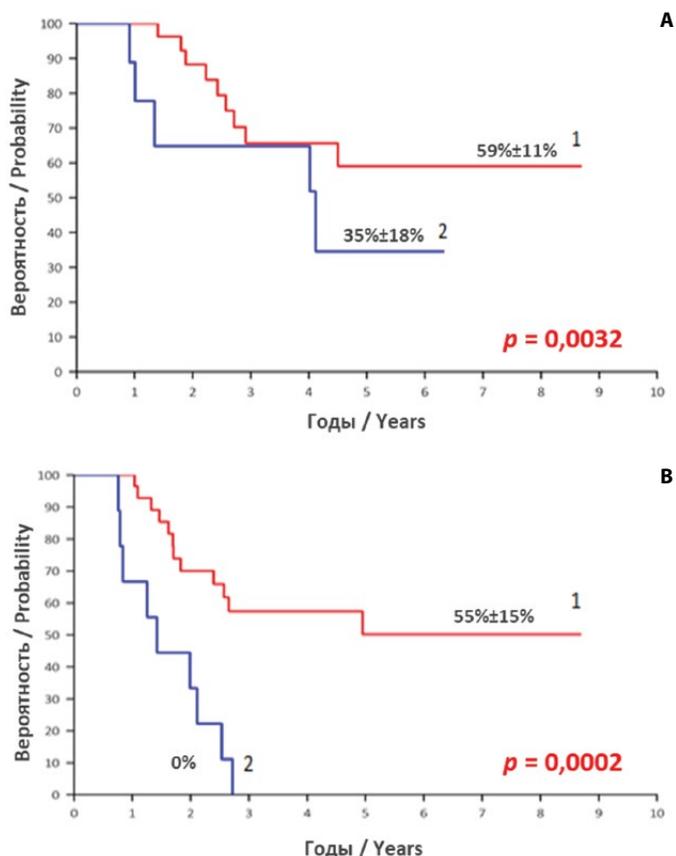


Рис. 3. Выживаемость пациентов с нейробластомой высокой группы риска в зависимости от уровня экспрессии гена PHOX2B: А – общая выживаемость; В – бессобытийная выживаемость; 1 – уровень экспрессии гена PHOX2B ≤ 0 (n=31); 2 – уровень экспрессии гена PHOX2B > 0 (n=9)
Fig. 3. Survival of patients with high-risk neuroblastoma depending on the level of TH gene expression: A – overall survival; B – event-free survival; 1 – PHOX2B gene expression ≤ 0 (n=31); 2 – PHOX2B gene expression > 0 (n=9)

Таблица 8

Регрессионная модель Кокса для бессобытийной выживаемости в зависимости от уровня экспрессии гена PHOX2B

Table 8

Cox regression model for event-free survival depending on the level of PHOX2B gene expression

Параметр	Порог отсечения	ОР	95% ДИ	p
Возраст	≤ 18 месяцев / > 18 месяцев	1,32	0,3773–4,630	0,6628
Стадия	Локальные/метастатические	1,75	0,3173–9,592	0,5221
Амплификация MYCN	Нет/да	0,89	0,2537–3,087	0,8479
Экспрессия гена PHOX2B	0,00001/ $>0,00001$	4,15	1,4679–11,706	0,0072

Примечания: значение логрангового критерия = 14,62 on 4 df ($p=0,006$); ОР – отношение рисков; ДИ – доверительный интервал.

Таблица 9
Регрессионная модель Кокса для бессобытийной выживаемости в зависимости от уровня экспрессии гена TH
Table 9
Cox regression model for event-free survival depending on the level of TH gene expression

Параметр	Порог отсечения	ОР	95% ДИ	p
Возраст	≤18 месяцев / >18 месяцев	1,39	0,4055–4,783	0,5988
Стадия	Локальные/метастатические	1,43	0,2580–7,9800	0,6801
Амплификация MYCN	Нет/да	0,73	0,2293–2,307	0,5886
Экспрессия гена TH	≤0,00018/>0,00018	3,42	1,3912–8,4230	0,0074

Примечания: значение логрангового критерия = 10,66 on 4 df (p=0,03); ОР – отношение рисков; ДИ – доверительный интервал.

Точка завершения специфической терапии. На точку завершения терапии КМ был исследован следующими методами: проточная цитометрия, иммуноцитохимия, ПЦР в режиме реального времени по ОУЭ генов TH и PNOX2B. Использовался cut-off 0 и больше 0 для тех методов, где имелись позитивные результаты. Результаты обследования и их связь с ОБ и БВ представлены в табл. 10.

Таким образом, на данную точку выявлено достоверное ухудшение БВ при наличии МОБ в КМ по данным иммуноцитохимии. Влияния наличия или отсутствия МОБ на прогноз заболевания для пациентов высокой группы риска, определяемого другими методами детекции, не обнаружено. Вероятнее всего, это связано с небольшим количеством обследованных пациентов. Регрессионный анализ на данном этапе терапии проводить нецелесообразно, учитывая то, что только ММБ, выявляемая иммуноцитологически, влияла на БВ пациентов с нейробластомой группы высокого риска.

Таблица 10
Влияние минимальной остаточной болезни в костном мозге пациентов с нейробластомой в период окончания специфического лечения на выживаемость
Table 10
Impact of minimal residual disease in the bone marrow of patients with neuroblastoma at the end of specific treatment on survival

Метод, единица измерения	Порог отсечения	n	ОБ/ОС	p	БВ/EFS	p
ИФТ, % клеток с опухолевым фенотипом	0	5	80±18%		60±21%	
Иммуноцитология, экспрессия GD2	0 >0	14 2	79±14% 50±35%	0,57	77±12% 0	0,04
Экспрессия гена TH	0 >0	11 2	100% 100%		90±9% 50±35%	0,27
Экспрессия гена PNOX2B	0	12	100		80±13%	

Примечания: ОБ – общая выживаемость; БВ – бессобытийная выживаемость; ИФТ – иммунофенотипирование.



■ ВЫВОДЫ

1. Были разработаны методы оценки определения ММБ и МОБ в образцах КМ и ПСК на этапах терапии пациентов с нейробластомой группы высокого риска.
2. На точку постановки диагноза имеются сильные корреляционные связи между всеми методами определения ММБ в КМ у пациентов с нейробластомой группы высокого риска. На эту точку с помощью проведения унивариантного анализа методом Каплана – Майера для каждого из методов, характеризующих ММБ, были найдены пороги отсечения (cut-off), влияющие на ОБ и БВ пациентов с нейробластомой группы высокого риска. Для морфологического метода порог отсечения составил 20% нейробластов в КМ, для проточной цитометрии – наличие клеток в костном мозге со специфическим фенотипом 2,645%, для молекулярно-биологического исследования уровня экспрессии гена TH в –1,8, для молекулярно-биологического исследования уровня экспрессии гена PNOX2B в –0,366.
3. Наиболее значимым фактором риска среди анализируемых (возраст – ≤18 месяцев / более 18 месяцев; стадия – локальная/метастатическая; MYC-N амплификация – нет/да; наличие ММБ вышеперечисленными методами), влияющим на ОБ пациентов с нейробластомой группы высокого риска, явилось наличие ММБ, определяемой молекулярно-биологическим методом по ОУЭ гена PNOX2B, выше предела отсечения в 0,366 HR 3,08. На БВ пациентов с нейробластомой среди тех же параметров влияет наличие ММБ, определяемой морфологическим методом, выше предела отсечения в 20% нейробластов HR 3,1.
4. Отрицательное значение МОБ в ПСК, определяемое методом проточной цитометрии, не имеет прогностического значения. Наличие же МОБ в ПСК, определяемой данным методом, говорит о том, что такой материал не может быть использован для проведения аутоТГСК.
5. На момент окончания индукции наличие МОБ в КМ, выявляемой по ОУЭ генов TH и PNOX2B с помощью молекулярно-биологического метода в КМ у пациентов группы высокого риска, отрицательно влияет на исход заболевания. По-видимому, у данной когорты пациентов следует изменять подходы к терапии, так как применяемая для них стандартная терапия группы высокого риска неэффективна. По данным регрессионного анализа Кокса на момент окончания индукции среди анализируемых параметров (возраст пациента, стадия заболевания, наличие MYC-N амплификации, ОУЭ генов TH и PNOX2B в КМ) на БС пациентов наибольшее влияние оказывает наличие экспрессии гена PNOX2B HR 4,15, данные статистически достоверны ($p=0,0072$).

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Cotterill S.J., Pearson D.J., Pritchard J. et al. Clinical prognostic factors in 1277 patients with neuroblastoma: Results of the European Neuroblastoma Study Group "Survey" 1982–1992. *J. Eur. Cancer.* 2000;36:901–08. doi: 10.1016/S0959-8049(00)00058-7.
2. Hartmann O., Valteau-Couanet D., Vassal G. et al. Prognostic factors in metastatic neuroblastoma in patients over 1 year age treated with high dose chemotherapy and stem cells transplantation: a multivariate analysis in 218 patients treated in single institution. *Bone marrow transplantation.* 1999;23:789–95. doi: 10.1038/sj.bmt.1701737.
3. Cheung N.K., Heller G., Kushner B.H., Liu C. et al. Detection on metastatic neuroblastoma in bone marrow: When is routine marrow histology insensitive? *J. Clin. Oncol.* 1997;15:2807–17. doi: 10.1200/JCO.1997.15.8.2807.
4. Méhes G., Luegmayr A., Kornmüller R. et al. Detection of disseminated tumor cells in neuroblastoma: 3 log improvement in sensitivity by automatic immunofluorescence plus FISH (AIPF) analysis compared with classical bone marrow cytology. *Am. J. Pathol.* 2003;163:393–9. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63669-3.

- Cheung I.Y., Cheung N.K. Quantitation of marrow disease in neuroblastoma by real-time reverse transcription-PCR. *Clin. Cancer Res.* 2001; 7:1698–705.
- Hoon D.S., Kuo C.T., Wen S. et al. Ganglioside GM2/GD2 synthetase mRNA is a marker for detection of infrequent neuroblastoma cells in bone marrow. *Am. J. Pathol.* 2001;159:493–500. doi: 10.1016/S0002-9440(10)61721-X.
- Martinez C., Hofmann T.J., Marino R. et al. Human bone marrow mesenchymal stromal cells express the neural ganglioside GD2: A novel surface marker for the identification of MSCs. *Blood.* 2007;109:4245–8. doi: 10.1182/blood-2006-08-039347.
- Viprey V.F., Corrias M.V., Kagedal B. et al. Standardisation of operating procedures for the detection of minimal disease by QRT-PCR in children with neuroblastoma: Quality assurance on behalf of SIOPEN-R-NET. *Eur. J. Cancer.* 2007;43:341–50. doi: 10.1016/j.ejca.2006.08.007.
- Méhes G., Luegmayr A., Ambros I.M. et al. Combined automatic immunological and molecular cytogenetic analysis allows exact identification and quantification of tumor cells in the bone marrow. *Clin. Cancer Res.* 2001;7:1969–75.
- Lambooy L.J., Gidding C.M., Heuvel L.P. et al. Real-time analysis of tyrosine hydroxylase gene expression: A sensitive and semiquantitative marker for minimal residual disease detection of neuroblastoma. *Clin. Cancer.* 2003;9:812–9.
- Swerts K., De Moerloose B., Benoit Y. Potential application of ELAVL4 real-time quantitative reverse transcription-PCR for detection of disseminated neuroblastoma cells. *Clin. Chem.* 2006;52:438–45. doi: 10.1373/clinchem.2005.059485.
- Horibe K., Fukuda M., Miyajima Y. et al. Outcome prediction by molecular detection of minimal residual disease in bone marrow for advanced neuroblastoma. *Med. Pediatr. Oncol.* 2001;36:203–4. doi: 10.1002/1096-911X(20010101)36:1<203::AID-MPO1049>3.0.CO;2-T.
- Parareda A., Gallego S., Roma J. et al. Prognostic impact of the detection of microcirculating tumor cells by a real-time RT-PCR assay of tyrosine hydroxylase in patients with advanced neuroblastoma. *Oncol. Rep.* 2005;14:1021–7.
- Iverson M.S., Kågedal B., Christensen L. et al. Comparison of immunocytochemistry, real-time quantitative RT-PCR and flow cytometry for detection of minimal residual disease in neuroblastoma. *Int. J. Oncol.* 2005;27:121–9.
- Kuçi Z., Seitz G., Kuçi S. et al. Pitfalls in detection of contaminating neuroblastoma cells by tyrosine hydroxylase RT-PCR due to catecholamine-producing hematopoietic cells. *Anticancer Res.* 2006;26:2075–80.
- Träger C., Kogner P., Lindskog M. et al. Quantitative analysis of tyrosine hydroxylase mRNA for sensitive detection of neuroblastoma cells in blood and bone marrow. *Clin. Chem.* 2003;49:104–12. doi: 10.1373/49.1.104.
- Cheung I.Y., Cheung N.K. Molecular detection of GAGE expression in peripheral blood and bone marrow: Utility as a tumor marker for neuroblastoma. *Clin. Cancer Res.* 1997;3:821–826.
- Oltra S., Martínez F., Orellana C. et al. Minimal residual disease in neuroblastoma: To GAGE or not to GAGE. *Oncol. Res.* 2004;14:291–5. doi: 10.3727/096504003773994824.
- Cheung I.Y., Barber D., Cheung N.K. et al. Detection of microscopic neuroblastoma in marrow by histology, immunocytology, and reverse transcription PCR of multiple molecular markers. *Clin. Cancer Res.* 1998;4:2801–5.
- Gilbert J., Norris M.D., Marshall G.M. et al. Low specificity of PGP9.5 expression for detection of micrometastatic neuroblastoma. *Br. J. Cancer.* 1997;75:1779–81.
- Mattano L.A., Moss T.J., Emerson S.G. Sensitive detection of rare circulating neuroblastoma cells by the reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Cancer Res.* 1992;52:4701–5.
- Bozzi F., Luksch R., Collini P. et al. Molecular detection of dopamine decarboxylase expression by means of reverse transcriptase and polymerase chain reaction in bone marrow and peripheral blood: Utility as a tumor marker for neuroblastoma. *Diagn. Mol. Pathol.* 2004;13:135–143. doi: 10.1097/01.pdm.0000128699.14504.06.
- Kushnerova E., Pahomova I., Proleskovskaya I. Evaluation of TH and PHOX2B gene expression using real-time PCR to diagnose metastatic bone marrow damage in neuroblastoma. *Bulletin of the National Academy of Sciences of Belarus. A series of biological sciences.* 2019;64:216–21. doi: 10.29235/1029-8940-2019-64-2-216-221.
- Viprey V.F., Gregory W.M., Corrias M.V. et al. Neuroblastoma mRNAs predict outcome in children with stage 4 neuroblastoma: A European HR-NBL1/SIOPEN study. *J. Clin. Oncol.* 2014;32:1074–83.



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.2.010>
УДК 616.155.392-036.11-085.847:612.112



Герасимович О.В.¹✉, Искров И.А.², Лендина И.Ю.¹, Смольникова В.В.¹

¹ Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Беларусь

² Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета, Минск, Беларусь

Динамика субпопуляции лимфоцитов у пациентов с острым лейкозом на этапах индукционной терапии

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Герасимович О.В. – концепция, дизайн и написание статьи, сбор и обработка данных, анализ и интерпретация результатов, подготовка статьи к опубликованию; Искров И.А. – существенный вклад в замысел и дизайн исследования, интерпретацию данных, написание статьи, окончательное одобрение варианта статьи для опубликования; Лендина И.Ю. – предоставление материалов исследования, участие в написании статьи, критический пересмотр статьи в части значимого интеллектуального содержания; Смольникова В.В. – предоставление материалов исследования, обработка данных, анализ и интерпретация результатов, окончательное одобрение рукописи.

Подана: 08.05.2024

Принята: 10.06.2024

Контакты: gerasimovichov@gmail.com

Резюме

Введение. Острые лейкозы являются иммуноопосредованными заболеваниями, тяжесть клинического состояния во многом определяется изменениями иммунной системы пациента, вызванными как самим заболеванием, так и проводимым патогенетическим лечением. Ведущими критериями возникновения инфекционных осложнений на основных этапах терапии острого лейкоза являются: период нейтропении, контаминация желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей этиологически значимой микрофлорой.

Цель исследования. Целью данного проспективного исследования в рамках реальной клинической практики была оценка клинического эффекта влияния снижения уровня IgG (функциональная гипогаммаглобулинемия) на риск развития инфекционных осложнений у взрослых пациентов с острым лейкозом.

Материалы и методы. В исследование были включены 49 взрослых пациентов с диагнозом «острый лейкоз», получивших индукционный этап полихимиотерапии. Исследуемая когорта набиралась по основному гематологическому диагнозу. Группа сравнения (инфекционные эпизоды во время цитопении) и контрольная группа были сопоставлены по клиническим и демографическим характеристикам. За первичный результат анализа было принято снижение уровня иммуноглобулина G от скрининговых показателей.

Результаты. Среди общего числа исследованных у 30 пациентов возникали инфекционные эпизоды в период цитопении. В группе сравнения уровень IgG статистически значимо был снижен в период цитопении на фоне инфекционного эпизода в сравнении с исходными значениями в скрининге, при сравнении с группой контроля.

Заключение. Частота инфекционных осложнений у пациентов с острым лейкозом может быть связана с функциональной гипогаммаглобулинемией (снижением уровня иммуноглобулина G от исходных значений).

Ключевые слова: инфекции в гематологии, острый лейкоз, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, иммуноглобулин, функциональная гипогаммаглобулинемия

Gerasimovich O.¹, Iskrov I.², Lendina I.¹, Smolnikova V.¹

¹ Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology, Minsk, Belarus

² Institute for Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Educational Institution "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus

Dynamics of the Lymphocyte Subpopulation in Patients with Acute Leukemia at the Stages of Induction Therapy

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Gerasimovich O. – concept, design and writing of the article, data collection and processing, analysis and interpretation of results, preparation of the article for publication; Iskrov I. – significant contribution to the idea and design of the study, interpretation of data, writing of the article, final approval of the version of the article for publication; Lendina I. – provision of research materials, participation in writing the article, a critical revision of the article in terms of significant intellectual content; Smolnikova V. – provision of research materials, data processing, analysis and interpretation of results, final approval of the manuscript.

Submitted: 08.05.2024

Accepted: 10.06.2024

Contacts: gerasimovichov@gmail.com

Abstract

Introduction. Acute leukemias are immune-mediated diseases, the severity of the clinical condition is largely determined by changes in the patient's immune system, caused both by the disease itself and by pathogenetic treatment. The leading criteria for the occurrence of infectious complications at the main stages of therapy for acute leukemia are: a period of neutropenia, contamination of the gastrointestinal tract and respiratory tract with etiologically significant microflora. At the present time it is necessary to evaluate the clinical effect influence of reducing the level of IgG (functional hypogammaglobulinemia) on the risk of infectious complications in adult patients with acute leukemia.

Materials and methods. The study included 49 adult patients diagnosed with acute leukemia who received the induction stage of therapy. The study cohort was recruited according to the main hematological diagnosis. The intervention group (infectious episodes during cytopenia) and the control group were matched by clinical and demographic characteristics. For the primary outcome in the analysis, the decrease in the level of immunoglobulin G from screening indicators was taken.

Results. Among total study subjects, 30 patients experienced infectious episodes during cytopenia. In the comparison group, the IgG level was statistically significantly reduced



during the period of cytopenia against the background of an infectious episode in comparison with the initial values in screening – lower than in the control group.

Conclusion. The frequency of infectious complications in patients with acute leukemia may be due to functional hypogammaglobulinemia (a decrease in the level of immunoglobulin G from baseline values).

Keywords: infections in hematology, acute leukemia, cellular immunity, humoral immunity, immunoglobulin, functional hypogammaglobulinemia

■ ВВЕДЕНИЕ

Сегодня достижения в области технологий вкупе с более глубоким пониманием иммунобиологии опухолей открыли двери для ряда новых эффективных иммунотерапевтических методов. Иммунобиология гематологических злокачественных новообразований, в частности острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), несколько отстает от открытий иммунной среды в солидных опухолях. Однако по мере того, как количество доступных иммунотерапевтических методов лечения, потенциально применимых к ОМЛ, продолжает расти, становится все более важным лучше определить иммунобиологию данной нозологии, чтобы выбрать и адаптировать иммунотерапию для этого лейкоза. На этапе дебюта гемобластоза дефицит клеток иммунной системы связан с цитопенией за счет замещения нормального кроветворения бластными клетками, иммунная защита организма работает за счет остаточной резервной части высокодифференцированных иммунокомпетентных клеток и нарабатанных ими антител. На стадии первичной атаки у пациентов с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) выявляется лимфоцитоз со сниженными относительными и абсолютными показателями пан-маркеров Т-лимфоцитов, нарушаются процессы активации лимфоцитов и увеличивается значение индекса активации Т-лимфоцитов [1, 449–51]. На начальной стадии острого миелоидного лейкоза формируется Т- и В-клеточный иммунодефицит, развивающийся вследствие снижения интенсивности внутриклеточных метаболических процессов в лимфоцитах [2, 913–17]. Подавление лимфоцитопоэза (Т- и В-клеток) способствует неэффективности клеточного и гуморального иммунного ответа у пациентов с острым лейкозом в будущем.

Костный мозг обеспечивает структуру микроокружения, поддерживающую развитие и функцию всех иммунных клеток, и действует как хозяин для различных типов зрелых клеток, включая В- и Т-клетки, плазматические клетки, дендритные клетки, нейтрофилы и макрофаги, которые находятся в нише костного мозга [3, 425–27]. Следовательно, ниша становится основным и важным местом взаимодействия раковых и иммунных клеток, и в результате этих взаимодействий лейкемические клетки должны распознаваться и устраняться. Однако во время лейкемогенеза пролиферирующие бласты влияют на дифференцировку и функцию иммунных клеток, что приводит к потере иммунного надзора и прогрессированию рака.

Острый миелоидный лейкоз, гематологическое злокачественное новообразование с высокой гетерогенностью, является наиболее распространенным лейкозом среди взрослых и обычно ассоциируется с плохим прогнозом [4, 424].

Сообщалось, что химиотерапия, как первая линия лечения ОМЛ, модулирует функцию Т-клеток [10], а устойчивое восстановление лимфоцитов после лечения предсказывает более высокую выживаемость [6, 2183–85]. Как иммунная микросреда коррелирует с клиническим ответом на химиотерапию и прогрессированием заболевания – представляет большой интерес.

Успешный противоопухолевый иммунитет зависит от способности эффекторных иммунных клеток распознавать и атаковать опухолевые клетки и предупреждать другие иммунные клетки [7, 5531–34]. Подобно солидным опухолям, ОМЛ способен создавать иммуносупрессивную среду, в которой как врожденные, так и адаптивные иммунные ответы сильно нарушены [8, 201–205]. Многие данные свидетельствуют о том, что бласты ОМЛ играют роль в создании этого статуса дисфункции посредством нескольких уникальных механизмов уклонения от иммунитета [9, 2463–65; 10]. Более того, сообщалось о том, что ОМЛ-бласты напрямую изменяют жизнеспособность CD8+ Т-клеток, экспансию, косигналинг и экспрессию маркеров старения *in vitro*, а реакция на терапию коррелирует с усилением костимулирующих, подавляющих апоптотических и ингибирующих сигнальных путей [11]. Несколько исследований показали, что CD8+ Т-клетки, экспрессирующие ингибирующие рецепторы, функционально нарушены и предсказывают рецидив ОМЛ [12, 749–54; 13, 1535–38]. Естественные киллеры (NK) и естественные киллероподобные Т (NKT) клетки продемонстрировали aberrantный фенотип при ОМЛ и могут влиять на клинический исход [7, 5533–34; 14, 1536]. Однако комплексного профилирования иммунологических характеристик в развитии и лечении ОМЛ все еще нет, и мало что известно о том, как иммунный статус коррелирует с ответом на химиотерапию, а также нет единой оценки влияния изменений в клеточном и гуморальном звене иммунитета на развитие инфекционных осложнений в периоды интенсивной терапии индукционного и консолидирующих этапов.

Острый лимфобластный лейкоз является результатом клональной экспансии аномальных лимфоидных предшественников В-клеточного (В-ОЛЛ) или Т-клеточного (Т-ОЛЛ) происхождения, которые проникают в костный мозг, периферическую кровь и экстрамедуллярные участки. Лейкозные клетки, помимо своей способности к пролиферации и избеганию дифференцировки, обусловленной онкогенами, также изменяют фенотип и функцию врожденных и адаптивных иммунных клеток, что приводит к уходу от иммунного надзора [15].

Как и другие опухолевые клетки, ОЛЛ-клетки из-за генетических изменений и дисрегулируемых посттрансляционных модификаций экспрессируют неоантигены и могут индуцировать опухолеспецифические Т-клеточные ответы. В самом деле, хотя ОЛЛ является злокачественным новообразованием с относительно низкой мутационной нагрузкой, недавние сообщения показывают, что лейкоэмические антиген-специфические Т-клетки присутствуют в микроокружении костного мозга [1, 451–52]. Также появляется все больше доказательств того, что естественные клетки-киллеры (NK) играют роль в иммунном надзоре за ОЛЛ [5, 2611–17]. Однако развитие острого лейкоза нарушает ключевые компоненты иммунной системы, ответственные за формирование противоопухолевого ответа, особенно у пациентов, плохо реагирующих на лечение, или на стадии рецидива [7, 5531–35]. Бластные клетки могут избегать распознавания и уничтожения иммунной системой с помощью различных механизмов, специфичных для конкретного типа опухоли, которые уже хорошо



задокументированы для солидных опухолей и только открываются при ОЛЛ. Подавление или потеря молекул лейкоцитарного антигена человека (HLA) класса I, что приводит к нарушению распознавания лейкоцитарных клеток цитотоксическими Т-лимфоцитами, является редким, но функционально значимым механизмом уклонения от иммунитета при ОЛЛ. Более того, недавние данные раскрывают механизм истощения Т-клеток, действующий при ОЛЛ [16, 2249–51], открывая возможность использования соответствующих ингибиторов иммунных контрольных точек для всех протоколов лечения. Наконец, новые высокопроизводительные методы, в частности секвенирование одноклеточной РНК, выявляют важную роль подавляющих популяций миелоидных клеток в стимулировании прогрессирования лейкемии и снижении эффективности лечения [17, 867–870].

Ведущими критериями возникновения инфекционных осложнений на основных этапах лечения острого лейкоза являются: степень и период нейтропении, а также контаминация желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей симбионтной и патогенной микрофлорой как основные факторы развития прорывных инфекций.

Однако вклад иммунной системы как предиктора развития инфекционных осложнений, включая клинический эффект снижения уровня IgG (функциональная гипогаммаглобулинемия) на риск инфекционных осложнений у взрослых пациентов с острым лейкозом, в настоящее время требует оценки.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить клинический эффект независимого влияния снижения уровня IgG (функциональная гипогаммаглобулинемия) на риск возникновения инфекционных осложнений у взрослых пациентов с острым лейкозом.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнялось на базе ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» в период 2021–2022 гг. В проспективную выборку были включены 49 взрослых пациентов с диагнозом «острый лейкоз», получивших индукционный этап терапии: 31 пациент с ОМЛ, получавший специфическое лечение – курс индукционной химиотерапии по схеме «7+3», 2 пациента со смешанным клеточным вариантом с миелоидным преобладанием, 6 пациентов с ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией, 2 пациента со вторичным ОМЛ в результате трансформации из миелодиспластического синдрома (МДС), получивших индукционный курс полихимиотерапии по FLAG-Ida, 2 пациента с ОЛЛ на программной терапии согласно протоколу Hyper-CVAD/HMA (курс Hyper-CVAD-1) и 6 пациентов с ОЛЛ на программной терапии по протоколу CALGB. Распределение по нозологии: 39 пациентов с ОМЛ, 8 пациентов с ОЛЛ (В-ОЛЛ – блоковая высокодозная терапия, Т-ОЛЛ – длительная программная терапия, Ph+ ОЛЛ – длительная программная терапия), 2 пациента с ОЛ со смешанно-клеточным вариантом. Исходные характеристики пациентов, включенных в исследование, представлены в таблице.

Соотношение по половому признаку – 1:1,3 (женщины:мужчины).

Средний возраст составил 37 лет.

В период цитопении от инфекционных осложнений умерло 9 пациентов.

Инфекционные осложнения на этапе индукционной терапии: парапроктит – 9, инфекция кровотока (*Kl. pneumoniae*) – 4, пневмония – 10, инфекция COVID-19 – 7.

В исследовании использовались следующие статистические методы: для всех исходных параметров была рассчитана описательная статистика по группам сравнения. Различия в изменениях от исходного уровня между группами оценивались с помощью непараметрических тестов (Вилкоксона – Манна – Уитни). Мера вариативности и дельта уровня иммуноглобулина G в группах контроля и сравнения оценивалась межквартильным размахом и представлена на графике блочной диаграммы с ограничителями выбросов. Результаты считались значимыми при $p \leq 0,05$. Диагноз инфекционного осложнения выставлялся с помощью стандартных микробиологических методов, с использованием клиничко-рентгенологических данных, автоматического бактериологического анализатора VITEK 2 (Biomerieux, Франция) и результатов посева и микроскопии мокроты, посева крови на стерильность.

Группа сравнения (инфекционные эпизоды во время цитопении) и контрольная группа были сопоставлены по демографическим, клиническим характеристикам и лабораторным показателям, не различались статистически ($p > 0,05$). За первичный

Исходные характеристики пациентов, включенных в исследование
Baseline characteristics of patients included in the study

Характеристика	Показатель, n (%)
Возраст, Ме	37 лет
Женский пол	18 (46,1)
Основное заболевание:	
ОМЛ	
– первичные	31 (63,3)
– с МДС-ассоцииров. фенотипом	6 (12,2)
– вторичные как трансформ. из МДС	2 (4,1)
ОЛЛ	
– Т-ОЛЛ	6 (12,2)
– В-ОЛЛ, Ph–	1 (2,0)
– В-ОЛЛ, Ph+	1 (2,0)
Бифенотипический лейкоз	2 (4,1)
Инфекционный статус на момент скрининга:	
– без инфекционных осложнений	26 (53,1)
– ангина	5 (10,2)
– парапроктит	5 (10,2)
– гнойный гидраденит	2 (4,1)
– фурункулез	3 (6,1)
– COVID-19-инфекция	8 (16,3)
Уровень иммуноглобулина G на момент скрининга (мг/л):	
– $\geq 9,0$	35 (71,4)
– менее 9,0	14 (28,6)
Инфекционные осложнения на этапе индукционной терапии:	
– без инфекционных осложнений	19 (38,8)
– парапроктит	9 (18,4)
– инфекция кровотока (Kl. pneumoniae)	4 (8,2)
– пневмония	10 (20,4)
– COVID-19-инфекция	7 (14,3)



результат анализа было принято снижение уровня иммуноглобулина G (IgG) в период цитопении в сравнении со скрининговыми показателями и снижение уровня CD3+ и CD19+ клеток от уровня референсного интервала на этапе отстройки кроветворения после проведения индукционного курса полихимиотерапии (медиана +21 сутки после курса).

Мы провели проспективное исследование для выполнения фенотипического и функционального анализа различных лимфоцитов (включая CD4+ Т-лимфоциты, CD8+ Т-лимфоциты, NK-клетки, NKT, $\gamma\delta$ Т- и В-клетки) для расшифровки иммунного ландшафта у пациентов с ОЛ. Был выполнен анализ клеточного звена иммунного статуса у пациентов с острыми лейкозами на момент постановки диагноза и начала химиотерапии, а также в период отстройки кроветворения после проведения индукционного курса полихимиотерапии. Анализ выполнялся по данным иммунологического исследования периферической крови методом проточной цитофлуориметрии на аппарате FACSLyric (Becton Dickinson, США), оснащенном тремя лазерами 488 нм, 633 нм и 405 нм с детекцией 10 каналов флуоресценции. Сбор и анализ данных проводили в рабочей программе FACSuite (v.5.1).

Включенные пациенты были оценены по клиническим и демографическим характеристикам (по результату регрессионного анализа не влияющие на развитие клеточного иммунодефицита, $p=0,27$).

Также определены динамика изменения уровня иммуноглобулина G (IgG) в период цитопении в сравнении со скрининговыми показателями и снижение уровня CD3+ и CD19+ клеток от уровня референсного интервала на этапе отстройки кроветворения после проведения индукционного курса полихимиотерапии (медиана +21 сутки после курса).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение клеточных пулов иммунограммы у пациентов с ОЛ на момент постановки диагноза и начала химиотерапии, а также в период отстройки кроветворения после проведения индукционного курса полихимиотерапии представлено на рис. 1.

В группе пациентов с ОМЛ медиана уровня CD3+ лимфоцитов 0,636 тыс/мкл (при референсном интервале нормы 1,1–1,7 тыс/мкл), медиана CD19+ лимфоцитов – 0,0025 тыс/мкл (0,2–0,4 тыс/мкл). Распределение в группе пациентов с ОЛЛ: CD3+ клетки – 0,41 тыс/мкл, CD19+ клетки – 0,0365 тыс/мкл. При этом доля CD3+ клеток в общем пуле лимфоцитов у пациентов с ОМЛ 87,8%, у пациентов с ОЛЛ – 85,15%.

Соотношение клеток CD3+/CD19+ на этапах скрининга и отстройки кроветворения составило 5,5:1 и 8,5:1 соответственно (рис. 2).

На этапе скрининга клеточное распределение у пациентов с ОМЛ: соотношение Т-/В-/ЕК-клеток соответствует референтным значениям иммунограммы; в пуле Т-лимфоцитов преобладают в процентном и абсолютном количестве Т-хелперы (CD3+ CD4+), в то время как пул В-клеток представлен в основном зрелыми наивными В-клетками (CD19+ CD27– IgD+ IgM–) (рис. 3).

На этапе отстройки кроветворения и контроля (+14–21-й дни и +30–35-й дни): абсолютное и процентное соотношение Т- и В-лимфоцитов смещается в сторону Т-лимфоцитов (абсолютный и относительный дефицит В-клеток). При этом пул Т-клеток представлен более чем в 75% случаев Т-хелперами (соотношение Тх/Тс от нормы в 1–1,5 смещается к 10).

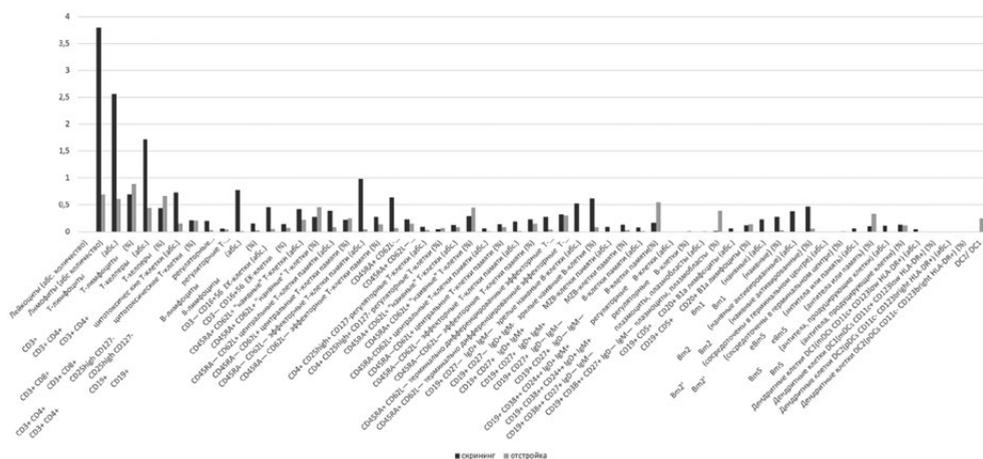


Рис. 1. Распределение показателей в абсолютном и относительном количестве клеток иммунного ландшафта на этапе атаки и в период отстройки кроветворения у пациентов с острым лейкозом
Fig. 1. Distribution of indicators in the absolute and relative number of cells of the immune landscape at the stage of attack and during the period of hematopoietic deconstruction in patients with acute leukemia

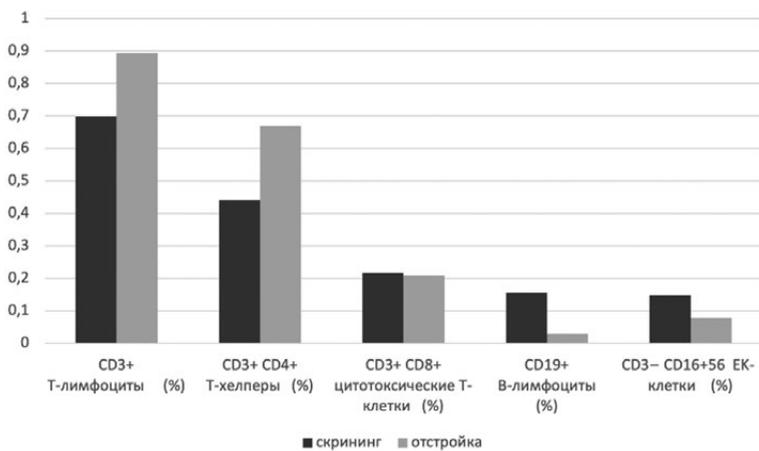


Рис. 2. Доли основных субпопуляций лимфоцитов в периоды скрининга и отстройки кроветворения на этапе индукционной терапии (%)
Fig. 2. Proportions of the main subpopulations of lymphocytes during the periods of screening and hematopoietic development at the stage of induction therapy (%)

В пуле CD19+ клеток преобладающим классом являются В-клетки памяти (CD19+ CD27+ IgD- IgM-) как в группе пациентов с ОМЛ, так и у пациентов с ОЛЛ: 71,15% и 64,9% соответственно (рис. 4).

Среди общего числа исследованных у 23 пациентов имели место инфекционные осложнения на этапе верификации диагноза, у 30 пациентов инфекционные эпизоды возникли в период цитопении.

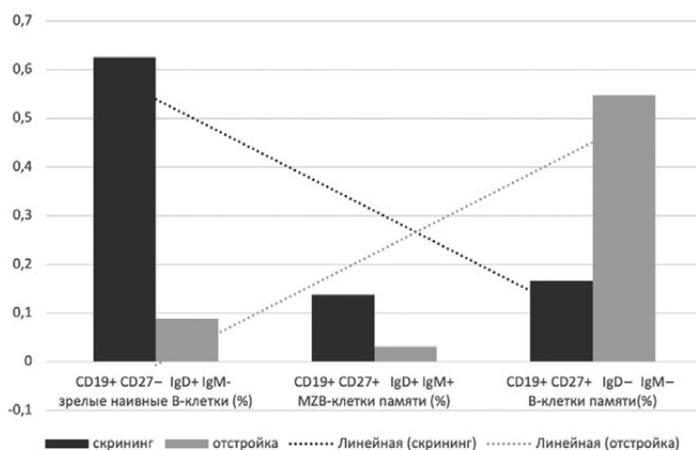


Рис. 3. Доли основных субпопуляций В-лимфоцитов в периоды скрининга и отстройки кроветворения на этапе индукционной терапии (%)
Fig. 3. Proportions of the main subpopulations of B-lymphocytes during the periods of screening and hematopoietic development at the stage of induction therapy (%)

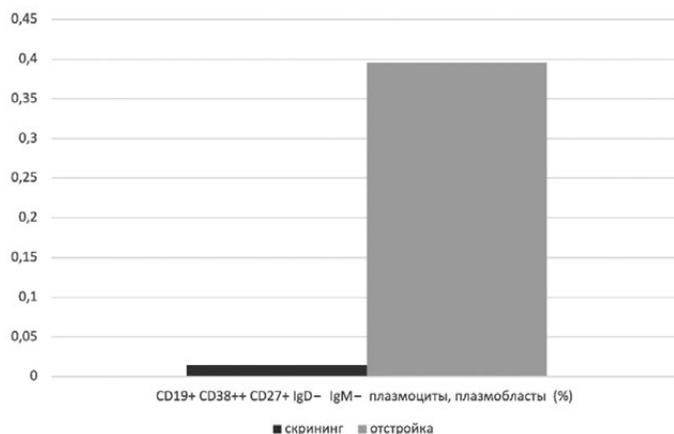


Рис. 4. Доля В-клеток памяти на этапах скрининга и отстройки кроветворения после индукционной терапии (%)
Fig. 4. Proportion of memory B cells at the stages of screening and hematopoiesis after induction therapy (%)

Среднее значение уровня IgG на этапе скрининга в группе с развитием инфекционных эпизодов 14,64 (95% CI 10,66–23,41) в сравнении с группой без инфекции – 9,01 (95% CI 5,94–18,04). Среднее значение уровня IgG в период цитопении в группе с развитием инфекционных эпизодов 10,04 (95% CI 5,99–14,66) против группы без инфекции – 8,82 (95% CI 5,6–16,39). На рис. 5 представлена разница в изменении уровня IgG у пациентов с ОМЛ при постановке диагноза (в скрининге) и в период цитопении

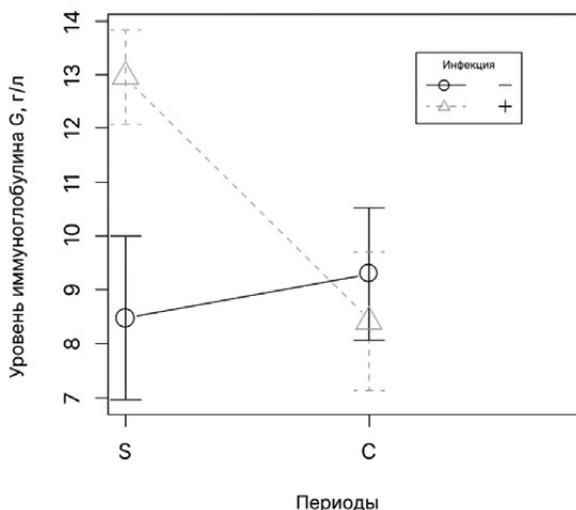


Рис. 5. Дельта снижения уровня иммуноглобулина G у пациентов с ОМЛ в зависимости от наличия или отсутствия инфекционного эпизода

Fig. 5. Delta reduction in immunoglobulin G levels in patients with AML depending on the presence or absence of an infectious episode

после проведенного курса полихимиотерапии в зависимости от возникновения инфекционного эпизода в этот период.

В группе сравнения уровень IgG был статистически значимо снижен в период цитопении на фоне инфекционного эпизода по сравнению с исходными значениями при скрининге, чем в контрольной группе (уровень дельта IgG 3,99 против уровня дельта IgG 0,2; $p=0,01$).

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Выполненное исследование было направлено на получение данных о достоверном снижении уровня IgG (функциональная гипогаммаглобулинемия) при возникновении инфекционных осложнений у взрослых пациентов с острым лейкозом в период цитопении. Полученные данные свидетельствуют о том, что независимо от стартовых показателей уровней иммуноглобулина G при развитии инфекционных осложнений в период цитопении изменение этого показателя более значимо, чем в группе пациентов без развития инфекционных эпизодов, что достоверно может указывать на функциональную несостоятельность данного класса иммуноглобулинов в работе гуморального звена иммунной системы.

Цель, преследуемая заместительной терапией иммуноглобулином, состоит в том, чтобы уменьшить частоту инфекций, что, с медицинской точки зрения, может стать предметом обсуждения для проведения дифференцированной заместительной терапии препаратами иммуноглобулина человека как фактора профилактики развития инфекционных эпизодов, а также в качестве терапии при уже развившемся осложнении у пациентов с данной нозологией.



■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Абсолютный дефицит Т-лимфоцитов и абсолютный и относительный дефицит В-лимфоцитов у пациентов с ОМЛ и ОЛЛ после проведения индукционного этапа полихимиотерапии приводит к состоянию вторичного иммунодефицита, являющемуся показателем повышенного риска развития инфекционных эпизодов разной этиологии. Преимущественная отстройка пула CD19+ клеток через В-клетки памяти показывает адаптивность иммунной системы к условиям цитопении и дефицита вновь образуемых элементов клеточного и гуморального компонентов.

На этапе индукционной терапии наблюдается угнетение клеточного (подавление лимфоцитопоеза) и гуморального (функциональная гипогаммаглобулинемия – снижение уровня иммуноглобулина G от исходных значений) иммунитета, что играет значительную роль в развитии инфекционных эпизодов у пациентов с острым лейкозом. Частота инфекционных осложнений у таких пациентов может быть связана с функциональной гипогаммаглобулинемией (снижением уровня иммуноглобулина G от исходных значений). В результате заместительная терапия иммуноглобулинами на этапах индукционной терапии может быть прогностической профилактикой инфекционных эпизодов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Chiarini F, Lonetti A, Evangelisti C, Buontempo F, Orsini E, Evangelisti C, Cappellini A, Neri L.M., McCubrey J.A., Martelli A.M. Advances in understanding the acute lymphoblastic leukemia bone marrow microenvironment: From biology to therapeutic targeting. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) Mol. Cell Res.* 2016;1863:449–463. doi: 10.1016/j.bbamcr.2015.08.015
- Ersvaer E, Hampson P, Hatfield K, Ulvestad E, Wendelbo O, Lord J.M. T cells remaining after intensive chemotherapy for acute myelogenous leukemia show a broad cytokine release profile including high levels of interferon-gamma that can be further increased by a novel protein kinase C agonist PEP005. *Cancer Immunol Immunother.* 2007;56:913–25. doi: 10.1007/s00262-006-0236-5
- Dohner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum F.R., Buchner T. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood.* 2017;129:424–47. doi: 10.1182/blood-2016-08-733196
- De Angulo G, Yuen C, Palla S.L., Anderson P.M., Zweidler-McKay P.A. Absolute lymphocyte count is a novel prognostic indicator in ALL and AML: implications for risk stratification and future studies. *Cancer.* 2008;112:407–15. doi: 10.1002/cncr.23168
- Blaeschke F, Willier S, Stenger D, Lepenies M, Horstmann M.A., Escherich G, Zimmermann M., Rojas Ringeling F, Canzar S., Kaeuferle T. Leukemia-induced dysfunctional TIM-3+CD4+ bone marrow T cells increase risk of relapse in pediatric B-precursor ALL patients. *Leukemia.* 2020;34:2607–20. doi: 10.1038/s41375-020-0793-1
- Duell J, Dittrich M, Bedke T, Mueller T, Eisele F, Rosenwald A, Rasche L, Hartmann E, Dandekar T, Einsele H. Frequency of regulatory T cells determines the outcome of the T-cell-engaging antibody blinatumomab in patients with B-precursor ALL. *Leukemia.* 2017;31:2181–90. doi: 10.1038/leu.2017.41
- Kang S.H., Hwang H.J., Yoo J.W., Kim H., Choi E.S., Hwang S.-H., Cho Y.-U., Jang S., Park C.-J., Im H.J. Expression of Immune Checkpoint Receptors on T-Cells and Their Ligands on Leukemia Blasts in Childhood Acute Leukemia. *Anticancer Res.* 2019;39:5531–39. doi: 10.21873/anticancer.13746
- Brouwer R.E., van der Heiden P, Schreuder G.M.T., Mulder A., Datema G., Anholts J.D.H., Willemze R., Claas F.H.J., Falkenburg J.H.F. Loss or downregulation of HLA class I expression at the allelic level in acute leukemia is infrequent but functionally relevant, and can be restored by interferon. *Hum. Immunol.* 2002;63:200–210. doi: 10.1016/S0198-8859(01)00381-0
- Anand P., Guillaumet-Adkins A., Dimitrova V., Yun H., Drier Y., Sotudeh N., Rogers A.J., Ouseph M.M., Nair M., Potdar S. Single cell RNA-seq reveals developmental plasticity with coexisting oncogenic and immune evasion programs in ETP-ALL. *Blood.* 2020;137:2463–80. doi: 10.1182/blood.2019004547
- Rey J., Fauriat C., Kochbati E., Orlanducci F., Charbonnier A., D'Incan E. Kinetics of cytotoxic lymphocytes reconstitution after induction chemotherapy in elderly AML patients reveals progressive recovery of normal phenotypic and functional features in NK cells. *Front Immunol.* 2017;8:64. doi: 10.3389/fimmu.2017.00064
- Bindea G., Mlecnik B., Angell H.K., Galon J. The immune landscape of human tumors: implications for cancer immunotherapy. *Oncoimmunology.* 2014;3:e27456. doi: 10.4161/onci.27456
- Mussai F., DeSanto C., Abu-Dayyeh I., Booth S., Quek L., McEwen-Smith R.M. Acute myeloid leukemia creates an arginase-dependent immunosuppressive microenvironment. *Blood.* 2013;122:749–58. doi: 10.1182/blood-2013-01-480129
- Elias S., Yamin R., Golomb L., Tsukerman P., Stanitsky-Kaynan N., Ben-Yehuda D. Immune evasion by oncogenic proteins of acute myeloid leukemia. *Blood.* 2014;123:1535–43. doi: 10.1182/blood-2013-09-526590
- Pastorczak A., Domka K., Fidyk K., Poprzeczko M., Firczuk M. Mechanisms of Immune Evasion in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancers.* 2021;13:1536. doi: 10.3390/cancers13071536
- Zamora A.E., Crawford J.C., Allen E.K., Guo X.-z. J., Bakke J., Carter R.A., Abdelsamed H.A., Moustaki A., Li Y., Chang T.-C. Pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia generate abundant and functional neoantigen-specific CD8+ T cell responses. *Sci. Transl. Med.* 2019;11:eaat8549. doi: 10.1126/scitranslmed.aat8549
- Babor F., Manser A.R., Fischer J.C., Scherenschlich N., Enczmann J., Chazara O., Moffett A., Borkhardt A., Meisel R., Uhrberg M. KIR ligand C2 is associated with increased susceptibility to childhood ALL and confers an elevated risk for late relapse. *Blood.* 2014;124:2248–51. doi: 10.1182/blood-2014-05-572065
- Witkowski M.T., Dolgalev I., Evensen N.A., Ma C., Chambers T., Roberts K.G., Sreeram S., Dai Y., Tikhonova A.N., Lasry A. Extensive Remodeling of the Immune Microenvironment in B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Cell.* 2020;37:867–882.e12. doi: 10.1016/j.ccell.2020.04.015



Маршан Л.З., Искров И.А.✉, Шепетько М.М., Лендина И.Ю.
Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии,
Минск, Беларусь

Ингибитор белка BCL-2 в лечении резистентных и рефрактерных форм острого миелоидного лейкоза

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция, дизайн и написание статьи – Маршан Л.З., Искров И.А.; сбор и обработка данных, анализ и интерпретация результатов – Лендина И.Ю., Шепетько М.М.; предоставление материалов исследования – Лендина И.Ю.; окончательное одобрение рукописи – Маршан Л.З., Искров И.А., Шепетько М.М., Лендина И.Ю.

Подана: 18.04.2024

Принята: 30.05.2024

Контакты: gemotol@mail.ru

Резюме

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) является наиболее распространенным злокачественным миелоидным заболеванием у взрослых. Повышенная экспрессия BCL-2 наблюдается в клетках пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), с хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ), где BCL-2 опосредует выживаемость опухолевых клеток и связана с резистентностью к химиотерапии. Венетоклак – это селективный ингибитор белка BCL-2. У 50–70% пациентов, достигших полной ремиссии (ПР) ОМЛ, в течение 3 лет развивается рецидив заболевания. Комбинация венетоклакса с азациитидином считается новым подходом лечения пациентов, которым противопоказано проведение интенсивной химиотерапии. Применение венетоклакса в лечении пациентов с резистентными ОМЛ является новой терапевтической опцией, сочетающей низкую токсичность, высокую эффективность, и позволяет получить у них общую выживаемость, сопоставимую с результатами лечения первичных ОМЛ. В статье представлен собственный опыт использования венетоклакса в лечении резистентных и рефрактерных форм острого миелоидного лейкоза.

Ключевые слова: венетоклак, ингибитор белка BCL, ОМЛ, рефрактерность, рецидив



Marshan L., Iskrov I., Shapetska M., Lendina I.
Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology,
Minsk, Belarus

BCL-2 Protein Inhibitor in the Treatment of Resistant and Refractory Forms of Acute Myeloid Leukemia

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept, design and writing – Marshan L., Iskrov I.; data collection and processing, analysis and interpretation of results – Shapetska M., Lendina I.; provision of research materials – Lendina I.; final approval of the manuscript – Marshan L., Iskrov I., Shapetska M., Lendina I.

Submitted: 18.04.2024

Accepted: 30.05.2024

Contacts: gemotol@mail.ru

Abstract

Acute myeloid leukemia (AML) is the most common malignant myeloid disease in adults. Increased expression of BCL-2 is observed in cells from patients with both acute myeloid leukemia (AML) and chronic lymphocytic leukemia (CLL), where BCL-2 mediates tumor cell survival, and is associated with chemotherapy resistance. Venetoclax is a selective inhibitor of the BCL-2 protein. 50–70% of patients who achieve complete remission (CR) of AML develop a disease relapse within 3 years. The combination of venetoclax with azacitidine is considered a new approach for the treatment of patients who are contraindicated for intensive chemotherapy. The use of venetoclax in the treatment of patients with refractory AML is a new therapeutic option that combines low toxicity, high efficacy, and allows them to achieve overall survival comparable to the results of treatment of primary AML. The article presents our own experience of using venetoclax in the treatment of resistant and refractory forms of acute myeloid leukemia.

Keywords: venetoclax, BCL protein inhibitor, AML, refractoriness, relapse

■ ВВЕДЕНИЕ

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) – злокачественное заболевание кроветворной ткани, при котором ранние предшественники гемопоэза прекращают дальнейшую дифференцировку на самых ранних этапах развития. ОМЛ является наиболее распространенным злокачественным миелоидным заболеванием у взрослых. Заболеваемость увеличивается с 3,1 случая на 100 тыс. населения в возрасте 50–54 лет до 23,1 случая среди лиц старше 80 лет. В целом по популяции заболеваемость ОМЛ составляет 3,6 на 100 тыс. населения [1].

Классификация ВОЗ (2016) подразделяет все ОМЛ, основываясь на их цитогенетических и молекулярно-генетических особенностях, и именно эти особенности формируют клинико-патологические группы, представленные в табл. 1 [2].

Эффективность химиотерапии (ХТ) острых лейкозов (ОЛ) зависит от двух ключевых факторов – специфичности цитостатического воздействия и адекватности сопроводительного лечения. Биологические особенности лейкемического клона –

Таблица 1
Классификация ОМЛ согласно ВОЗ (2016)
Table 1
Classification of AML according to WHO (2016)

ОМЛ с устойчиво выявляемыми генетическими аномалиями	ОМЛ t(8;21) (q22;q22); RUNX1-RUNX1T1	ОМЛ с inv(16) (p13.1;q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11	ОМЛ t(15;17) (q22;q12); PML-RARA	ОМЛ t(9;11) (p22;q23); MLLT3-MLL	ОМЛ t(6;9) (p23;q34); DEK-NUP214	ОМЛ с inv(3) (q21;q26.2) или t(3;3)(q21;q26.2); RPW1-EVI1	ОМЛ (мегакариобластный) с t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1
ОМЛ с генными мутациями	ОМЛ с мутированным геном NPM1	ОМЛ с биаллельной мутацией гена CEBPA	ОМЛ с мутированным геном RUNX1				
ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией, миелоидные неоплазии, связанные с предшествующей ХТ							
ОМЛ, другому не специфицированные (NOS)	Острый миелобластный лейкоз с минимальной дифференцировкой	Острый миелобластный лейкоз с созреванием	Острый миеломнобластный лейкоз	Острый монобластный/моноцитарный лейкоз	Острый эритромиелоз	Острый мегакариобластный лейкоз	Острый лейкоз из базофилов
Миелоидная саркома (синоним – экстрамедуллярная миелоидная опухоль, гранулоцитарная саркома, хлорома)							
Опухоль из плазмацитоидных дендритных клеток							
Миелоидные опухоли, связанные с синдромом Дауна	Транзиторный аномальный миелопоз (синоним – транзиторное миелопролиферативное заболевание (МПЗ))	Миелоидный лейкоз, связанный с синдромом Дауна					
Острые лейкозы неопределенной линии дифференцировки	Острый недифференцированный лейкоз	Острый лейкоз смешанного фенотипа (ОЛСФ) с t(9;22) (q34;q11.2); BCR-ABL1	ОЛСФ, В/миелоидный, NOS	ОЛСФ, Т/миелоидный, NOS	ОЛСФ NOS	ОЛ неопределенной линии дифференцировки NOS	



цитогенетические аномалии, молекулярные маркеры, кинетические свойства опухолевых клеток, их химиочувствительность – определяют в рамках современной ХТ прогноз заболевания, но только при условии соблюдения основного принципа лечения ОЛ – максимум эффективности (за счет специфичности и адекватности воздействия) при минимуме токсичности (за счет оптимальной сопроводительной терапии) [3].

При всех ОЛ существует несколько основных этапов терапии – индукции ремиссии, консолидация, поддерживающая терапия и профилактика нейрорлейкемии для некоторых вариантов ОЛ. Период начального лечения, целью которого является максимально быстрое и существенное сокращение опухолевой массы и достижение полной ремиссии, называется периодом индукции ремиссии (стандартно 1–2 курса «7+3» с антрациклинами). Вторым этапом терапии ОЛ является консолидация ремиссии с 3–4 высокодозными курсами цитарабина (закрепление достигнутого противоопухолевого эффекта). После проведения консолидации следует период наблюдения или поддерживающего лечения. Отнесение пациентов с ОМЛ к той или иной группе риска является основанием для выполнения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Алло-ТГСК в постремиссионной терапии ассоциирована с наиболее низким риском развития рецидива. Это обусловлено в основном развитием реакции «трансплантат против лейкемии». Если полная ремиссия после двух курсов не достигнута, то констатируется первичная резистентность и пациентам проводят терапию по программам лечения рефрактерных форм острых лейкозов [4, 5].

У 50–70% пациентов, достигших полной ремиссии (ПР) ОМЛ, в течение 3 лет развивается рецидив заболевания. Дальнейший прогноз ОМЛ после развития рецидива определяется сроками его возникновения: если рецидив ранний (продолжительность ПР менее 12 месяцев) – прогноз неблагоприятный, поздний (продолжительность ПР 12 месяцев и более) – прогноз более благоприятный [6].

Лечение рецидивов и первично-резистентных форм ОМЛ остается очень сложной проблемой. Удовлетворительными результаты лечения можно назвать только у пациентов с поздними рецидивами ОМЛ – вероятность достижения у них повторной полной ремиссии составляет 65–70%, однако долгосрочная выживаемость остается низкой. Одним из способов преодоления резистентности опухолевых клеток к цитостатическому воздействию является существенное увеличение доз цитостатических препаратов. Высокодозная терапия с большей эффективностью воздействует и на резидуальный пул клеток острого лейкоза. Пациентам показано проведение высокодозной программы химиотерапии по схеме «HAM», «FLAG-Ida», «FLARIDA», «DAC/AZA-IDA-ARA-C». В настоящее время существуют варианты таргетной терапии для пациентов с ОМЛ, несущими определенные мутации (например, FLT3-ITD) или поверхностные маркеры (например, CD33), улучшающие стандарты лечения и дающие надежду на эффективные низкомолекулярные и таргетные стратегии для дополнительных подгрупп острого миелоидного лейкоза [7, 8].

Однако у многих пациентов ввиду соматического статуса, накопленных кумулятивных доз антрациклиновых антибиотиков и сопутствующей патологии такой вариант лечения не представляется возможным. Для этой группы пациентов необходимо формировать новые подходы по преодолению химиорезистентности. Венетоклакс – это селективный ингибитор белка BCL-2. В инструкции по применению

описан механизм действия, основанный на селективном ингибиторе антиапоптозного белка В-клеточной лимфомы (BCL-2) [9]. Было показано, что повышенная экспрессия BCL-2 наблюдается в клетках пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ) и острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), где BCL-2 опосредует выживаемость опухолевых клеток и связана с резистентностью к химиотерапии. Венетоклакс связывается непосредственно с бороздой связывания ВНЗ белков BCL-2, замещая проапоптозные белки наподобие BIM, содержащие BIM-мотив, и запускает процесс повышенной проницаемости внешней митохондриальной мембраны (МОМР), активации каспаз и запрограммированной смерти клеток. В ходе доклинических исследований было установлено, что венетоклакс оказывает цитостатическое действие на опухолевые клетки с повышенной экспрессией BCL-2 [10].

Синергическая активность против миелоидных злокачественных новообразований наблюдается *in vitro* и *in vivo* при применении венетоклакса в сочетании с противолейкозной терапией низкой интенсивности, такой как низкие дозы цитарабина (LDAC) или гипометилирующих агентов (например, азацитидина или децитабина).

Венетоклакс с азацитидином считается новым подходом лечения пациентов, которым противопоказано проведение интенсивной химиотерапии. По сравнению с монотерапией азацитидином добавление венетоклакса улучшило показатели полной ремиссии (66,4% против 28,3%) и медиану общей выживаемости (14,7 против 9,6 месяца) у пациентов, которым противопоказано проведение интенсивной химиотерапии [11, 12].

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами представлен собственный опыт лечения резистентных форм острого миелоидного лейкоза венетоклаксом в сочетании с гипометилирующими препаратами. За период с 2021 г. по 2024 г. в гематологическом отделении № 3 ГУ «МНПЦ ХТиг» проведена указанная выше терапия 11 пациентам, из них 7 женщин (63,64%), 4 мужчин (36,36%) в возрасте от 24 до 77 лет (медиана – 53 года). В соответствии с FAB-классификацией у 1 пациента диагностирован M0 вариант, у 3 пациентов – M4 вариант, у 4 пациентов установлен диагноз острого миелоидного лейкоза с изменениями, ассоциированными с миелодисплазией согласно классификации ВОЗ-2017, у 2 пациентов острый миелоидный лейкоз как результат трансформации из МДС и у 1 пациента как результат трансформации из первичного миелофиброза. Статистическая обработка данных исследования проводилась с использованием лицензированного пакета программ STATISTICA 10. Оценка общей выживаемости исследуемой группы проводилась методом Каплана – Майера.

Характеристика пациентов на момент установки диагноза указана в табл. 2.

Решением консилиума пациентам *off-label* с целью спасения жизни назначался венетоклакс. В комбинации с венетоклаксом 11 пациентов получали гипометилирующие агенты. Венетоклакс назначался с наращиванием дозы (100 мг в 1-й день, 200 мг во 2-й день и по 400 мг начиная с 3-го дня). Азацитидин вводился в дозе 75 мг/м² подкожно в 1–7-й дни. У 1 пациента с наличием FLT3-ITD к терапии венетоклаксом с азацитидином был добавлен мидостаурин.



Таблица 2
Характеристика пациентов, включенных в исследование, на момент постановки диагноза ОМЛ
Table 2
Characteristics of patients included in the study at the time of diagnosis AML

Показатель	Наблюдаемые пациенты										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	27	21	12	4	88	3	2	3	30	11	11
Гемоглобин, г/л	92	78	95	80	91	68	108	133	120	79	79
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	43	47	57	77	23	81	55	166	184	10	3
Бласты в костном мозге (КМ), %	36	14	25	72	68	15	8	36	29	68	30
Бласты в периферической крови (ПК), %	9	18	4	85	77	3	5	0	29	71	14
Цитогенетическая поломка: – t (8;21) – t (13;16) – трисомия 8-й хромосомы	+		–		–	–		–	–		–
Высокий исходный риск: – гиперлейкоцитоз* – коэкспрессия CD25	–	–		–	+	–		–	+	–	–

Примечание: * уровень лейкоцитов ПК $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

До начала лечения у 9 пациентов наблюдалась нейтропения и у 2 пациентов гиперлейкоцитоз, что обусловлено основным заболеванием. Следует отметить, что у 3 пациентов приостанавливался курс на фоне миелотоксического агранулоцитоза, также 5 пациентов получали внутривенные противомикробные препараты для лечения продолжающейся / вновь возникшей фебрильной нейтропении. Данные о проводимых курсах специфической терапии в сочетании с венетоклаксом, а также возникшие осложнения на фоне проводимой терапии указаны в табл. 3.

Медиана возраста на начало терапии составила 53,7 года. Среднее количество курсов до достижения ремиссии составило 1,3 (1–2). Среднее количество курсов на момент анализа составило 7,7. Два пациента были направлены на алло-ТГСК. Четыре пациента погибли, из них у 2 причиной смерти служила прогрессия заболевания без достижения ремиссии, у 1 прогрессия заболевания с достижением ремиссии после 2 курсов, у 1 пациента инфекционные осложнения (COVID-19, пневмония). Смерть у пациентов с прогрессией заболевания наступала после 1–2 курсов. Семь пациентов на момент проведения анализа были живы и продолжают терапию венетоклаксом. Результаты общей выживаемости исследуемой группы представлены на рисунке.

По результатам проведенного исследования медиана общей выживаемости у пациентов не достигнута. Период наблюдения составил от 238 до 1200 дней, медиана наблюдения – 597 дней.

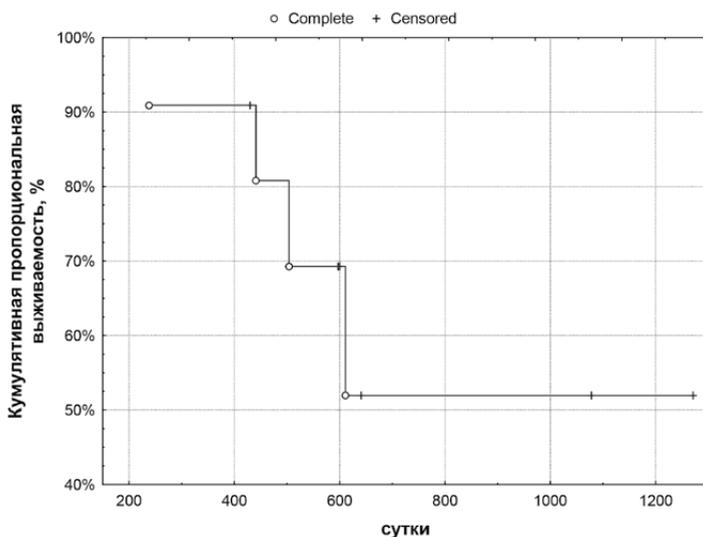
Таблица 3

Данные о проводимых курсах специфической терапии в сочетании с венетоклаксом, а также возникшие осложнения на фоне проводимой терапии

Table 3

Data on the courses of specific therapy in combination with venetoclax, as well as complications that arose during the therapy

	Кол-во курсов Ven+Aza, n	Бласты в КМ, % на момент терапии	Кол-во курсов до достижения ремиссии, n	Инфекционные осложнения	Выполнение алло-ТГСК	Статус пациента
1	2	2,67	1	Нет	Да	Жив
2	4	1,67	2	Нет	Нет	Прогрессия заболевания после 4-го курса
3	3	38	1	Нет	Нет	Жив, продолжает лечение
4	11	72	2	Нет	Нет	Жив, продолжает лечение
5	14	–	Не достигнута	COVID-19	Нет	Жив, продолжает лечение
6	12	16,67	1	COVID-19		Прогрессия заболевания после 12-го курса
7	6	–	2	Нет	Да	Жив
8	27	12,75	1	Нет	Нет	Жив, продолжает лечение
9	3	48	Не достигнута	Нет	Нет	Жив, продолжает лечение
10	1	2,50	Не достигнута	Нет		Прогрессия заболевания после 1-го курса
11	2	1	Не достигнута	Пневмония	Нет	Прогрессия заболевания после 2-го курса



Общая кумулятивная пропорциональная выживаемость пациентов с резистентными и рефрактерными формами ОМЛ на фоне терапии с венетоклаксом

Overall cumulative proportional survival of patients with recurrent and refractory forms of AML during therapy with venetoclax



■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лечение рефрактерных/резистентных форм острого миелоидного лейкоза остается важной проблемой в практике врача-гематолога. Используемые схемы лечения обладают высокой токсичностью и невысокой результативностью. Применение венетоклакса в лечении пациентов с резистентными ОМЛ является новой терапевтической опцией, сочетающей низкую токсичность и высокую эффективность, и позволяет получить длительность общей выживаемости, сопоставимую с результатами лечения первичных ОМЛ. Также является важной возможностью использования комбинации венетоклакса с гипометилирующими агентами как bridge-терапии перед выполнением алло-ТГСК.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Lendina I., Zmachinskiy V., Tsvirko D., et al. Acute myeloid leukemia: current approaches to diagnosis and treatment (literature review). *Problemy zdorov'ya i ekologii*. 2011;1:29–34. doi: 10.51523/2708-6011.2011-8-1-5. (in Russian)
2. *Acute myeloid leukemia: clinical guidelines*. 2020. Available at: https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2020/09/ostrye_mieloidnye_lejkozy.pdf. (accessed 1 March 2024). (in Russian)
3. Savchenko V., Parovichnikova E., Afanasev B., et al. *Clinical guidelines on diagnostics and treatment of acute myeloid leukemia of adults approved by National hematological society*. 2018. Available at: https://npngo.ru/uploads/media_document/280/1889f8fa-440a-47fe-9040-a853983d85bd.pdf. (accessed 5 March 2024). (in Russian)
4. Clinical protocol «Diagnostics and treatment of patients over 18 years old re-diagnosed with acute myeloid leukemia» approved by Resolution of Ministry of health of the Republic of Belarus 01.06.2017 № 43. Available at: <https://minzdrav.gov.by/upload/dadvfiles/CProtokol/KP%20Диагностика%20и%20лечение%20пациентов%20старше%2018%20лет%20с%20новью%20диагностированным%20острым%20миелоидным%20лейкозом%2001.06.2017%20N%2043.pdf>. (accessed 7 March 2024). (in Russian)
5. *National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of acute myeloid leukemia in adults*. 2014. Available at: <https://blood.ru/documents/clinical%20guidelines/21.%20klinicheskie-rekomendacii-2014-oml.pdf>. (accessed 7 March 2024). (in Russian)
6. *Acute Myeloid Leukemia. Guidelines. National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*; 2020. Available at: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/aml.pdf. (accessed 10 March 2024).
7. Savchenko V. (ed.) *Diagnostic algorithms and treatment protocols for blood system diseases: in 2 vol. Vol. 1*. Moscow: Praktika; 2018. 1006 p. (in Russian)
8. Joshi S.K., Nechiporuk T., Bottomly D. et al. The AML microenvironment catalyzes a stepwise evolution to gilteritinib resistance. *Cancer Cell*. 2021;39(7):999–1014. doi: 10.1016/j.ccell.2021.06.003.
9. *Instructions for taking Venclaxta*. Vidal; 2023. Available at: <https://www.vidal.ru/drugs/venclaxta>. (accessed 21 March 2024). (in Russian)
10. Strugov V., Stadnik E., Zarickij A. Effectiveness of venetoclax in the treatment of chronic lymphocytic leukemia (literature review). *Oncohematology*. 2017;12(4):18–26. doi: 10.17650/1818-8346-2017-12-4-18-26. (in Russian)
11. Mohamed Jiffry M.Z., Kloss R., Ahmed-Khan M., et al. A review of treatment options employed in relapsed/refractory AML. *Hematology*. 2023;28(1). doi: 10.1080/16078454.2023.2196482.
12. DiNardo C.D., Pratz K., Pullarkat V. et al. Venetoclax combined with decitabine or azacitidine in treatment-naive, elderly patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2019;133(1):7–17. doi: 10.1182/blood-2018-08-868752.



Дашкевич Э.В.✉, Романчук И.А., Коледа И.Н.
Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Беларусь

Криоконсервирование тромбоцитов и интегральная оценка их функциональных свойств

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Дашкевич Э.В. – замысел, концепция, редактирование статьи, окончательное одобрение рукописи; Романчук И.А. – сбор и обработка материала; Коледа И.Н. – сбор и обработка материала.

Подана: 21.02.2024

Принята: 09.04.2024

Контакты: eleonoravdoc@gmail.com, ia.romanchuk10@gmail.com, irina.koleda@tut.by

Резюме

Технология криоконсервирования тромбоцитов необходима для создания безопасных банков тромбоцитных компонентов крови (ТК^к), типированных по АВ0, HLA и HPA системам, при аллоиммунизации и рефрактерности.

Исследование посвящено выбору консервантов, техники заготовки и интегральной оценке тромбоцитного компонента крови.

Материалами были 23 образца тромбоцитного концентрата (ТК), полученные на различных сепараторах клеток крови. В качестве криопротектора (КП) применялся диметилсульфоксид (ДМСО) и глицерол.

Проведение контроля качества: количество тромбоцитов – на гематологическом анализаторе Sysmex KX 21N, содержание остаточных лейкоцитов – на анализаторе ADAM-rWBCNanoentek, уровень pH – на универсальном ионнометре ЭВ-74. Оценка качества тромбоцитов в концентрате проводилась на основании анализа параметров: выраженность феномена «метели» в ТК в проходящем свете, наличие макроагрегатов, общее количество тромбоцитов в дозе ТК, процент восстановления тромбоцитов после размораживания, микроскопия мазка после окраски по Май-Грюнвальду в световом микроскопе, дифференциальная оценка тромбоцитов по модифицированной шкале Куницкого с подсчетом процента в трех морфологических группах и расчетом интегрального показателя (ИП). Выполнялась агрегатометрия в образцах ТК.

Результаты. Качество ТК^к зависит от качества исходного ТК (от донора, от сепаратора клеток крови, КП и проч.). Так, при подготовке к замораживанию концентратов тромбоцитов, заготовленных на аппарате MCS+, Trima, на стадиях фракционирования (центрифугирования) отмечалось 58% и 65% пригодных для криоконсервирования образцов соответственно. Все образцы, заготовленные на аппарате AmiCORE, были пригодны для замораживания. ТК, замороженный в камере сепарации аппарата AmiCORE, показывает хороший ИП 84–94%. Свойства ТК^к сохраняются в течение 2 часов после размораживания. Результаты изучения стабильности ТК^к с использованием ИП указывают на сохранность параметров в течение 3, 6, 9 и 12 месяцев хранения.

Ключевые слова: тромбоциты криоконсервированные, контроль качества, интегральная оценка



Dashkevich E., Romanchuk I., Koleda I.

Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnology,
Minsk, Belarus

Cryopreservation of Platelets and Integral Assessment of Their Functional Properties

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Dashkevich E. – idea, concept, editing of the article, final approval of the manuscript; Romanchuk I. – collection and processing of the material; Koleda I. – collection and processing of the material.

Submitted: 21.02.2024

Accepted: 09.04.2024

Contacts: eleonoravdoc@gmail.com, ia.romanchuk10@gmail.com, irina.koleda@tut.by

Abstract

The technology of platelet cryopreservation is necessary to create safe banks of PCs typed according to ABO, HLA and HPA systems in case of alloimmunization and refractoriness. The study is devoted to the preservatives choice, preparation techniques and integral assessment of the platelet components of blood.

The materials were 23 platelet concentrate (PC) samples obtained on various blood cell separators. Dimethylsulfoxide (DMSO) or glycerol were used as cryopreservatives (CP).

Carrying out quality control: the amount of platelets – on the hematological analyzer Sysmex KX 21N, the content of residual leukocytes – on the ADAM-rWBCNanoentek analyzer, pH level – on the universal ion meter EV-74. The quality of PC was carried out based on the parameters analysis: the severity of the "swirling" phenomenon in PC in transmitted light, the presence of macroaggregates, the total number of platelets in a dose of PC, the platelet recovery percent, light microscopy of a smear after May-Grunwald staining, platelet percent in three morphological groups, modified Kunitzky scale with differential assessment and calculation of integral index (II). Agregometry was performed on PC samples.

Results. The quality of cryopreserved platelets (CPP) depends on the quality of the original PC (from the donor, from the blood cell separator, CP, etc.). So, when preparing PC to cryopreservation from the MCS+ or Trima cell separators at the fractionation stage (centrifugation) 58% and 65% of suitable samples were noted for freezing respectively. All of PCs from AmiCORE cell separator were suitable for freezing. Platelets frozen in the separation chamber of the AmiCORE device show good II of 84–94%. The properties of CPP are saved mainly for 2 hours after thawing. The results of studying stability of CPP using II indicate the safety of the parameters after 3, 6, 9 and 12 months of storage.

Keywords: cryopreserved platelets, quality control, integral index

■ ВВЕДЕНИЕ

Современные успехи в лечении пациентов в гематологии, онкологии, кардиохирургии, ортопедии, травматологии, реаниматологии, акушерстве и других областях медицины невозможны без использования заместительной терапии компонентами

крови. Трансфузии тромбоцитов являются в настоящее время общепринятым методом лечения и профилактики геморрагического синдрома при тромбоцитопении и тромбоцитопатии. Однако короткий срок хранения тромбоцитного концентрата (ТК) накладывает определенные ограничения в случае массового поступления пациентов (при чрезвычайных ситуациях), при проведении экстренных операций. Ограниченность срока хранения ТК исключает также возможность карантинизации, увеличивая риск трансмиссивных инфекций. Возможным решением данных проблем является внедрение процедуры криоконсервирования тромбоцитов. Без технологии криоконсервирования тромбоцитов невозможно также создание банков тромбоцитных компонентов крови (ТК^к), типированных по системе АВ0, HLA и HPA, для оказания помощи при аллоиммунизации и рефрактерности, что требует иммунологического подбора тромбоцитов [1–3]. Криоконсервирование применяется при аутозаготовке тромбоцитов в период ремиссии у пациентов с ожидаемой рефрактерностью. Согласно современным требованиям GMP неотъемлемой частью криоконсервирования тромбоцитов является контроль качества ТК^к на всех этапах технологического процесса, начиная от контроля качества тромбоцитов у донора и заканчивая контролем качества тромбоцитов после размораживания [4]. В публикациях показано, что в процессе хранения нативного ТК при температуре 20–24 °С и при непрерывном помешивании содержание функционально активных тромбоцитов (ФАТ) в течение первых 2 суток хранения значительно не снижается. Следовательно, в течение этого времени заготовленные тромбоциты должны быть подвергнуты криоконсервации [5, 6].

Существует несколько способов криоконсервирования тромбоцитов с добавлением КП, содержащих диметилсульфоксид (ДМСО), глицерол и др. Одним из способов является получение суперконцентрата тромбоцитов из ТК посредством центрифугирования с последующим добавлением криоконсерванта (КК) и замораживанием при температуре минус 80 °С [7]. Методы проведения контроля качества тромбоцитов, применяемые в настоящее время, не позволяют оценить функциональные свойства криоконсервированных тромбоцитов, что требует разработки новых подходов.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение возможностей практического использования интегрального показателя свойств тромбоцитов при криоконсервировании.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись 23 образца ТК. Образцы были получены на следующих сепараторах клеток крови: AmiCORE (Fresenius Kabi, ФРГ; 16 образцов), TRIMA ACCEL (Terumo BCT, США; 6 образцов), MCS+ (Haemonetics, США; 1 образец).

В качестве КП применялся ДМСО (16 образцов) и глицерол (7 образцов). КК приготавливался на реополиглукине 10% (10 образцов) и аутологичной плазме (13 образцов).

В качестве контейнеров для замораживания тромбоцитов применялись контейнеры из ПВХ КомПоКон (9 образцов), контейнеры из ЭВА CryoMACS (7 образцов), а также камера сепарации сета к сепаратору клеток крови AmiCORE (7 образцов).

Приготовление КК для образцов, подвергшихся фракционированию, и образцов, замораживаемых в камере сепарации:



- 1) на основе ДМСО, глицерола для замораживания в контейнерах КомПоКон, CryoMACS, Криотромбосет (в технологиях с фракционированием нативного ТК). КП – ДМСО, глицерол разводился в реополиглукине 10% до концентрации 13,75%;
- 2) на основе ДМСО, глицерола для замораживания в контейнерах КомПоКон, CryoMACS, Криотромбосет (в технологиях с фракционированием нативного ТК). КП – ДМСО, глицерол разводился в плазме того же донора до концентрации 13,75%;
- 3) на основе ДМСО, глицерола для замораживания в камере сепарации аппарата AmiCORE. КП – ДМСО, глицерол разводился в реополиглукине 10% до концентрации 28%;
- 4) на основе ДМСО, глицерола для замораживания в камере сепарации аппарата AmiCORE. КП – ДМСО, глицерол разводился в аутологичной плазме до концентрации 28%.

Эффективность различных составов КК может быть оценена только после размораживания всех образцов и проведения контроля качества ТК^к.

Количество тромбоцитов в полученном ТК^к определяли по стандартной инструкции на гематологическом анализаторе Sysmex KX 21N (Япония), содержание остаточных лейкоцитов – на анализаторе остаточных лейкоцитов ADAM-rWBCNanoentek (Корея). Измерение уровня pH проводили на универсальном ионметре ЭВ-74 (Россия).

Для анализа качества тромбоцитов в ТКК применяли морфофункциональные методы исследования, поскольку определяемые в них параметры непосредственно отражают морфологию тромбоцитов, их структурную целостность, а также функциональную активность.

Для оценки качества ТКК была применена методика окраски тромбоцитов по методу Май-Грюнвальда с последующим морфологическим анализом по модифицированной шкале Куницкого. Подсчет клеток проводится в световом иммерсионном микроскопе с объективом $\times 100$. Тромбоциты окрашиваются в розово-фиолетовый цвет, имеют вид округлых образований размером 2–4 мкм. Морфологическая шкала «MS» исчислялась по модифицированной методике Куницкого и основывалась на следующих изменениях в структуре тромбоцитов и их форме в следующих группах:

- а) формы покоя: тромбоциты с гладкими контурами – диски и сферы небольших размеров, которые неразличимы при световой микроскопии, поэтому собраны в одну группу (рис. 1);
- б) формы раздражения: дендритные – тромбоциты, у которых появились псевдоподии; длинные тубулярные формы – тромбоциты, которые превратились в продолговатые трубочки; тромбоциты причудливых форм. В эту группу мы также отнесли крупные шарообразные формы с гранулами внутри (рис. 2);
- в) дегенеративные формы: шары (пузыри) – тромбоциты, которые подверглись набуханию после потери способности поддерживать осмотический градиент через мембрану, не содержат гранулы. В эту группу также входят фрагменты разрушенных тромбоцитов, агрегаты (рис. 3).

Высчитывался процент форм в каждой группе и умножался на ряд поправочных коэффициентов: группа а $\times 2$, группа б $\times 1$, группа в $\times 0$. Эти три позиции суммировались с расчетом баллов по модифицированной шкале Куницкого. Максимальная оценка может быть 200, что говорит об отличном качестве ТК^к.



Рис. 1. Формы покоя тромбоцитов
Fig. 1. Forms of platelet rest



Рис. 2. Большое количество клеток второй группы, агрегаты в ТК
Fig. 2. A large number of cells of the second group, aggregates in PC

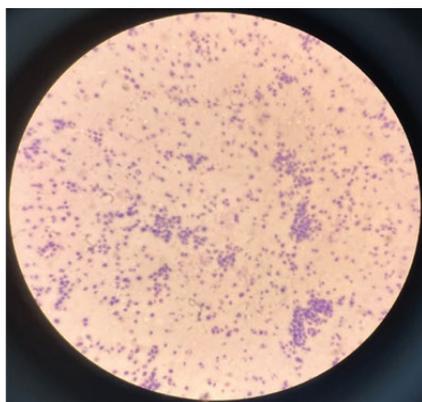


Рис. 3. Агрегаты тромбоцитов
Fig. 3. Platelet aggregates



Для комплексной оценки характеристик ТК, подвергнутых криозамораживанию, разработан способ интегральной оценки качества тромбоцитов с расчетом интегрального показателя (ИП) до и после размораживания с включением нескольких традиционно применяемых способов [8]. Оцениваются следующие параметры: наличие и выраженность феномена «метели» («вихрения») при визуальном осмотре ТК в проходящем свете, наличие макроагрегатов, общее количество тромбоцитов в дозе ТК, процент восстановления тромбоцитов после размораживания, микроскопия мазка тромбоцитов после окраски по Май-Грюнвальду в световом микроскопе: процентное содержание тромбоцитов в трех морфологических группах, выделение процентного содержания первой морфологической группы, наличие тромбоцитов с гранулами, наличие клеточного детрита в мазке ТК и ТК^к. Подсчет в баллах в модифицированной шкале Куницкого с ее дифференциальной оценкой:

- А – наличие и выраженность феномена «метели».
- В – наличие макроагрегатов в ТК^к;
- С – восстановление тромбоцитов после размораживания: подсчитывают общее количество тромбоцитов в дозе ТК^к с помощью калькулятора клеток крови. Оценивают процент восстановления тромбоцитов после размораживания, принимая исходное количество тромбоцитов в дозе за 100%;
- D – содержание клеток первой морфологической группы «а» при окраске по Май-Грюнвальду;
- E – наличие клеток тромбоцитов с гранулами;
- F – наличие клеточного детрита в мазке ТК;
- G – дифференциальная оценка модифицированной шкалы Куницкого.

Далее подсчитывают интегральный показатель (ИП) качества ТК и ТК^к по формуле (в баллах):

$$\text{ИП} = A - B + C + D + E - F + G,$$

где 16–19 баллов – ТК отличного качества, а ИП ≤3 балла – ТК неудовлетворительного качества, то есть брак.

Данный способ интегральной оценки качества тромбоцитов позволяет оценить степень воздействия на ТК и ТК^к не только температурного фактора, но и повреждения при длительном хранении и т. д.

Методика оценки агрегационной ФАТ турбидиметрическим методом с индуктором агрегации с АДФ в дозе 5 мкМ, используемая традиционно для оценки качества тромбоцитов, не является приемлемой для оценки ТК^к ввиду отсутствия агрегации. Однако размороженные ТК^к с КП ДМСО показывают способность к агрегации при индукции коллагеном. Выполнялась агрегатометрия в образцах ТК^к после размораживания и ресуспендирования ТК^к плазмой, а также спустя 4 часа после размораживания.

Для обработки данных использовали программное обеспечение MS Excel (Microsoft, США), статистический анализ проводили с помощью программы STATISTICA v.10 (StatSoft Inc., США).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализировались образцы ТК* по комплексным параметрам. Пример фрагмента дизайна исследования – табл. 1.1, 1.2.

Стандартные параметры контроля качества ТК* (количество тромбоцитов, pH, остаточное количество лейкоцитов) соответствуют нормативному документу по качеству.

На основании анализа полученных данных на этом этапе можно сделать вывод о том, что дорогостоящая оценка качества ТК с помощью маркеров CD41/61, Annexin V

Таблица 1.1
Данные контроля качества ТК*
Table 1.1
Quality control data of PC

№	Образец Ф. И. О.	Исходные показатели		После размораживания			
		ОАК доно- ра в день заготовки	ТК до за- морозки	ТК* сразу после раз- морозки	ТК*, 2 часа после раз- морозки	ТК*, 4 часа после раз- морозки	ТК*, 24 часа после размо- розки
1	Донор Я.В.Г. 1792889 / дата	17.10.2022	18.10.2022	17.01.2023	17.01.2023	17.01.2023	18.01.2023
2	Сведения о технологии						
	Аппарат сепарации / КП	AmiCORE / ДМСО на реополиглюкине					
	Контейнер для замороз- ки/хранения	Камера сепарации		Оригинальный контейнер			
3	Показатели крови						
	PLT, $\times 10^9/\text{л}$	208		1296	1249	1182	
	К-во PLT в дозе (200 мл), $\times 10^6$		250	259	249,8 (-3,5%)	236,4 (-8,7%)	
	PDW, fL	13,1	13,5	11,5	11,9	11,4	-
	MPV, fL	10,9	11,3	10,6	10,7	10,5	
	P-LCR, %	31,8	34,7	28,5	29,7	27,8	
	PCT, %	0,23	1,31	1,37	1,33	1,24	
	pH	-	-	7,3	-	-	-
	Остаточные лейкоциты, $\times 10^6/\text{доза}$	-	0,2	0,2	-	-	-
	Визуальный контроль	-	Гомогенный гиперкон- центрат	Феномен «вихре- ния» ++, диски 87%	Феномен «вихре- ния» ++, диски 88%. По- явились длинные отростки	Феномен «вихре- ния» ++, диски 88%. Появились макро- агрегаты	Феномен «вихрения» ++, диски 68%. Макроагрегаты в большом количестве
4	Оценка по шкале Куниц- кого, баллы		194	182	183	184	139
5	CD маркеры						
	CD 62P (%/интенсив- ность)		55,5/18 391	64,5/7106	-	-	70,1/322
	Annexin V (%/интенсив- ность)		1,5/961	6,2/807	-	-	25,1/793



Таблица 1.2
Данные контроля качества ТК*
Table 1.2
Quality control data of PC

№	Образец Ф. И. О.	Исходные показатели		После размораживания		
		ОАК донора в день заготовки	ТК до заморозки	ТК* сразу после разморозки	ТК*, 2 часа после разморозки	ТК*, 4 часа после разморозки
1	Донор М.М.В. 1793031 / дата	25.10.2022	26.10.2022	12.05.2023	12.05.2023	12.05.2023
2	Данные о технологии					
	Аппарат сепарации / КП	MCS+ / ДМСО в плазме				
	Контейнер для заморозки	Криотромбосет				
3	Показатели крови					
	PLT, $\times 10^9/\text{л}$	253	785	666	640	620
	К-во PLT в дозе (250 мл), $\times 10^9$		196	166,5 (85%)	160 (82%)	155 (79%)
	PDW, fL	10,5	7,5	10	11	12,1
	MPV, fL	9,8	8,6	9,6	10,1	10,6
	P-LCR, %	22,9	12,3	20,4	24,6	29
	PCT, %	0,25	0,67	0,64	0,65	0,66
	pH			7,3		
	Остаточные лейкоциты, $\times 10^6/\text{доза}$		0,04	0,04		
	Визуальная оценка		Гомогенный, феномен «вихрения» +++	Гомогенный, феномен «вихрения» –	Гомогенный, феномен «вихрения» –	–
4	Оценка по шкале Куницкого, баллы		196	74	76	18
5	CD маркеры					
	CD 62P (%/интенсивность)		7,7/22 814	65,1/22 225	–	–
	Annexin V (%/интенсивность)		0,4/651	2,4/4546	–	–

(увеличение % интенсивности) не имеет существенных преимуществ по сравнению с оценкой по модифицированной шкале Куницкого (снижение количества баллов).

При анализе количества тромбоцитов, подсчитанного на аппарате Sysmex XN-350 сразу после размораживания и спустя 2 и 4 часа после размораживания, можно сделать вывод, что оно уменьшалось на 11,1% сразу после размораживания, на 13,8% через 2 часа хранения и 17,1% через 4 часа хранения и находится в пределах допустимых значений – не менее 50% от исходного числа [9]. Феномен «вихрения» при заготовке в камере сепарации аппарата AmiCORE сохраняется после размораживания ТК* в течение 4 часов, в отличие от заготовки в контейнере аппарата MCS+.

Аппаратные характеристики тромбоцитов неинформативны ввиду малого разброса значений.

Все 23 исследуемых образца через 4 часа после размораживания продемонстрировали соответствие показателей качества по нормативным документам качества, однако в 18% образцов наблюдались макроагрегаты с оценкой по ИП менее 3 баллов и непригодность для клинического применения. Через 2 часа все 23 образца показали достаточный ИП (более 4 баллов), такие ТК^к могут быть рекомендованы для трансфузии.

Как видно из табл. 2, при замораживании тромбоцитов в камере сепарации ИП на 18% выше – 16,6 балла по сравнению с 13,6 балла при замораживании в контейнерах после фракционирования. Вероятно, это связано со снижением активации тромбоцитов в процессе заготовки на сепараторе крови AmiCORE, а также отсутствием одного этапа обработки – фракционирования – при подготовке тромбоцитов к замораживанию в камере сепарации.

Была проведена интегральная оценка нативных тромбоцитов (ИП) по суткам хранения. Результаты представлены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, снижение ИП по суткам хранения указывает на снижение качества ТК. И это сопоставимо для трех исследуемых аппаратов заготовки, что отражает процесс повреждения тромбоцитов во время хранения.

В изучаемых образцах ТК^к сразу после размораживания и спустя 4 часа после размораживания была выполнена агрегатометрия с индуктором коллаген. ТК^к, замороженный с КП ДМСО, показывал хорошую способность к агрегации (рис. 4, 5).

Агрегатометрия с коллагеном с разведением пулированной плазмы донора АВ группы может применяться для оценки ФАТ ТК^к. Контроль функциональной активности размороженных ТК^к при агрегации с коллагеном составляет 63% от нормального значения для тромбоцитов крови донора [10].

Таблица 2

Сравнение качества ТК^к, полученных на аппарате AmiCORE и замороженных технологией фракционирования и без нее в камере сепарации аппарата AmiCORE, с помощью ИП (баллы и % от исходного)

Table 2

Comparison of the quality of PC obtained on the AmiCORE apparatus and frozen by fractionation technology and without it in the separation chamber of the AmiCORE apparatus using integrated index (points and % of the original)

№ образца	ИП, баллы, фракционирование	ИП, %, фракционирование	ИП, баллы, камера сепарации	ИП, %, камера сепарации
1	–	–	17	89
2	–	–	16	84
3–4	–	–	17	89
5	14	74	–	–
6	13	86	–	–
7	13	87	–	–
8	13	93	–	–
9	13	81	–	–
Среднее	13,6	84,2	16,6	87,3



Таблица 3

ИП нативных ТК по суткам хранения на трех аппаратах заготовки

Table 3

Integrated index of native PC for days of storage on three machines of the workpiece

Аппарат заготовки	Сутки хранения	ИП, баллы	ИП, %
MSC	1	16	100
	2	12	75
	3	8	50
	4	6	38
	5	5	31
TRIMA	1	18	100
	2	12	67
	3	11	61
	4	5	28
	5	6	33
AmiCORE	1	19	100
	2	10	52
	3	8	42
	4	9	47
	5	7	36

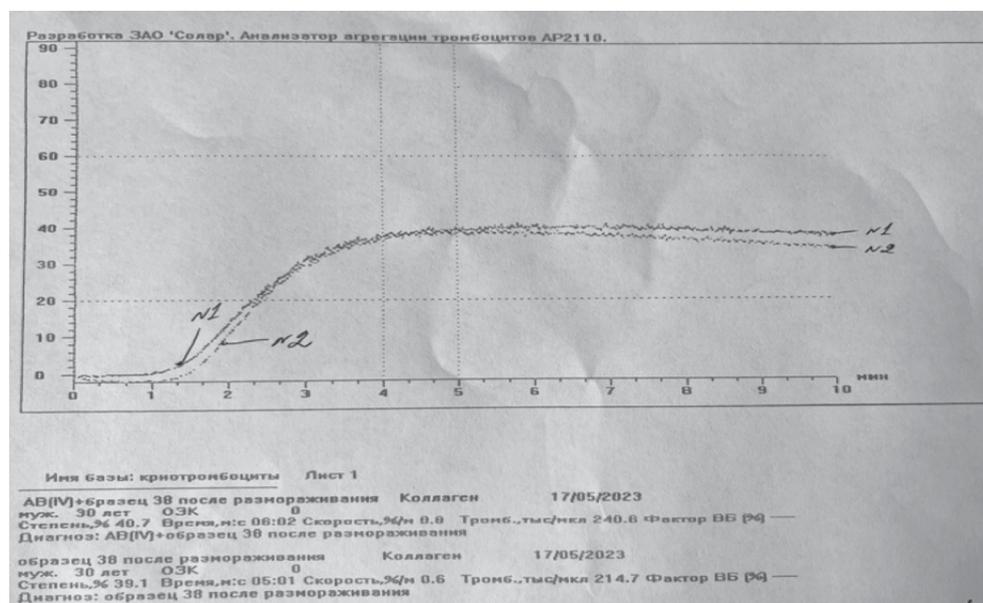


Рис. 4. Агрегатограмма тромбоцитов в образце сразу после размораживания. График 1 – с разведением пулированной плазмой донора АВ группы, график 2 – с разведением плазмой исследуемого донора

Fig. 4. Platelet aggregatogram in the sample immediately after defrosting. Graph 1 – with dilution of the pooled plasma of the AB group donor, graph 2 – with dilution of the plasma of the studied donor

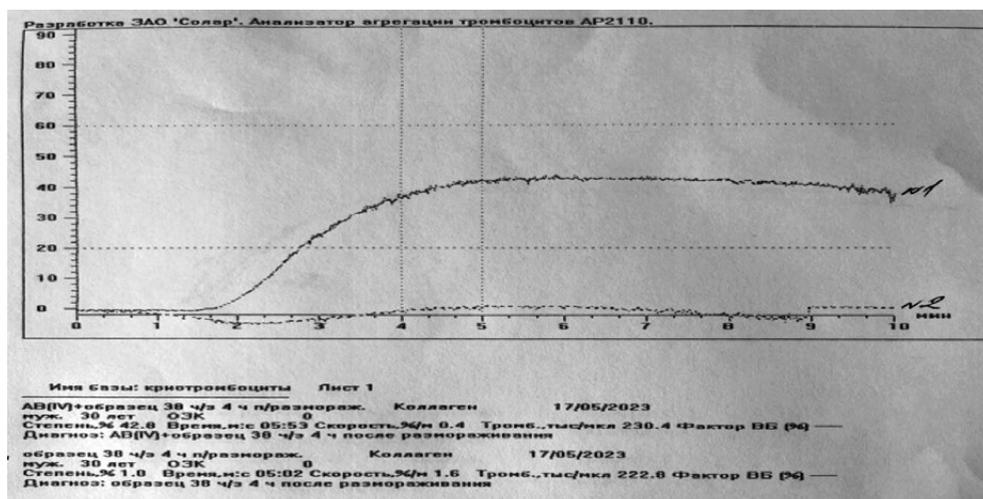


Рис. 5. Агрегатограмма тромбоцитов в образце через 4 часа после размораживания. График 1 – с разведением пулированной плазмы донора АВ группы, график 2 – с разведением плазмой исследуемого донора

Fig. 5. Platelet aggregatogram in the sample 4 hours after defrosting. Graph 1 – with dilution of the pooled plasma of the AB group donor, graph 2 – with dilution of the plasma of the studied donor

Таблица 4

Результаты изучения стабильности опытных образцов ТК^к в течение 12 месяцев

Table 4

The results of studying the stability of PC prototypes for 12 months

№ маркировки образца	12 месяцев хранения					
	Описание	Объем, мл	Сод. тр. в кон. ед. (дозе), ×10 ⁹ л.	Ост. сод. лейкоц., 10 ⁶ /ед.	pH	ИП, %
2756783(1)	Соотв.	250	153	0,0	7,4	64
2756783(2)	Соотв.	250	186	0,04	7,4	63
4206708	Соотв.	200	199	0,1	7,4	66
4206745(1)	Соотв.	200	146	0,1	7,3	93
4206745(2)	Соотв.	200	149	0,1	7,3	91
Среднее значение	Соотв.	220	166,6	0,068	7,36	75,4

Изучение стабильности выполнялось на опытных сериях ТК^к по показателям: объем (50–250 мл), содержание тромбоцитов в конечной единице (дозе) (не менее 50% от содержания тромбоцитов до замораживания), остаточное содержание лейкоцитов (менее 1×10⁶ клеток в единице (дозе)), pH (более 6,4) в соответствии с нормативными документами. Результаты изучения стабильности ТК^к указывают на сохранность параметров через 3, 6, 9 и 12 месяцев хранения (табл. 4).

Разность между средним и истинным значением для серий не выходит за рамки доверительного интервала, что подтверждает стабильность исследуемого показателя при хранении в течение 12 месяцев.



Изучение ИП в сериях в течение 12 месяцев показало сохранность качества ТК^с и пригодность для клинического применения.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценку качества тромбоцитов криоконсервированных до замораживания и после размораживания целесообразно проводить по интегральному показателю, учитывающему как количественные, так и качественные параметры тромбоцитного компонента крови.

В дополнение может использоваться агрегатометрия с индуктором коллаген с разведением пулированной плазмы доноров АВ группы в течение 4 часов после размораживания и ресуспендирования.

Предложенная технология замораживания тромбоцитов в камере сепарации аппарата AmiCORE с использованием криоконсерванта на основе ДМСО или глицерола позволяет отказаться от одного из этапов подготовки ТК – фракционирования, что способствует улучшению качества тромбоцитов после размораживания по ИП на 18%.

Результаты изучения стабильности серий компонента крови тромбоциты криоконсервированные с использованием ИП (75,4% от исходного) указывают на сохранность параметров в течение 12 месяцев хранения.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Mineeva N.V. Antigens and antibodies to platelets (literature review). *Onkogematologiya*. 2013;3:60–68. (in Russian)
2. Hubutiya M.Sh., Makarov M.S., Hvatov V.B., Vysochin I.V., Kobzeva E.N., Borovkova N.V., Konyushko O.I. *RF patent for invention No. 2485502 "Method for assessing the morphofunctional status of human platelets"*, 20.06.2013.
3. Makarov M.S. Morphofunctional analysis of human platelets using vital staining. *Byulleten' eksperim. biologii i mediciny*. 2013;9:388–391. (in Russian)
4. Makarov M.S. *Features of the morphofunctional status of human platelets in norm and pathology* (PhD Thesis). 2014. (in Russian)
5. Vysochin I.V. Harvesting and clinical use of cryopreserved erythrocytes and platelets. *Al'manah klinich. mediciny*. 2014;30:70–74. (in Russian)
6. Karpova O.V. Comparison of platelet morphofunctional properties depending on different processing methods. *Onkogematologiya*. 2014;4:37–44. (in Russian)
7. Vysochin I.V. *Features of platelet harvesting and cryopreservation for clinical use* (PhD Thesis). M., 2019. (in Russian)
8. Patent application "Method for integral assessment of platelet quality obtained by automatic apheresis during cryopreservation" dated September 22, 2023 No. a 20230229. A positive result of the preliminary examination was received on 11.23.2023.
9. Tynngård N. Haemostatic responsiveness and release of biological response modifiers following cryopreservation of platelets treated with amotosalen and ultraviolet A light. *Blood Transfus.* 2020;18:191–200.
10. Dashkevich E.V., Peshnyak Zh.V., Rod'ko E.V., Buhval'd N.A. *Patent for the invention of the Republic of Belarus No. 23671 "Method for determining the aggregation activity of platelets in platelet components of blood" 08.2020.*



Косенкова В.П.¹, Неверова А.Л.¹✉, Виноградова О.Ю.¹⁻³

¹ Московский городской гематологический центр Городской клинической больницы имени С.П. Боткина, Москва, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Эпидемиологические аспекты ряда гемобластозов. Обзор литературы

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция обзора – Виноградова О.Ю.; подготовка рукописи – Косенкова В.П., Неверова А.Л., Виноградова О.Ю.; окончательное одобрение рукописи – Виноградова О.Ю.; административная поддержка – Виноградова О.Ю.

Подана: 05.05.2024

Принята: 10.06.2024

Контакты: anyuta6549@yandex.ru

Резюме

Эпидемиология хронических онкогематологических заболеваний в условиях интенсивного появления инновационной терапии требует тщательного наблюдения и изучения. Понимание эпидемиологических тенденций различных нозологий имеет первостепенное значение для развития фармакоэкономики и системы здравоохранения, определяет соответствие производственных и клинико-диагностических мощностей уровню потребности. Высокая стоимость таргетных препаратов и рост числа пациентов, нуждающихся в них, оказывают существенное влияние на увеличение социальных бюджетов. Формирование сбалансированной стратегии и тактики клиническо-терапевтического обеспечения должно быть обосновано реальной эпидемиологической практикой. В настоящей работе представлен обзор международных и отечественных данных, касающихся основных эпидемиологических параметров (заболеваемость, распространенность, смертность, общая выживаемость, гендерно-возрастные характеристики) ряда хронических гемобластозов, таких как множественная миелома, хронический лимфолейкоз, диффузная В-крупноклеточная лимфома, лимфома мантийной зоны, фолликулярная лимфома, лимфома Ходжкина, хронический миелоидный лейкоз, миелопролиферативные Ph-негативные новообразования. Продемонстрированы общемировая динамика и отличия показателей в разных популяциях. Литературные данные убедительно показывают тенденцию к постепенному росту заболеваемости и распространенности рассмотренных гемобластозов в последние десятилетия. Статья послужит важным информационным источником для специалистов системы здравоохранения.

Ключевые слова: эпидемиология, популяционные исследования, заболеваемость, смертность, распространенность, лейкозы, лимфомы, множественная миелома, хронический лимфолейкоз, диффузная В-крупноклеточная лимфома, лимфома мантийной зоны, фолликулярная лимфома, лимфома Ходжкина, хронический миелоидный лейкоз, миелопролиферативные Ph-негативные новообразования



Kosenkova V.¹, Neverova A.¹, Vinogradova O.¹⁻³

¹ Moscow City Hematology Center of Botkin Hospital, Moscow, Russia

² Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Epidemiological Aspects of Hemoblastoses. Literature Review

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: the concept of the review – Vinogradova O.; preparation of the manuscript – Kosenkova V., Neverova A., Vinogradova O.; final approval of the manuscript – Vinogradova O.; administrative support – Vinogradova O.

Submitted: 05.05.2024

Accepted: 10.06.2024

Contacts: anyuta6549@yandex.ru

Abstract

The epidemiology of chronic oncohematological diseases in the context of intensive emergence of innovative therapy requires careful monitoring and study. Understanding the epidemiological trends of various nosologies is of paramount importance for the development of pharmacoeconomics and the healthcare system and determines the compliance of production and clinical diagnostic capacities with the level of demand. The high cost of targeted drugs and the growing number of patients in need of them have a significant impact on the increase in social budgets. The formation of a balanced strategy and tactics of clinical and therapeutic support must be justified by real epidemiological practice. The paper presents an overview of international and national data concerning the main epidemiological parameters (incidence, prevalence, mortality, overall survival, gender and age characteristics) of chronic hematological malignancies: multiple myeloma, chronic lymphocytic leukemia, diffuse large B-cell lymphoma, mantle zone lymphoma, follicular lymphoma, Hodgkin lymphoma, chronic myeloid leukemia, myeloproliferative Ph-negative neoplasms. World dynamics and variety of parameters in different populations are demonstrated. Literary data convincingly show a trend towards a gradual increase in the incidence and prevalence of the considered hemoblastoses in recent decades.

Keywords: epidemiology, population studies, morbidity, mortality, prevalence, leukemia, lymphoma, multiple myeloma, chronic lymphocytic leukemia, diffuse large B-cell lymphoma, mantle zone lymphoma, follicular lymphoma, Hodgkin lymphoma, chronic myeloid leukemia, myeloproliferative Ph-negative neoplasms

Эпидемиология – одно из быстро развивающихся исследовательских направлений медицины. Она изучает распространенность, заболеваемость, смертность населения, а также другие показатели в разное время, на различных территориях, среди разных когорт населения. Цель эпидемиологии – выявление причинно-следственных связей, определение условий и механизмов распространения заболеваний и использование этих знаний для улучшения здоровья населения [1].

Термином «заболеваемость» обозначают число случаев заболевания, впервые выявленных в год на определенной территории среди определенной группы населения. В российском здравоохранении принято использовать расчет на 100 тысяч населения в год (100 т. н. г.). Распространенность учитывает число всех больных с данным заболеванием, рассчитанное на 100 тысяч населения (100 т. н.). Распространенность хронических заболеваний растет естественным образом за счет превышения заболеваемости над смертностью. На динамику распространенности влияют социально-экономические, демографические, техногенные и природные факторы, такие как миграция населения, уровень рождаемости, стихийные бедствия, пандемии, военные конфликты, аварии, катастрофы, то есть любые события, оказывающие кратко- и долгосрочное влияние на численность и состав популяции. Существенный вклад в рост распространенности вносит улучшение результатов терапии – с ростом выживаемости происходит «накопление» пациентов, состоящих на диспансерном учете [1, 2]. Оценка распространенности онкогематологических заболеваний необходима для планирования лечения, раннего начала специализированной терапии, реабилитационных мероприятий, диспансерного наблюдения и паллиативной помощи. Своевременная регистрация случаев заболевания приводит к увеличению продолжительности жизни онкологических пациентов и снижению смертности от злокачественных новообразований [3].

Важными эпидемиологическими показателями являются смертность (рассчитываемая на 100 т. н. г.), а также гендерные и возрастные характеристики [2].

Один из способов предупреждения систематической ошибки эпидемиологических расчетов – стандартизация (коррекция) показателей здоровья по возрасту, которая необходима для сравнения показателей в популяциях с разными половозрастными распределениями, а также для анализа динамики в одной и той же популяции во времени в случае значительного изменения половозрастных соотношений. Стандартизируются только общие показатели, вычисленные для группы в целом [4].

Основными инструментами сбора данных в эпидемиологических исследованиях являются медицинские базы данных / регистры, которые рассматриваются Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как ключевой компонент стратегии противоопухолевой борьбы [5]. От полноты и точности данных зависит достоверность полученных результатов.

В настоящем обзоре собраны эпидемиологические данные, касающиеся ряда гемобластозов.

Лимфома Ходжкина

Лимфома Ходжкина (ЛХ) – В-клеточное злокачественное лимфопролиферативное новообразование [6], составляющее 0,2–0,4% от всех онкологических заболеваний [7].

В 2020 г. мировой стандартизированный по возрасту уровень заболеваемости ЛХ составил 0,98 на 100 т. н., при этом географическое распределение заболеваемости могло отличаться в шесть раз. Наибольшая стандартизированная заболеваемость отмечалась в Южной Европе – 2,8 на 100 т. н., Северной Европе – 2,6, Австралии и Новой Зеландии – 2,6, Западной Европе – 2,5. Самая низкая – в Восточной Азии – 0,44 на 100 т. н., Юго-Восточной Азии – 0,45, Средней Африке – 0,46, Меланезии – 0,59 [7]. Исследование, проведенное в Великобритании в 2015 г., выявило заболеваемость ЛХ 3 на 100 т. н. [8]. Этот показатель в России в 2017 г. составил 2,2 случая на 100 т. н. [9].



Показано, что стандартизированная заболеваемость выше в странах с очень высоким индексом человеческого развития – 2,0 на 100 т. н. г., по сравнению с высоким – 0,79, средним – 0,69 и низким индексом – 0,83 [7].

Гендерные и возрастные характеристики ЛХ также различаются в зависимости от географического положения и этнической группы. В соответствии с международными данными, ЛХ чаще заболевают люди в возрасте от 15 до 34 и старше 60 лет, причем наиболее распространенным подтипом является нодулярный склероз [8]. В России пик заболеваемости ЛХ приходится на возраст 16–35 лет [9].

В Европе и США заболеваемость у мужчин в два раза выше, чем у женщин, однако среди подростков наблюдается равное гендерное распределение [8]. Общемировые данные продемонстрировали глобальное преобладание (на 50% выше) заболеваемости ЛХ среди мужчин (1,2 на 100 т. н. г.), чем у женщин (0,8 на 100 т. н. г.) [7]. По данным шведского исследования, заметное преобладание мужчин наблюдалось при ЛХ с преобладанием лимфоцитов. Мужской пол включен как неблагоприятный фактор риска в Международную прогностическую шкалу IPS классической ЛХ [11]. В России, по данным Каприна А.Д. и коллег, среди заболевших преобладают женщины [9].

В последние годы наблюдалась тенденция к увеличению заболеваемости ЛХ, особенно среди женщин, молодого населения и выходцев из азиатских стран. Наиболее высокий рост заболеваемости среди женщин наблюдали в Эквадоре, Кувейте, Южной Корее, причем снижения заболеваемости ЛХ в этой гендерной группе не отмечено ни в одной из стран. Рост заболеваемости среди мужчин наблюдался в Гонконге, Китае, Японии, напротив, в Израиле и Словении было замечено ее снижение [7].

Средний показатель смертности в мире от ЛХ, по данным 2020 г., составил 0,26 на 100 т. н. г. Уровень смертности, в отличие от заболеваемости, меньше различался между географическими регионами. Он составил в Западной Азии 0,59 на 100 т. н. г., Северной Африке – 0,53, Западной Африке – 0,45, Центральной Америке – 0,42. Наиболее низкие показатели в Восточной Азии – 0,13 на 100 т. н. г., Юго-Восточной Азии – 0,14, Северной Америке – 0,15, Западной Европе – 0,17. Среди мужчин показатель смертности (0,33 на 100 т. н. г.) был на 70% выше, чем у женщин (0,19 на 100 т. н.) [7]. Пациенты с локализованным заболеванием (стадия I/II) показали 6-летнюю общую выживаемость (ОВ) более 90% даже в группах высокого риска, у пациентов с запущенным заболеванием (стадия III/IV) общая 5-летняя выживаемость составила 85%. Бессобытийная 4-летняя выживаемость (БСВ) составила 99% для стадии I/II и 80% для стадии III/IV [8]. В России, по данным 2017 г., смертность от ЛХ составила 0,61 на 100 т. н. [9].

В последнее десятилетие благодаря достижениям в терапии наблюдалась тенденция к снижению смертности от ЛХ, улучшению показателей выживаемости [10, 12]. Среди женщин заметное снижение заболеваемости произошло в Европе, в большей степени в Бельгии, а также в Сингапуре и Кувейте. Ни в одной из стран среди женщин не было значительного увеличения смертности. Что касается мужчин, то значительные тенденции к снижению смертности отмечены в Европе, прежде всего в Литве, Словении, а также в Кувейте. Напротив, в Чили и Ирландии отмечено значительное увеличение смертности от ЛХ [7].

Диффузная В-крупноклеточная лимфома

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) является гетерогенной группой лимфатических опухолей с различными клиническими, морфологическими,

иммунофенотипическими, цитогенетическими проявлениями [13]. ДВКЛ – наиболее распространенный вариант лимфопролиферативных заболеваний взрослых – 30–40% от всех неходжкинских лимфом (НХЛ) [14]. Ежегодная заболеваемость в мире составляет в среднем 4–5 на 100 т. н. г., ежегодно диагностируется около 123 000 новых случаев [13, 15].

Согласно данным программы наблюдения, эпидемиологии и конечных результатов (SEER) National Cancer Institute (NCI), в настоящее время заболеваемость в США составляет 5,5 на 100 т. н. г. [16]. По данным шведских авторов, ДВКЛ является самой распространенной из лимфом [17], а по данным японских исследователей – наиболее распространенной среди В-клеточных лимфом (50,3%) [18]. Риск развития ДВКЛ выше у людей с серопозитивностью вируса гепатита С, наличием ВИЧ, аутоиммунных заболеваний [21]. Заболеваемость ДВКЛ в Новосибирске за 2013–2018 гг. составила в среднем 2,85 на 100 т. н. г. Показано, что она возрастает неравномерно и имеет два пика: после 30 лет и в 60–70 лет [19].

Распространенность ДВКЛ в Новосибирске выросла с 10,24 на 100 т. н. в 2013 г. до 29,48 на 100 т. н. в 2023 г. [19]. Медиана возраста ДВКЛ – 60 лет, до 18 лет частота заболевания не превышает 8–10% [15, 21]. По данным японских исследователей, средний возраст на момент диагностики – 68 лет, при этом с 2007 по 2014 г. наблюдалось его увеличение у мужчин и у женщин, к окончанию исследования он достиг 72 лет [18]. Это намного выше, чем средний возраст на момент постановки диагноза в Корее – 59 лет [20] и в Китае – 55 лет [29]. По данным Coiffier В. и соавторов, средний возраст пациентов с ДВКЛ – 64,6 (18–91) года, причем 56,6% из них составляли мужчины [22]. Ретроспективный анализ в Новосибирске с 2013 по 2018 г. показал средний возраст пациентов с установленным диагнозом ДВКЛ $54,7 \pm 15,5$ года [19]. По международным данным, мужчины и женщины болеют ДВКЛ почти с равной частотой [15, 21]. В новосибирском исследовании соотношение мужчин и женщин в регионе равнялось 0,81:1, при этом у мужчин опухоль развивалась на 2,6 года раньше [19].

Согласно данным SEER NCI, 5-летняя ОВ пациентов с ДВКЛ (с 2013 по 2019 г.) в США составляла 64,7%. Уровень смертности в 2013 г. составлял 1,84 на 100 т. н. г., а в 2020 г. – 1,56 (в среднем 1,7) [16].

Фолликулярная лимфома

Фолликулярная лимфома (ФЛ) – новообразование из В-клеток центра фолликула, состоящее из centroцитов и centroбластов, занимает второе место в мире (20%) по встречаемости от всех НХЛ [13]. По данным NCI, количество новых случаев фолликулярной лимфомы в США составило 2,5 на 100 т. н. г., причем этот показатель демонстрировал увеличение с 1992 по 2001 г. [23]. Доля ФЛ в структуре заболеваемости НХЛ в западных странах (32% в Омахе, штат Небраска, США; 31% в Ванкувере, Канада, и 28% в Лондоне, Великобритания) выше, чем в азиатских регионах (8% в Гонконге, Китае) [24]. В Японии доля ФЛ увеличивалась с 6% в 1996–2000 гг. до 22,4% в 2007–2014 гг., приближаясь к показателям в Европе и США [25]. Согласно прогнозу, сделанному NCI на основании данных ретроспективного анализа на период с 2020 по 2025 г., число новых случаев заболевания ФЛ в США увеличится с 12 842 до 13 619, а в Западной Европе – с 13 034 до 13 786, при общем темпе роста 6% [26].

По распространенности ФЛ, по данным популяционных регистров, находится на 3-м месте среди лимфом в США и на 2-м в Японии [27]. Прогнозируется, что 10-летняя



распространенность в 2020–2025 гг. будет увеличиваться более низкими темпами (на 3%) для США по сравнению с Западной Европой (на 7%) [26].

Медиана возраста пациентов с ФЛ в США составляет 60 лет, соотношение мужчин и женщин 1:1,7 [28]. По расчетам SEER NCI, гендерные показатели мало влияли на эпидемиологическую картину ФЛ [29].

Уровень смертности пациентов с ФЛ в США составил 0,4 на 100 т. н. г. [23]. По оценкам 2011 г., около 11% случаев смерти от НХЛ в США были при ФЛ [30]. Благодаря появлению новых противоопухолевых препаратов показатель 5-летней выживаемости при ФЛ стал увеличиваться. Как показало исследование EUROCORE-5, ОВ в 20 странах мира увеличилась: в 2002 г. она составила 64,1%, за 2003–2005 гг. возросла до 69,0%, за 2006–2008 гг. – до 74,3%. Например, в Великобритании с 2004 по 2012 г. ОВ возросла до 86,5%. По данным SEER NCI, общие показатели выживаемости при ФЛ улучшились среди людей всех возрастов и полов в группах пациентов за период 2001–2009 гг. по сравнению с 1992–2000 гг. Такая же динамика наблюдалась в Швеции в 2000–2010 гг. во всех возрастных и половых группах (особенно среди пожилых женщин, у пациентов, применявших ритуксимаб в первой линии терапии) [31]. По данным российского проспективного многоцентрового исследования, проведенного в 2013–2018 гг., пятилетняя ОВ пациентов на фоне современной терапии составила 90% [32].

Лимфома из клеток мантии

Лимфома из клеток мантии (МКЛ) – новообразование из зрелых мелких и средних лимфоидных В-клеток с неправильным контуром ядер [6], которое по частоте встречаемости составляет 3–10% всех НХЛ [33]. В Западной Европе, Скандинавии и США заболеваемость МКЛ варьирует от 0,5 до 0,7 на 100 т. н. г., причем у людей старше 65 лет показатель возрастает до 3,9 на 100 т. н. г. В США ежегодно заболевают от 5000 до 6000 человек [34]. По данным Zhou Y. и соавторов, в 1992–2004 гг. заболеваемость была выше у мужчин по сравнению с женщинами, у европеоидов по сравнению с афроамериканцами [35]. Сравнив периоды 1992–1994 гг. и 2005–2009 гг., Kilfoyl B. и соавторы сделали вывод о росте заболеваемости МКЛ, причем более высокая заболеваемость наблюдалась среди мужчин и среди евроамериканцев [36].

МКЛ чаще встречается у людей среднего возраста около 60 лет [37, 38]. Возраст на момент постановки диагноза также значительно различается в группах разной расовой принадлежности. У неиспаноязычных белых пациентов средний возраст верификации диагноза составлял 68,2 года, у афроамериканцев – 62,8 года. Большинство МКЛ диагностируются на поздних стадиях. По данным SEER NCI, 62,3% относятся к стадии IV, а 14,7% – к стадии III. Расовая разница значительна: например, 63,2% белых неиспаноязычных пациентов и 53,5% афроамериканцев имеют стадию IV. Распределение В-симптомов не показывает расовых различий [37]. Исследование, проведенное в Новосибирске, также демонстрирует, что МКЛ чаще встречается у лиц среднего возраста и у пожилых, средний возраст в регионе составил 67 лет [39].

По мировым данным, наблюдается заметное (в некоторых областях в 2 раза) преобладание мужчин [37, 38]. Исследование SEER NCI в США в период 1992–2009 гг. показало, что пациенты мужского пола составляют 67,2%. По данным Ковынева И.Б. и соавторов, в Новосибирске соотношение мужчин и женщин – 2,5:1 [39].

ОВ при МКЛ в США составила 46,0 месяца. У белых латиноамериканцев медиана выживаемости (57 мес.) выше, чем у афроамериканцев (39 мес.) [37].

Лимфома маргинальной зоны

Лимфома маргинальной зоны (ЛМЗ) является группой злокачественных В-клеточных новообразований, происходящих из В-лимфоцитов [13]. Частота встречаемости ЛМЗ среди всех НХЛ составляет 5–17% [40]. Она неодинакова в различных регионах земного шара: например, в Японии – 9% [28], в Великобритании – 6% [41], в США – 7% [58]. Показатель заболеваемости ЛМЗ в Великобритании составляет 2,62 на 100 т. н. г. [41]. Согласно данным американской программы SEER-18, в 2001–2017 гг. стандартизированный по возрасту уровень заболеваемости ЛМЗ составил 19,6 на 100 т. н. г. При этом показатель заболеваемости ЛМЗ в США в этот период увеличился на 1,0% ежегодно. Аналогичные тенденции наблюдались и в других странах, вероятно, из-за улучшения диагностики [42]. Среди подтипов ЛМЗ 9% составляли ЛМЗ селезенки, 30% – случаи нодальной ЛМЗ, 61% – экстранодальной ЛМЗ. Регистрируемое соотношение диагностируемых подтипов ЛМЗ, по данным литературы, меняется: увеличивается процент селезенки и снижается – экстранодальной ЛМЗ [42, 43]. Наиболее распространены ЛМЗ слизистых (MALT-лимфомы), которые составляют до 50–70% от всех ЛМЗ [40]. Согласно результатам, полученным в Германии в 2003–2010 гг., у большей части (67%) пациентов наблюдали MALT-лимфому, в 22% случаях – нодальную форму ЛМЗ, в 11% – ЛМЗ селезенки [44].

Средний возраст пациентов при диагностике для всех подтипов ЛМЗ составляет 60–70 лет [42]. По данным новосибирских исследователей, этот показатель в регионе соответствовал 64,3 года [49]. Возраст диагностики ЛМЗ может варьировать при разных формах заболевания. По данным Smith A. и соавторов, при экстранодальной ЛМЗ он составил 60 лет (диапазон 29–79), при узловой ЛМЗ – 67 (диапазон 38–88), при лимфоме селезенки – 66,5 (диапазон 34–79) [41].

Соотношение мужчин и женщин при ЛМЗ составляет, по данным Smith A. и соавторов, 1:1,6, Ковынев И.Б. и соавторы выявили соотношение 1:2 [39, 41]. Немецкие исследователи наблюдали незначительное преобладание женщин (63%) в группе пациентов с экстранодальной ЛМЗ, тогда как в других группах гендерных различий не было [44].

Пятилетние показатели ОВ при ЛМЗ в Германии для групп пациентов с экстранодальной, нодальной ЛМЗ и ЛМЗ селезенки составляли 92%, 89% и 82% соответственно [44]. Однако примерно у 20% пациентов с ЛМЗ с рецидивом или прогрессирующим заболеванием в течение 2 лет медиана ОВ составила 3–5 лет [43].

Множественная миелома

Множественная миелома (ММ) – В-клеточное новообразование, морфологическим субстратом которого являются плазматические клетки, продуцирующие моноклональный иммуноглобулин [45]. Ежегодно в мире регистрируется 86 000 новых случаев ММ [46], в Европе – 19 000, в США – 12 000–14 600 [47, 48]. За последние 25 лет заболеваемость ММ увеличилась на 123% [49]. В европейских странах и США она находится в пределах 3,5–7,5 случая на 100 т. н. г. [50, 51]. Так, в Великобритании, по данным 2008–2012 гг., заболеваемость составила 6,1 случая на 100 т. н. г., в Швеции – 6,8 (2008–2015 гг.), в США – 6,3 (2012 г.) [47, 51]. В Азии этот показатель



значительно ниже, причем он не подвержен такому росту, как в западных странах [46]. Заболеваемость ММ в Москве, по данным 2019 г., – 2,5 на 100 т. н. г., причем за 10 лет этот показатель вырос с 1,9 до 3,5 [53].

По данным Шведского онкологического регистра, медиана возраста пациентов с ММ при диагностике составляет 71 год, у мужчин – 70 лет, у женщин – 73 года [51]. Средний возраст пациентов с ММ в Москве составляет 65–70 лет. У 56% женщин заболевание диагностировано в возрасте 65 лет и старше, в то время как в когорте мужчин ММ чаще диагностировали в возрасте моложе 65 лет (53%) [51, 53].

В большинстве исследований показано, что данное заболевание чаще встречается у мужчин [47, 54]. Но в Великобритании частота встречаемости ММ несколько выше среди женщин – 53% [46], как и в России, в частности в Москве (56%), где ММ чаще диагностируется у женщин в возрасте старше 65 лет [53].

Медиана 5-летней выживаемости при ММ, по данным публикации 2014 г., в Великобритании для пациентов 65 лет и старше оценивалась в 3,1 года, для более молодых – 5,2 года [52], в Швеции в 2008–2015 гг. среди старшей возрастной группы – 3,4 года, для пациентов более молодого возраста – 7,7 года [51]. Смертность от ММ в мире составила 0,9–2% от всех новообразований, то есть около 63 000 случаев в год [46]. В Европе ежегодно регистрируют более 14 000 смертей, в США – около 11 000 случаев [49, 55, 56]. Пятилетняя ОВ пациентов с ММ в Германии составила 39%, в США – 47% [47, 56], в Москве, по данным публикации 2019 г., – 49%, что выше, чем в некоторых странах Европы (Великобритания, Германия) и регионах России [57, 58]. В последние 10 лет в лечении ММ достигнут значимый прогресс, что, несомненно, повлияло на показатели смертности и ОВ.

Хронический лимфоцитарный лейкоз

Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) – опухоль из малых В-лимфоцитов, характеризующаяся пролиферацией и накоплением аберрантных лимфоидных клеток в костном мозге, крови, лимфоидных тканях [59]. В европейских странах заболеваемость ХЛЛ составляет 5 случаев на 100 т. н. г., причем она увеличивается с возрастом: у лиц старше 70 лет – более 20 случаев на 100 т. н. [60, 61]. Наиболее высокая заболеваемость наблюдается среди белого населения, самая низкая – среди жителей азиатских и тихоокеанских островов [62]. В России ХЛЛ выявляется несколько реже: в 2017 г. заболеваемость составила 2,95 случая на 100 т. н. [63]. По результатам ретроспективного анализа в Новосибирске в 2015–2019 гг. этот показатель – 3,38 случая на 100 т. н. [65]. Количество вновь выявленных случаев ХЛЛ в Санкт-Петербурге за последние 10 лет составило 691, в среднем 69 пациентов в год [64].

Что касается гендерно-возрастных особенностей, медиана возраста в европейских странах соответствует 70–72 годам [66], в России – 68 годам [67]. По данным Поспеловой Т.И. и соавторов, в Новосибирске медиана возраста при постановке диагноза ХЛЛ – 68 лет (диапазон 31–93), основную долю составляли пациенты старше 60 лет – 68,7%, а пациенты моложе 50 лет – 4,3%. Стадию А в дебюте заболевания диагностировали в 60%, стадию В – в 30%, а стадию С – в 10% случаев [65].

По данным зарубежных авторов, мужчины заболевают чаще – 1,9:1 [68]. В Санкт-Петербурге соотношение мужчин и женщин приблизительно одинаковое – 1:1,17. Выявлена тенденция к уменьшению процента мужчин с увеличением возраста на момент постановки диагноза ХЛЛ: от 54,0% мужчин в подгруппе 23–44 лет до 33,3%

в подгруппе старше 85 лет, что авторы объясняют разной продолжительностью жизни мужчин и женщин [64].

Смертность при ХЛЛ в США, по данным NCI, снизилась с 1,26 на 100 т. н. в 2012 г. до 0,77 на 100 т. н. г. в 2020 г. Пятилетняя ОВ пациентов с ХЛЛ (2010–2016 гг.) составила около 86,1%, за 30-летний период 1975–2005 гг. число пациентов, переживающих 5-летний рубеж от момента постановки диагноза, увеличилось более чем на 25% (с 33% до 59%). Медиана ОВ для всей популяции пациентов с ХЛЛ, с учетом возраста на момент диагностики, составила 17,8 года для лиц младше 65 лет и 8,6 года для лиц старше 65 лет [69]. 5-летняя и 10-летняя ОВ пациентов с ХЛЛ в Санкт-Петербурге (исследование 1988–2019 гг.) составила 79,2% и 60,1% соответственно, а медиана ОВ – 12,5 года. Медиана ОВ различалась у пациентов с различными стадиями по K. Rai: около 20 лет при 0 стадии, 13 лет – при I и II, 7 лет – при III и IV [64]. Без сомнения, показатели общей выживаемости напрямую зависят от тактики терапии пациентов и с появлением новых препаратов и схем лечения они меняются в позитивную сторону.

Хронический миелоидный лейкоз

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) – клональное опухолевое миелопролиферативное новообразование, характеризующееся наличием транслокации t(9;22)(q34;q11), в результате которой образуется химерный ген BCR-ABL [13]. Среди всех гемобластозов ХМЛ составляет 9% случаев. Реже встречается среди лиц моложе 20 лет. Заболеваемость ХМЛ в мире в целом составляет 1–2 случая на 100 т. н. [70]. Согласно данным NCI, заболеваемость ХМЛ в США составила 1,9 на 100 т. н. [71], по данным 1975–2009 гг. – 1,75 на 100 т. н. [72]. В Европе в 2000–2002 гг. этот показатель составил 1,1 на 100 т. н. [73], в Литве в 2000–2013 гг. – 1,28 [74], в Канаде в 2011–2015 гг. – 0,87 случая на 100 т. н. г., в частности, в Калгари – 0,75, что связано с относительно более молодым населением в этом городе. В исследовании T. Radivoyevitch и соавторов за 1973–2008 гг. показано, что заболеваемость ХМЛ возрастает логарифмически с увеличением возраста до 80 лет как у мужчин, так и у женщин [75]. Отечественных публикаций об эпидемиологии ХМЛ немного. Так, по данным регионального регистра Нижегородской области, средняя заболеваемость ХМЛ в 2000–2010 гг. составила 0,77 на 100 т. н. [76, 77]. Другое популяционное исследование 2009–2012 гг. показало, что нестандартизированная заболеваемость ХМЛ в 7 регионах России составила 0,58 на 100 т. н. г., стандартизованная на стандартную популяцию ВОЗ – 0,7, на стандартную популяцию Европы – 0,72. Колебания заболеваемости оказались незначительными: от 0,44 на 100 т. н. г. в Забайкальском крае до 0,69 в Республике Мордовия. Заболеваемость росла с возрастом, ее пик приходился на 55–60 лет, в более пожилом возрасте отмечено сокращение числа случаев ХМЛ, вероятно, из-за недостаточной диагностики возрастных пациентов [78]. На момент постановки диагноза у 94% пациентов была хроническая фаза, у 5% – акселерация, у 1% – бластный криз [78].

По данным 2011 г., в России было зарегистрировано 7916 пациентов с ХМЛ [79]. В 2016 г. регистрируемая распространенность ХМЛ в стране составила 4,76 случая на 100 т. н., показатель распространенности колебался от 2,4 на 100 т. н. в Северо-Кавказском федеральном округе до 5,54 на 100 т. н. – в Северо-Западном [80].

Что касается среднего возраста пациентов с ХМЛ, в разных странах данный эпидемиологический показатель варьирует, например, по данным США, в 1975–2009 гг. он приходился на 65 лет. В Литве (2000–2013 гг.) – 62 года [74], в Сингапуре



(1998–2002 гг.) – 43 года [81]. Средний возраст установления диагноза ХМЛ в США, согласно данным Chen Y. и соавторов, составил 48 лет [72], что значительно ниже данных Западной Европы и сопоставимо с показателями среди азиатского населения Гонконга и Сингапура [81]. По результатам российского исследования, медиана возраста пациентов – 49 лет (диапазон 2–94 года), доля пациентов в возрасте до 40 лет составляла 30,4%, старше 60 лет – 23,3% [80].

Согласно мировым данным, среди пациентов с ХМЛ имеется небольшое преобладание мужчин [72]. В соответствии с российскими работами, гендерное соотношение близко к единице [78], однако в возрасте 40 лет и более наблюдалось небольшое преобладание женщин [80].

По данным NCI, уровень смертности от ХМЛ в 2016–2020 гг. составил 0,3 на 100 т. н. г. (показатели скорректированы по возрасту). Уровень смертности был выше среди пожилых людей в возрасте от 75 лет и выше. Сравнивая показатели смертности в 1992 и 2020 г., следует отметить значительное снижение уровня смертности с 1,0 до 0,3 на 100 т. н. [71]. Это связано с внедрением в терапию ХМЛ целого ряда таргетных препаратов, что кардинально изменило перспективы лечения этого заболевания.

Классические хронические миелопролиферативные новообразования

Классические хронические миелопролиферативные новообразования (ХМПН) – истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ), первичный миелофиброз (ПМФ) – представляют собой клональные заболевания, возникающие на уровне стволовой кроветворной клетки, характеризуются пролиферацией одной или более клеточной линии миелопоэза в костном мозге с признаками сохранной дифференцировки [82]. Эпидемиологические показатели различных нозологических форм ХМПН неодинаковы. При анализе 34 исследований, проведенных в разных странах до 2014 г., получен следующий диапазон заболеваемости в мире: 0,01–2,61 на 100 т. н. г. для ИП, 0,21–2,27 – для ЭТ и 0,22–0,99 – для ПМФ [83]. По данным SEER NCI 2020 г., показатели заболеваемости ХМЛ, ИП и ЭТ в США были примерно одинаковы и составляли 1,0–2,0 случая на 100 т. н. г., в то время как заболеваемость ПМФ была ниже – 0,3 случая на 100 т. н. [84]. Согласно данным популяционного реестра Новой Зеландии, уровень заболеваемости в 2010–2017 гг. составил в среднем 0,76, 0,99 и 0,82 на 100 т. н. в год для ИП, ЭТ и ПМФ соответственно, причем отмечался рост заболеваемости во всех нозологиях в период с 2014 по 2017 г., когда годовые показатели заболеваемости достигли 3,38, 0,90, 1,56 и 0,92 на 100 т. н. г. для всех ХМПН, ИП, ЭТ и ПМФ соответственно [85].

При ретроспективном исследовании в Беларуси в 2014–2018 гг. показатель заболеваемости ХМПН составил 3,26 на 100 т. н. г. Максимальная заболеваемость ИП была отмечена в возрастной группе 70–74 года – 6,10 на 100 т. н. г. Среди женщин пик заболеваемости определен также в возрасте 70–74 года и составил 6,20 на 100 т. н. г., среди мужского населения – в возрастной группе 75–79 лет и составил 9,30 на 100 т. н. г. Максимальная заболеваемость ЭТ определена в возрастной группе 70–74 года для всего населения – 3,80 (2,87–5,01) на 100 т. н. г., в том же возрасте она определена для женщин и составила 4,30 (3,07–5,90), а для мужчин пик пришелся на 75–79 лет и соответствовал 3,10 (1,69–5,19) на 100 т. н. Максимальное значение заболеваемости ПМФ – в возрастной группе 75–79 лет для всего населения –

3,50 (2,61–4,55) на 100 т. н. г., в той же возрастной группе для мужчин – 6,00 (3,94–8,69), в возрасте 80–84 года для женщин – 2,70 (1,66–4,20) [86]. При анализе 10-летнего периода в Санкт-Петербурге заболеваемость составила для ИП 0,5–1,15 (среднее значение – 0,83) случая на 100 т. н. г., для ЭТ – 0,6–2,1 (среднее значение – 1,3), для ПМФ – 0,72–1,56 (среднее значение – 1,06) [87].

По данным многолетних наблюдений в клинике Mayo в США, медиана выживаемости пациентов с ЭТ составила 19,8 года (выживаемость в этой группе статистически не отличалась от ожидаемой в популяции США того же пола и возраста), с ИП – 13,5 года, с ПМФ – 5,9 года [88]. В работе Shallis R.M. и соавторов у пациентов с ИП, диагностированных в США в 2001–2011 гг., зафиксирована 5-летняя относительная выживаемость 89% [84]. Медиана выживаемости пациентов с ЭТ в исследовании клиники Мэйо 2024 г. составила 20,6 года, 10-летняя ОВ – 81%, 20-летняя – 52%, 30-летняя – 25% [89].

В эпидемиологическом исследовании стран Евросоюза за 2014 г. сообщается о медиане возраста при диагностике 65–74 года для ИП, 64–73 года – для ЭТ, и 69–76 лет – для ПМФ [90].

При исследовании австралийской популяции пациентов с ХМПН показано большое преобладание мужчин – соотношение М:Ж 1,13, но существенно отличается в группах: ИП – 1,37, ЭТ – 0,78, ПМФ – 1,64. Это соотношение различно в разных возрастных группах, причем наибольшее преобладание мужчин отмечено в группе 50–69 лет – 1,37 для всех ХМПН, 1,77 для ИП, 0,61 для ЭТ, 1,5 для ПМФ [91]. В белорусской популяции пациентов с ХМПН наблюдалось преобладание женщин в целом в группе ХМПН (56,4%), среди пациентов с ИП (52,3%), ЭТ (71,2%), но преобладание мужчин в группе ПМФ (45,3% женщин) [86].

Время наиболее перспективной – таргетной – терапии ХМПН только начинается. Сегодня в клинической практике применяются лишь единичные молекулярно направленные препараты. Однако в рамках клинических испытаний рассматривается широкий диапазон лекарственных агентов с различным механизмом воздействия и их комбинации, что наверняка в ближайшие годы отразится в том числе на показателях распространенности и смертности этой группы гемобластозов.

Несомненно, эпидемиологические показатели, касающиеся рассмотренных в обзоре нозологических форм, различаются в разных странах, среди различных рас. Они напрямую зависят от своевременной диагностики заболеваний, доступности и возможностей терапии в разные годы на различных территориях, миграции населения, сопутствующей патологии, продолжительности жизни популяции в целом и целого ряда других факторов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Mamchik N.P. (ed.) *Epidemiology: textbook. 2nd ed., revised*. Moscow: KNORUS. 2022; 294 p. (in Russian)
2. Pokrovskij V.I., Pak S.G., Briko N.I., Danilkin B.K. *Infectious diseases and epidemiology: Textbook. 2nd ed.* M.: GEOTAR-Media. 2007; 816 p. (in Russian)
3. Val'kov M.Yu., Karpunov A.A., Koulman M.P. The Population Cancer Registry as a resource for science and practical healthcare. *Ekologiya cheloveka*. 2017;5:54–62. (in Russian)
4. Fletcher R., Fletcher S., Vagner E. *Clinical epidemiology. Fundamentals of evidence-based medicine. Translated from English*. M.: Media Sfera. 1998; 347 p. (in Russian)
5. Kulikov S.M., Garmaeva T.C. Population studies in hematology. *Vestnik poslediplomnogo medicinskogo obrazovaniya*. 2014;1:74. (in Russian)
6. Demina E.A. General principles of lymphoma diagnosis. *Russian clinical guidelines for the diagnosis and treatment of malignant lymphoproliferative diseases*. 2018:9–27. (in Russian)



7. Sung H, Ferlay J, Siegel R.L. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–49. Available at: <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
8. Rahemtulla A., Terpos E. Hodgkin's lymphoma. *BMJ Clin Evid*. 2009;2009:2404.
9. Metzger M.L., Mauz-Körholz C. Epidemiology, outcome, targeted agents and immunotherapy in adolescent and young adult non-Hodgkin and Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol*. 2019;185(6):1142–57. Available at: <https://doi.org/10.1111/bjh.15789>
10. Hasenclever D., Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med*. 1998;339(21):1506–14. doi: 10.1056/NEJM199811193392104
11. Amraee A., Evazi M.R., Shakeri M. Efficacy of nivolumab as checkpoint inhibitor drug on survival rate of patients with relapsed/refractory classical Hodgkin lymphoma: a meta-analysis of prospective clinical study. *Clin Transl Oncol*. 2019;21(8):1093–1103. doi: 10.1007/s12094-018-02032-4
12. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H.T.J. (eds.) *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th ed.* Lyon, France: International Agency for Research in Cancer (IARC). 2017; 585 p.
13. Sant M., Allemani C., Tereanu C. HAEMACARE Working Group. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*. 2010;116(19):3724–34. doi: 10.1182/blood-2010-05-282632
14. Tumen G.S. Diffuse B-cell large cell lymphoma. *Russian clinical guidelines for the diagnosis and treatment of malignant lymphoproliferative diseases*. 2018:58–68. (in Russian)
15. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/dlbcl.html>
16. Székely E., Hagberg O., Arnljots K. Improvement in survival of diffuse large B-cell lymphoma in relation to age, gender, International Prognostic Index and extranodal presentation: a population based Swedish Lymphoma Registry study. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(8):1838–43. doi: 10.3109/10428194.2013.853297
17. Muto R., Miyoshi H., Sato K. Epidemiology and secular trends of malignant lymphoma in Japan: Analysis of 9426 cases according to the World Health Organization classification. *Cancer Med*. 2018;7(11):5843–5858. doi: 10.1002/cam4.1805
18. Voropaeva E.N., Gurazheva A.A., Pospelova T.I. Epidemiology and clinical and demographic characteristics of Diffuse B-large cell lymphoma in Novosibirsk. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal*. 2021;20(1):5–15. Available at: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2021-20-1-5-15>. (in Russian)
19. Hong J., Lee S., Chun G. Baseline renal function as a prognostic indicator in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Res*. 2016;51(2):113–21. doi: 10.5045/br.2016.51.2.113
20. Yang Q.P., Zhang W.Y., Yu J.B. Subtype distribution of lymphomas in Southwest China: analysis of 6,382 cases using WHO classification in a single institution. *Diagn Pathol*. 2011;6:77. doi: 10.1186/1746-1596-6-77
21. Coiffier B., Thieblemont C., Van Den Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Grouped'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. *Blood*. 2010;116(12):2040–5. doi: 10.1182/blood-2010-03-276246
22. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/follicular.html>
23. Anderson J.R., Armitage J.O., Weisenburger D.D. Epidemiology of the non-Hodgkin's lymphomas: distributions of the major subtypes differ by geographic locations. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Ann Oncol*. 1998;9(7):717–20. doi: 10.1023/a:1008265532487
24. Nakamine H., Nanba K., Ohshima K. Trends in the incidence of Hodgkin lymphoma and follicular lymphoma. *Nihon ByoriGakkaiKaishi*. 2002;91:346.
25. Kanas G., Ge W., Quek R.G.W. Epidemiology of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and follicular lymphoma (FL) in the United States and Western Europe: population-level projections for 2020–2025. *Leuk Lymphoma*. 2022;63(1):54–63. doi: 10.1080/10428194.2021.1975188
26. Chihara D., Ito H., Matsuda T. Differences in incidence and trends of haematological malignancies in Japan and the United States. *Br J Haematol*. 2014;164(4):536–45. doi: 10.1111/bjh.12659
27. Batlevi C.L., Sha F., Alperovich A. Follicular lymphoma in the modern era: survival, treatment outcomes, and identification of high-risk subgroups. *Blood Cancer J*. 2020;10:74. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41408-020-00340-z>
28. Morton L.M., Wang S.S., Devesa S.S. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992–2001. *Blood*. 2006;107(1):265–276. doi: 10.1182/blood-2005-06-2508
29. Howlader N., Morton L.M., Feuer E.J. Contributions of Subtypes of Non-Hodgkin Lymphoma to Mortality Trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2016;25(1):174–9. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0921
30. Cerhan J.R. Epidemiology of Follicular Lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2020;34(4):631–646. doi: 10.1016/j.hoc.2020.02.001
31. Nesterova E.S., Kravchenko S.K., Kovrigina F.M. Follicular lymphoma: results of a multicenter study of first-line therapy with bendamustine and rituximab, risk factors for adverse events (protocol fl-rus-2013). *Onkologematologiya*. 2018;13(3):10–24. Available at: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2018-13-3-10-24>
32. Jain P., Wang M.L. Mantle cell lymphoma in 2022-A comprehensive update on molecular pathogenesis, risk stratification, clinical approach, and current and novel treatments. *Am J Hematol*. 2022;97(5):638–656. doi: 10.1002/ajh.26523
33. Jerkeman M., Ekberg S., Glimelius I. Nationwide Assessment of Patient Trajectories in Mantle Cell Lymphoma: The Swedish MCL complete Project. *Hemasphere*. 2023;7(8):e928. doi: 10.1097/HS9.0000000000000928
34. Zhou Y., Wang H., Fang W. Incidence trends of mantle cell lymphoma in the United States between 1992 and 2004. *Cancer*. 2008;113(4):791–798. doi: 10.1002/cncr.23608
35. Aschebrook-Kilfoy B., Caces D.B., Ollberding N.J. An upward trend in the age-specific incidence patterns for mantle cell lymphoma in the USA. *Leuk Lymphoma*. 2013;54:1677–1683. doi: 10.3109/10428194.2012.760041
36. Wang Y., Ma S. Racial differences in mantle cell lymphoma in the United States. *BMC Cancer*. 2014;14:764. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-764>
37. Bosch F., López-Guillermo A., Campo E. Mantle cell lymphoma: presenting features, response to therapy, and prognostic factors. *Cancer*. 1998;82(3):567–75. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19980201)82:3<567::aid-cncr20>3.0.co;2-z
38. Kovynev I.B., Pospelova T.I., Ageeva T.A. The frequency and structure of Non-Hodgkin's malignant lymphomas in Novosibirsk and cities of the Siberian Federal District. 2006;4(122). (in Russian)
39. Peters A., Keating M.M., Nikonova A. Management of Marginal Zone Lymphoma: A Canadian Perspective. *Curr. Oncol*. 2023;30:1745–1759. Available at: <https://doi.org/10.3390/curroncol30020135>
40. Smith A., Crouch S., Lax S. Lymphoma incidence, survival and prevalence 2004–2014: sub-type analyses from the UK's Haematological Malignancy Research Network. *Br J Cancer*. 2015;112(9):1575–1584.
41. Serhan J.R., Habermann T.M. Epidemiology of marginal zone lymphoma. *AnnLymphoma*. 2021;5:1. Available at: <https://doi.org/10.21037/aol-20-2>

42. Luminari S., Merli M., Rattotti S. Early progression as a predictor of survival in marginal zone lymphomas: an analysis from the FIL-NF10 study. *Blood*. 2019;134(10):798–801. doi: 10.1182/blood.2019001088
43. Heilgeist A., McClanahan F., Ho A.D., Witzens-Harig M. Prognostic value of the Follicular Lymphoma International Prognostic Index score in marginal zone lymphoma: an analysis of clinical presentation and outcome in 144 patients. *Cancer*. 2013;119(1):99–106. doi: 10.1002/cncr.27704
44. Mendeleva L.P., Votyakova O.M., Rekhtina I.G. Multiple myeloma. *Russian clinical guidelines for the diagnosis and treatment of malignant lymphoproliferative diseases*. Moscow, 2018:213–241. (in Russian)
45. Becker N. Epidemiology of multiple myeloma. *Recent Results Cancer Res*. 2011;183:25–35. doi: 10.1007/978-3-540-85772-3_2
46. Gibson M.C. *Multiple myeloma epidemiology and demographics*. 2018.
47. Hong J., Lee J.H. Recent advances in multiple myeloma: a Korean perspective. *Korean J Intern Med*. 2016;31(5):820–834. doi: 10.3904/kjim.2015.408
48. Cowan A.J., Allen C., Barac A. Global Burden of Multiple Myeloma. A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *JAMA Oncol*. 2018;4(9):1221–7. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.2128
49. Benjamin M., Reddy S., Brawley O.W. Myeloma and race: a review of the literature. *Cancer Metastasis Rev*. 2003;22(1):87–93. doi: 10.1023/a:1022268103136
50. Blimark C.H., Turesson I., Genell A. Swedish Myeloma Registry. Outcome and survival of myeloma patients diagnosed 2008–2015. Real world data on 4904 patients from the Swedish Myeloma Registry (SMR). *Haematologica*. 2018;103(3):506–13. doi: 10.3324/haematol.2017.178103
51. Mireia Ralu, Sreeram Ramagopalan, Sumeet Panjabi. Epidemiology and Clinical Characteristics of Patients with Multiple Myeloma in the United Kingdom. *Blood*. 2014;124(21):2048. Available at: <https://doi.org/10.1182/blood.V124.21.2048.2048>
52. Vinogradova O.Yu., Ptushkin V.V., Chernikov M.V. Epidemiology of multiple myeloma in Moscow. *Terapevticheskij arhiv*. 2019;91(7):83–92. doi: 10.26442/00403660.2019.07.000305. (in Russian)
53. *National cancer institute*. 2015. Available at: http://www.cancer.gov/types/myeloma/hp/myeloma-treatment-pdq#cit/section_1.1 (accessed September, 20th 2015).
54. *Myeloma – Cancer Stat Facts*. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/mulmy.html>
55. Available at: <http://www.cancer.gov/research/progress/snapshots/myeloma> (accessed on September, 20th 2015).
56. Solovov M.V., Mendeleva L.P., Pokrovskaya O.S. Epidemiology and Clinical Characteristics of Patients with Multiple Myeloma. Results of a Prospective Multicenter Study in Russian Federation. *Blood*. 2015;126:4248.
57. Butuhanova I.S., Zhalsanova E.B., Alekseeva A.N. Analysis of the incidence of multiple myeloma in the Republic of Buryatia. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016;4. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=24818>. (in Russian)
58. Nikitin E.A., Byalik T.E., Zarickij A.Yu. Chronic lymphocytic leukemia/lymphoma of small lymphocytes. *Sovremennaya onkologiya*. 2020;22(3):24–44. doi: 10.26442/18151434.2020.3.200385. (in Russian)
59. Watson L., Wyld P., Catovsky D. Disease burden of chronic lymphocytic leukaemia within the European Union. *Eur J Haematol*. 2008;81(4):253–8. doi: 10.1111/j.1600-0609.2008.01114.x
60. Jemal A., Siegel R., Ward E. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin*. 2007;57(1):43–66. doi: 10.3322/canjclin.57.1.43
61. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*. 2019;69(1):7–34. doi: 10.3322/caac.21551
62. Kaprin A.D., Starinskij V.V., Petrova G.V. (eds.) *Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)*. Herzen Institute of Medical Sciences – branch of the Federal State Budgetary Institution "National Institute of Radiology" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2018; 250 p. (in Russian)
63. Nikitin E.A. (ed.) *Modern diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia*. 2021; 369 p. (in Russian)
64. Pospelova T.I., Berezina O.V., Kovynev I.B. *Chronic lymphocytic leukemia in Novosibirsk*. doi: 10.31684/25418475_2021_3_66. (in Russian)
65. San Metal. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project [published correction appears in *Blood*. 2011;117(12):3477]. *Blood*. 2010;116(19):3724–3734. doi: 10.1182/blood-2010-05-282632
66. Kaprin A.D., Starinskij V.V., Petrova G.V. (eds.) *Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality)*. M.: MNIO im. P.A. Gercena – filial FGBU "NMIC radiologii" Minzdruva Rossii. 2019. (in Russian)
67. Kipps T.J., Stevenson F.K., Wu C.J. Chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:16096. doi: 10.1038/nrdp.2016.96
68. National Cancer Institute Surveillance, Epidemiology, and End Results. *Cancer Stat Facts: Leukemia – Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)*. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/clyl.html>. 2020
69. Hoffmann V.S., Baccarani M., Hasford J. The EUTOS population-based registry: incidence and clinical characteristics of 2904 CML patients in 20 European Countries. *Leukemia*. 2015;29(6):1336–1343. doi: 10.1038/leu.2015.73
70. National Cancer Institute Surveillance, Epidemiology, and End Results. *Cancer Stat Facts: Leukemia – Chronic myeloid Leukemia (CML)*. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cmly.html>
71. Chen Y., Wang H., Kantarjian H. Trends in chronic myeloid leukemia incidence and survival in the United States from 1975 to 2009. *Leuk Lymphoma*. 2013;54(7):1411–1417. doi: 10.3109/10428194.2012.745525
72. Sant M., Allemani C., Tereanu C. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project [published correction appears in *Blood*. 2011;117(12):3477]. *Blood*. 2010;116(19):3724–3734. doi: 10.1182/blood-2010-05-282632
73. Beinortas T., Tavorienė I., Žvirblis T. Chronic myeloid leukemia incidence, survival and accessibility of tyrosine kinase inhibitors: a report from population-based Lithuanian haematological disease registry 2000–2013. *BMC Cancer*. 2016;16:198. doi: 10.1186/s12885-016-2238-9
74. Radivoyevitch T., Hlatky L., Landaw J. Quantitative modeling of chronic myeloid leukemia: insights from radiobiology. *Blood*. 2012;119(19):4363–4371. doi: 10.1182/blood-2011-09-381855
75. Volkova S.A., Kovalishena O.V., Gostyuzhova E.A. The effect of imatinib therapy according to the clinical and epidemiological monitoring of chronic myeloid leukemia in the Nizhny Novgorod region for the period 2000–2010. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2011;4:17–19. (in Russian)
76. Volkova S.A., Kovalishena O.V., Prytkova M.V. Epidemiological study of chronic myeloid leukemia in the adult population of the Nizhny Novgorod region for the period 1980–2003. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2005;2:8–13. (in Russian)
77. Kulikov S.M., Vinogradova O.Yu., Chelysheva E.Yu. The incidence of chronic myeloid leukemia in 6 regions of Russia according to a population study in 2009–2012. *Terapevticheskij arhiv*. 2014;86(7):24–30. (in Russian)
78. Vinogradova O.Yu., Kulikov S.M., Kucev S.M. Problems of the organization of treatment of chronic myeloid leukemia in Russia. *Klinicheskaya onkologematologiya*. 2011;4(4). (in Russian)
79. Turkina A.G., Novickaya N.V. The register of patients with chronic myeloid leukemia in the Russian Federation: from an observational study to an assessment of the effectiveness of therapy in clinical practice. *Klinicheskaya onkologematologiya*. 2017;10(3):390–401. (in Russian)
80. Au W.Y., Caguaioa P.B., Chuah C. Chronic myeloid leukemia in Asia. *Int J Hematol*. 2009;89(1):14–23. doi: 10.1007/s12185-008-0230-0



81. Sokolova M.A., Turkina A.G., Kovrigina A.M. Clinical recommendations for the diagnosis and therapy of Ph-negative myeloproliferative diseases (true polycythemia, essential thrombocytemia, primary myelofibrosis) (2016 edition). *Gematologiya i transfuziologiya*. 2017;1(S1):25–60. doi: 10.25837/HAT.2019.51.88.001. (in Russian)
82. Titmarsh G.J., Duncombe A.S., Mc Mullin M.F. How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis [published correction appears in *Am J Hematol*. 2015;90(9):850]. *Am J Hematol*. 2014;89(6):581–587. doi: 10.1002/ajh.23690
83. Shallis R.M., Wang R., Davidoff A. Epidemiology of the classical myeloproliferative neoplasms: The four corners of an expansive and complex map. *Blood Rev*. 2020;42:100706. doi: 10.1016/j.blre.2020.100706
84. Varghese C., Immanuel T., Ruskova E. The Epidemiology of Myeloproliferative Neoplasms in New Zealand between 2010 and 2017: Insights from the New Zealand Cancer Registry. *Curr. Oncol*. 2021;28:1544–1557. Available at: <https://doi.org/10.3390/currncol28020146>
85. Martinkov V.N., Novik D.K., Veyalkin I.V. The incidence of Ph-negative chronic myeloproliferative diseases in the Republic of Belarus. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2023;68(3):363–372. Available at: <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2022-68-3-363-372>. (in Russian)
86. Abdulkadyrov K.M., Shuvaev V.A., Martynkevich I.S. *Myeloproliferative neoplasms*. Moscow: Littera, littera; 2016: 2–298. (in Russian)
87. Tefferi A., Guglielmelli P., Larson D.R. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood*. 2014;124(16):2507–2615. doi: 10.1182/blood-2014-05-579136
88. Gangat N., Karrar O., Al-Kali A. One thousand patients with essential thrombocythemia: the Mayo Clinic experience. *Blood Cancer J*. 2024;14(1):11. doi: 10.1038/s41408-023-00972
89. Moulard O., Mehta J., Fryzek J. Epidemiology of myelofibrosis, essential thrombocythemia, and polycythemia vera in the European Union. *Eur J Haematol*. 2014;92(4):289–297. doi: 10.1111/ejh.12256
90. Baade P.D., Ross D.M., Anderson L.A. Changing incidence of myeloproliferative neoplasms in Australia, 2003–2014. *Am J Hematol*. 2019;94(4):E107–E109. doi: 10.1002/ajh.25407



Муха Л.А.¹, Панкрашкина М.М.¹✉, Виноградова О.Ю.¹⁻³

¹ Московский городской гематологический центр Городской клинической больницы имени С.П. Боткина, Москва, Россия

² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

³ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

Диагностика и терапия первичной иммунной тромбоцитопении у взрослых пациентов. Обзор литературы

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн – Муха Л.А., Панкрашкина М.М., Виноградова О.Ю.; сбор данных (литературных источников) – Муха Л.А., Панкрашкина М.М.; анализ и интерпретация данных – Муха Л.А., Панкрашкина М.М., Виноградова О.Ю.; подготовка рукописи – Муха Л.А., Панкрашкина М.М., Виноградова О.Ю.; окончательное одобрение рукописи – Виноградова О.Ю.; административная поддержка – Виноградова О.Ю.

Финансирование. Исследование не имело внешних источников финансирования.

Подана: 25.03.2024

Принята: 29.04.2024

Контакты: bobkova.hematol@mail.ru

Резюме

В работе представлен обзор международных и отечественных данных, касающихся диагностики и терапии первичной иммунной тромбоцитопении.

Ключевые слова: иммунная тромбоцитопения, ИТП, агонисты тромбоэтиновых рецепторов, ромиплостим, элтромбопаг



Muha L.¹, Pankrashkina M.¹, Vinogradova O.¹⁻³

¹ Moscow City Hematology Center of Botkin Hospital, Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³ Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

Diagnosis and Treatment of Primary Immune Thrombocytopenia. Literature Review

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design – Muha L., Pankrashkina M., Vinogradova O.; collection of data (literary sources) – Muha L., Pankrashkina M.; data analysis and interpretation – Muha L., Pankrashkina M., Vinogradova O.; manuscript preparation – Muha L., Pankrashkina M., Vinogradova O.; final approval of the manuscript – Vinogradova O.; administrative support – Vinogradova O.

Funding. The study had no external funding sources.

Submitted: 25.03.2024

Accepted: 29.04.2024

Contacts: bobkova.hematol@mail.ru

Abstract

The paper presents an overview of international and national data concerning the diagnosis and treatment of primary immune thrombocytopenia.

Keywords: immune thrombocytopenia, ITP, thrombopoietin receptor agonists, romiplostim, eltrombopag

Первичная иммунная тромбоцитопения, или идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП), представляет собой гетерогенное аутоиммунное заболевание, сопровождающееся изолированной тромбоцитопенией (снижение количества тромбоцитов в периферической крови менее $100 \times 10^9/\text{л}$) и характеризующееся отсутствием диагностических маркеров [1].

Патогенез развития ИТП

Иммунопатогенез ИТП сложен и до конца не изучен. Считается, что одним из основных механизмов развития заболевания является срыв периферической толерантности Т- и В-лимфоцитов, при этом происходит активация выработки антитромбоцитарных антител, направленных на собственные тромбоциты и мегакариоциты, в результате чего повышается клиренс тромбоцитов. Другим аутоиммунным механизмом ИТП может быть антитело-независимый механизм, который обусловлен образованием аутореактивных цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD8^+$ Т-клетки / Т-киллеры), способных непосредственно разрушать тромбоциты, а также, накапливаясь в костном мозге, ингибировать тромбопоэз [2].

Антитромбоцитарные антитела представлены главным образом иммуноглобулинами класса G (IgG). Основной мишенью для аутоантител являются гликопротеины (ГП) на поверхности мембраны тромбоцитов, в основном гликопротеин ГП IIb/IIIa и ГП Ib/IX. Реже встречаются антитела, направленные против других антигенов

поверхности тромбоцитов (ГП Ia/IIa, ГП IV, ГП VI). У некоторых пациентов с ИТП могут выявляться антитромбоцитарные антитела множественной специфичности. ГП представлены не только на тромбоцитах, но и на мегакариоцитах (МКЦ), что также вызывает вовлечение их в аутоиммунный процесс и приводит к структурным изменениям со снижением продукции тромбоцитов [3].

Сформированный комплекс антиген – антитело фиксируется своим Fc-фрагментом иммуноглобулина к Fc γ -рецепторам макрофагов и дендритных клеток ретикулоэндотелиальной системы, которые поглощают и разрушают этот патологический комплекс путем его деструкции в основном в селезенке, реже в печени и лимфатических узлах. Также механизмом разрушения тромбоцитов может являться комплементзависимый лизис. По данным зарубежных исследований было показано, что усиленная активация системы комплемента коррелирует с тяжелым и рефрактерным течением заболевания [4].

ИТП, как и другие аутоиммунные заболевания, является следствием нарушения иммунной толерантности к собственным антигенам. Формирование/подавление иммунного ответа происходит с участием Т-клеток (Т-хелперы (Th) и Т-регуляторы (Treg)), антигенпредставляющих клеток и при их взаимодействии. Основная функция Th заключается в активации выработки антител В-лимфоцитами (гуморальный иммунный ответ), а также осуществлении клеточно-опосредованной реакции адаптивного иммунного ответа (клеточный иммунный ответ). Treg ограничивают иммунный ответ и предупреждают развитие иммунного ответа к собственным антигенам. При ИТП наблюдается дисбаланс Т-клеток. Снижение уровня и функциональные нарушения Treg приводят к недостаточному контролю аутоиммунного ответа, нарушению соотношения подгрупп Т-хелперных клеток. Происходит дисбаланс Th1/Th2 в сторону увеличения числа Th1, повышение Th17, изменение цитокинового профиля в сторону провоспалительного ответа, который включает повышенный уровень интерлейкина (IL) 17, интерферона гамма (INF- γ), IL-2 и сниженный уровень иммуносупрессивных IL-10, фактора роста- β 1 (TGF- β 1) и IL-4, способствующих выработке аутоантител. Кроме того, у пациентов с ИТП отмечается увеличение количества CD8⁺ Т-лимфоцитов, обладающих цитотоксическим действием на тромбоциты и МКЦ. Аутоиммунный механизм, опосредованный CD8⁺ Т-лимфоцитами, может быть независимым от патогенетического механизма, обусловленного аутоантителами. Так, в исследовании Malik A. и коллег были получены данные о выявленной клональной экспансии определенного количества CD8⁺ Т-клеток, известных как терминально дифференцированные эффекторные Т-клетки памяти, которые могут сохраняться годами у пациентов с хронической ИТП. Это характерно для рефрактерной ИТП с более низким количеством тромбоцитов. Кроме того, CD8⁺ Т-клетки индуцируют активацию тромбоцитов и апоптоз в рамках антитело-независимого механизма рефрактерной тромбоцитопении [5]. При ИТП также наблюдается нарушение функции и снижение количества регуляторных В-клеток, что влияет на взаимодействия Т- и В-лимфоцитов и иммунной модуляции, которая приводит к разрушению тромбоцитов антителами и Т-лимфоцитами при хронической ИТП [2].

Важную роль в патогенезе ИТП играет селезенка, которая является основным анатомическим органом выработки В-лимфоцитов, продуцирующих анти-ГП-антитела, и главным анатомическим резервуаром элиминации тромбоцитов, «нагруженных» антителами [2].



Основным цитокином, который обладает специфичным действием в отношении мегакариоцитарной линии (начиная с ранних предшественников мегакариоцитопоэза) и регулирует активность МКЦ и уровень продукции тромбоцитов, является тромбопоэтин (ТПО), впервые описанный в 1958 году. В 1994 году фундаментальные исследования выявили ген, кодирующий рецептор с-Mpl [6]. ТПО – это гликопротеин, который синтезируется главным образом в печени, влияет на гемопоэтические клетки-предшественники и мегакариоциты посредством связывания с с-Mpl рецепторами тромбопоэтина (ТПО_r) на их поверхности [7]. Взаимодействие ТПО с рецептором приводит к запуску сигнального каскада активации семейства янус-киназ и передаче сигнала в МКЦ посредством эффекторов STAT и MAPK, что вызывает экспрессию генов, увеличивающих выживаемость клеток, предотвращающих апоптоз, ускоряющих рост клеток-предшественников [2].

У пациентов с ИТП не наблюдается компенсаторного увеличения ТПО в ответ на выраженную иммуноопосредованную тромбоцитопению (примерно у двух третей пациентов с ИТП определяется нормальный или сниженный уровень ТПО в плазме крови), что может являться также одним из принципиальных патофизиологических механизмов развития заболевания [2].

Таким образом, ИТП представляет собой аутоиммунное заболевание, в основе патогенеза которого участвуют все звенья иммунного ответа (как гуморального, так и клеточного). Оно характеризуется повышенным разрушением тромбоцитов, опосредованным как аутоантителами, так и (или) Т-клетками, а также сниженной/неадекватной продукцией тромбоцитов вследствие повреждения мегакариоцитов аутоантителами и нарушением их функции.

Клинически ИТП проявляется геморрагическим синдромом разной степени выраженности – от минимальных геморрагических проявлений до клинически значимых, угрожающих жизни, кровотечений. Геморрагический синдром, как правило, сопоставим со степенью снижения количества тромбоцитов. Но у некоторых пациентов с ИТП геморрагический синдром отсутствует даже при значительном снижении числа тромбоцитов [8].

Следовательно, ИТП является гетерогенным заболеванием как по патофизиологическим механизмам, так и по клиническим проявлениям.

Диагностика ИТП

Несмотря на достигнутые успехи в изучении патофизиологии ИТП, достоверного диагностического маркера ИТП по сей день не найдено и данный диагноз остается диагнозом исключения, что диктует необходимость проведения широкого многопланового дифференциального диагностического обследования.

По данным литературы, соотношение диагностированных первичных и вторичных иммунных тромбоцитопений составляет 80%:20%. Однако зачастую при дальнейшем наблюдении и обследовании пациентов выявляют другие причины тромбоцитопении, что влечет за собой изменение диагноза первичной ИТП на вторичную, или наоборот. Поэтому необходимо проведение дифференциальной диагностики заболевания не только в его дебюте, но и в динамике [9, 10].

В статье Arnold D.M. и соавторов представлены результаты проспективного исследования (2010–2016 гг.) пациентов с тромбоцитопенией, обследованных и получавших лечение в клинике McMaster в Канаде. Проведена оценка 614 пациентов

с тромбоцитопенией. У 295 из них была первоначально диагностирована первичная ИТП, однако в ходе наблюдения и продолжения обследования пациентов диагноз был изменен в 36 (12,2%) случаях. У 319 пациентов, наоборот, первоначально была диагностирована вторичная тромбоцитопения, а в последующем у 10 (3,1%) диагноз был изменен на первичную ИТП [9].

В статье Меликян А.Л. и соавторов представлены результаты исследования, проведенного в 2014–2016 гг. в Гематологическом научном центре Минздрава России. Проанализированы пациенты (n=301), как впервые обратившиеся с тромбоцитопенией неуточненного генеза, так и с многолетним анамнезом ИТП. Из 183 первично обратившихся пациентов диагноз первичной ИТП был установлен у 48% пациентов, в 52% случаев тромбоцитопения являлась симптомом другого заболевания. Из 118 пациентов с ранее установленным диагнозом ИТП и рецидивирующим течением заболевания диагноз был пересмотрен в пользу вторичной тромбоцитопении, ассоциированной с другой патологией, в 15% случаев [10].

Таким образом, как первоначальная, так и динамическая диагностическая оценка пациента с ИТП включает подробное обследование согласно международным и национальным рекомендациям [8, 11].

Терапия ИТП

Основной целью терапии ИТП, независимо от продолжительности заболевания, является предотвращение эпизодов тяжелых кровотечений, достижение и поддержание безопасного уровня количества тромбоцитов (число тромбоцитов не менее $20\text{--}30 \times 10^9/\text{л}$) и обеспечение хорошего качества жизни пациентов.

Несмотря на появление новых возможностей терапии за последнее десятилетие, в настоящее время, как и в последние 70 лет, в качестве первой линии лечения используются глюкокортикостероиды (ГКС). Однако в современных клинических рекомендациях, учитывая побочное действие этих препаратов, сокращен период приема преднизолона (среднесуточная доза 1 мг/кг, максимальная – 80 мг) до 2, максимум 3 недель и дексаметазона (введение 40 мг с интервалом 2–4 недели) до 3–4 курсов. При получении ответа на терапию рекомендуется быстро снижать дозу преднизолона и отменять его к 6-й, максимум 8-й неделе. При отсутствии ответа на терапию в течение 2 недель рекомендовано быстрое снижение дозы в течение недели и прекращение терапии [11]. Порой предметом дискуссий является выбор варианта инициальной ГКС-терапии – преднизолон в стандартных дозах или высокие дозы дексаметазона. Исследования показали, что эффективность этих двух методов сопоставима, но использование дексаметазона предпочтительнее в случае необходимости быстрого увеличения количества тромбоцитов у пациентов с тяжелой формой ИТП [12]. Эффективность терапии первой линии ГКС составляет 50–90%, и только 10–30% пациентов удается сохранить долгосрочную ремиссию [8].

В ситуациях, когда имеются противопоказания к лечению ГКС, в случаях urgentных ситуаций (массивные маточные, желудочно-кишечные кровотечения, угроза кровоизлияния в мозг, органы зрения, неотложные хирургические вмешательства), при лечении и родоразрешении беременных женщин с ИТП в качестве первой линии терапии показаны высокие дозы нормального человеческого иммуноглобулина G (ВИГ). Использование ВИГ в urgentных ситуациях обусловлено быстрым воздействием препарата, но непродолжительной длительностью клинического ответа на введение IgG [8, 11].



При первичной резистентности к 1-й линии терапии ИТП или при развитии рецидива, на фоне снижения или прекращения приема ГКС, пациентам показано назначение второй линии лечения.

В последнее десятилетие произошли изменения в концепции терапии 2-й линии при ИТП. Ранее после неудачи первой линии лечения ГКС выполняли спленэктомию. Частота ответа на проведение спленэктомии, по данным различных исследований, – до 80%. Однако проведение спленэктомии ассоциировано с высоким риском послеоперационных осложнений (кровотечения, тромбозы) и в последующем риском развития тяжелых бактериальных инфекций вплоть до сепсиса. Частота осложнений, связанных с оперативным вмешательством, составляет около 12,8%, чаще они встречаются у пациентов старше 60 лет [13].

Достоверные предикторы эффективности спленэктомии до настоящего времени не установлены. Так, в работе Sarpatwari A. и соавторов было показано, что пациенты с преимущественно селезеночной секвестрацией лучше реагируют на спленэктомию, чем пациенты с печеночной или смешанной секвестрацией. Поэтому исследователи предлагают до операции проводить сканирование меченных индием-111 аутологичных тромбоцитов, что позволяет определить место секвестрации и выведения тромбоцитов у конкретного пациента [14]. Данный метод обследования также был рекомендован Международным консенсусом экспертов по ИТП в 2019 году, но не нашел широкого применения в клинической практике [8].

Таким образом, учитывая достаточно высокий процент не ответивших на спленэктомию пациентов, высокую частоту рецидивов и процент осложнений, а также возможность спонтанного выздоровления [8, 13], в настоящее время спленэктомию рекомендовано проводить не ранее чем через 12–24 месяца от момента диагностики ИТП, только после применения медикаментозных методов лечения.

На современном этапе и Российским национальным гематологическим обществом, и международными рекомендациями в качестве второй линии лечения ИТП рекомендовано применение агонистов рецептора тромбопоэтина (аТПОр) [8, 11]. Действие аТПОр основано на принципиально ином патогенетическом механизме, отличном от всего, что было до появления этих препаратов, а именно стимуляции мегакариоцитопоэза посредством воздействия на рецепторы тромбопоэтина, модулируя биологический эффект эндогенного тромбопоэтина. Препараты аТПОр структурно отличаются от нативного ТПО, однако они способны связывать и активировать рецептор подобно эндогенному ТПО, стимулируя мегакариоцитопоэз с увеличением продукции тромбоцитов и компенсируя повышенное разрушение тромбоцитов. Также аТПОр обладают иммуномодулирующим действием, изменяя активность Т- и В-регуляторных клеток с восстановлением утраченной иммунной толерантности [2].

Сегодня в мире зарегистрированы и рекомендованы к применению в клинической практике три аТПОр – ромиплостим, элтромбопаг и аватромбопаг. Эти препараты различаются между собой по структуре, региону взаимодействия с рецептором ТПО и способу применения. Ромиплостим (рекомбинантный белок, пептитело) – препарат для подкожного введения, элтромбопаг и аватромбопаг (низкомолекулярные синтетические небелковые агонисты рецептора) – для приема внутрь.

В рецепторе ТПО выделяют цитоплазматический, трансмембранный и внеклеточный домены. Элтромбопаг и аватромбопаг связываются с трансмембранной частью ТПО, ромиплостим – с его внеклеточным доменом, подобно эндогенному ТПО,

активируя сигнальные пути передачи, приводящие к увеличению продукции тромбоцитов.

Ромиплостим и элтромбопаг используются в клинической практике для лечения пациентов с ИТП более 10 лет и характеризуются высокой эффективностью. Они обеспечивают высокую частоту ответа (от 74% до 96% по данным разных авторов) как у спленэктомированных, так и у несplenэктомированных пациентов с сохранением тромбоцитарного ответа до 6–8 лет, что позволяет сократить или прекратить другую терапию ИТП. Эти препараты имеют приемлемый профиль безопасности и хорошо переносятся даже при длительном применении и улучшают качество жизни пациентов [8, 15].

Однако некоторые исследователи сообщали о более низких ответах у пациентов со splenэктомией в анамнезе. Так, в 2017 году Cines D.B. и соавторы опубликовали исследование, в котором был произведен анализ 13 клинических исследований по безопасности и эффективности ромиплостима у splenэктомированных и несplenэктомированных взрослых с ИТП за период 2002–2014 гг. Оценивали 1111 пациентов, получавших ромиплостим, при этом выделяли 2 подгруппы: 395 пациентов – после splenэктомии, 716 – без splenэктомии в анамнезе. Частота ответа со стороны тромбоцитов ($\geq 50 \times 10^9/\text{л}$) составила 82% у splenэктомированных и 91% у несplenэктомированных пациентов. Однако исходно у пациентов, перенесших в анамнезе splenэктомию, средняя длительность заболевания была больше и медиана количества тромбоцитов ниже, а также часть splenэктомированных пациентов получили более 3 линий лечения. Устойчивый тромбоцитарный ответ в течение 9–12 недель сохранялся у 68% splenэктомированных и 80% несplenэктомированных пациентов, получавших ромиплостим. Авторами сделан вывод о том, что ромиплостим эффективен как у splenэктомированных пациентов с ИТП, так и у пациентов с сохраненной селезенкой, однако более целесообразно его назначать в ситуациях отсутствия ответа на стандартное лечение 1-й линии, а не при рецидиве заболевания после splenэктомии [16].

По данным исследования EXTEND, в котором оценивалась долгосрочная безопасность и эффективность элтромбопага у 302 взрослых пациентов с ИТП, среднее количество тромбоцитов ко 2-й неделе лечения достигало $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ и сохранялось в течение всего периода лечения (медиана 2,37 года). Ответ был достигнут у 85,8% пациентов, у 52% – стойкий (≥ 25 недель). Исходно низкое количество тромбоцитов ($< 15 \times 10^9/\text{л}$), большое количество линий предшествующей терапии, splenэктомия в анамнезе коррелировали со снижением ответа. Серьезные побочные явления, такие как тромбоз гепатобилиарной системы и фиброз костного мозга, были редкими [17]. Частота тромбоцитарного ответа на терапию элтромбопагом при стартовой дозе 50 мг/сутки, по результатам других публикаций, варьировала от 50 до 88,8% [8, 15]. По данным González-López T.J. и соавторов, медиана тромбоцитарного ответа в течение 15 месяцев составила 75,2%. Такие параметры, как splenэктомия в анамнезе, исходное количество тромбоцитов, сопутствующее лечение ИТП, количество предыдущих курсов лечения, не оказали влияния на частоту достижения ответа [18].

Исследований по прямому сравнению эффективности ромиплостима и элтромбопага не проводилось. Соорер K.L. и соавторы представили результаты непрямого сравнительного исследования этих двух препаратов (2012–2014 гг.). В результате



исследования сделаны выводы о том, что при терапии ромиплостимом выявлено достоверное преимущество в получении общего тромбоцитарного ответа (83%) как при первичном анализе в 2012 году, так и в течение последующих 2 лет наблюдения (83%), в сравнении с элтромбопагом (83% и 67% соответственно) [19].

Подобные результаты были получены в отечественной работе, опубликованной в 2018 году. В данном исследовании проанализированы результаты длительного применения аТПОр с 2009 по 2018 год в реальной клинической практике у 138 пациентов (ромиплостим – 100 пациентов и элтромбопаг – 38 пациентов). Частота полных ответов (тромбоциты в крови более $100 \times 10^9/\text{л}$) была выше при терапии ромиплостимом (69%) по сравнению с таковой при лечении элтромбопагом (47%).

Авторы делают вывод, что различия результатов, возможно, связаны со снижением приверженности пациентов лечению при неконтролируемом приеме препарата внутрь [20].

В публикации Zhang J. и соавторов 2018 года представлен систематический обзор, включающий метаанализ девяти рандомизированных плацебо-контролируемых исследований (786 участников) непрямого сравнения эффективности ромиплостима и элтромбопага при лечении взрослых пациентов с ИТП. Анализ показал, что частота общего тромбоцитарного ответа на терапию аТПОр, стойких ответов, нежелательных явлений, случаев кровотечений, в том числе клинически значимых, а также доля пациентов, получавших экстренную терапию «спасения», были одинаковыми при применении обоих аТПОр [21]. Данные рандомизированных клинических исследований отдельно по каждому из 2 аТПОр и результаты не прямых сравнительных исследований позволяют сделать заключение об отсутствии принципиальных различий в эффективности ромиплостима и элтромбопага.

В последние годы стала использоваться практика переключения с одного аТПОр на другой. По данным литературы, причинами переключения были неэффективность одного из препаратов, потеря ответа или значительные колебания количества тромбоцитов в процессе терапии, наличие побочных явлений, предпочтения пациентов. В публикации Cantoni S. и соавторов 2018 года представлен статистический анализ результатов обследования 106 пациентов, которые в период 2009–2015 гг. были переведены на другой аТПОр в 17 гематологических центрах Италии. Причиной переключения с одного аТПОр на другой в 67% случаев была неэффективность терапии первым аТПОр. После смены аТПОр 65% пациентов ответили на переключение. Оба варианта последовательности переключения аТПОр (с ромиплостима на элтромбопаг и с элтромбопага на ромиплостим) оказались одинаково эффективны. Пациенты, которые переключились по причинам, не связанным с отсутствием эффекта на лечение, были более склонны поддерживать ответ, чем те, кто переключился по причинам, связанным с неэффективностью предыдущего препарата (80% против 57,8%). Достоверной связи между такими факторами, как возраст, пол, спленэктомия в анамнезе и достижение/удержание ответа при переключении аТПОр, выявлено не было. При этом большая длительность заболевания и большее количество линий предшествующей терапии отрицательно повлияли на достижение ответа на терапию. Авторы отметили, что переход с одного аТПОр на альтернативный аТПОр может быть эффективным, даже если пациент не ответил или потерял ответ на первый аТПОр [22].

Еще один пероральный аТПОр – аватромбопаг – недавно был одобрен для лечения хронической ИТП у взрослых пациентов. Подобно элтромбопагу, аватромбопаг

связывается с трансмембранной областью рецептора ТПО и активирует пути передачи сигнала, приводящие к увеличению выработки тромбоцитов. Было проведено несколько клинических исследований, в том числе исследование 3-й фазы, в котором в течение 24 недель 32 взрослых пациента с хронической ИТП получали в качестве терапии аватромбопаг и 17 – плацебо. На 8-й день терапии наблюдалась более высокая частота тромбоцитарного ответа у пациентов, получавших аватромбопаг, по сравнению с получавшими плацебо (65–63% против 0–0%; $p < 0,0001$). Сопутствующие препараты для лечения ИТП в случае приема аватромбопага применялись значительно реже [23].

Также как и при использовании других аТПОр, проводятся исследования по переключению пациентов с ИТП с ромиплостима или элтромбопага на аватромбопаг. Такое ретроспективное обсервационное исследование взрослых с ИТП было проведено Hanny Al-Samkari и соавторами в четырех медицинских центрах США. В исследование были включены 44 пациента со средней продолжительностью ИТП 8,3 года. После переключения на аватромбопаг с других аТПОр в 93% случаев был достигнут тромбоцитарный ответ ($\geq 50 \times 10^9/\text{л}$), 86% пациентов достигли полного ответа ($\geq 100 \times 10^9/\text{л}$). Аватромбопаг оказался эффективным в том числе у пациентов с резистентностью к предшествующей терапии аТПОр [24].

Агонисты тромбопоэтиновых рецепторов сегодня являются стандартом второй линии лечения пациентов с ИТП в персистирующей и хронической стадии заболевания. Однако возможно их успешное применение и на более ранних этапах заболевания, причем результаты терапии более ранних стадий превосходят результаты более поздних [8]. Так, в работе Mingot-Castellano M.E. 2018 года при впервые выявленной ИТП тромбоцитарный ответ составил 93,3%, в то время как при персистирующей – 83,3%, при хронической – 79,4% [25].

В настоящее время наилучшим достижением терапии первичной ИТП являются ситуации, когда возможна отмена аТПОр с сохранением долгосрочной ремиссии. Публикации, посвященные возможности отмены аТПОр у пациентов, достигших тромбоцитарного ответа, появились начиная с 2011 года.

Делались попытки прекращения лечения при получении минимального или частичного тромбоцитарного ответа на терапию после предварительного постепенного снижения дозы аТПОр. В дальнейшем отмену аТПОр осуществляли, когда уровень тромбоцитов превышал $100 \times 10^9/\text{л}$ или хотя бы $50 \times 10^9/\text{л}$. В 2016 году Newland A. и соавторы опубликовали анализ 13 исследований, из которого следует, что независимым предиктором ремиссии без лечения, после отмены ромиплостима, является более короткая исходная продолжительность ИТП (≤ 12 месяцев). Такие факторы, как спленэктомия, кровотечения в анамнезе, оказались прогностически незначимыми [26]. В отечественной работе 2023 года были представлены результаты одноцентрового проспективного клинического исследования возможности отмены лечения аТПОр у пациентов с ИТП при достижении стабильного полного тромбоцитарного ответа. Терапия аТПОр отменена у 116 пациентов со стойким полным тромбоцитарным ответом (количество тромбоцитов $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$). Ко времени оценки результатов ремиссия сохранялась у 68 (59%) пациентов, при этом полный ТО – у 51 (44%). Наиболее ранняя потеря тромбоцитарного ответа была зафиксирована на 12-й неделе наблюдения без терапии, а наиболее поздняя – через 6 лет, максимальный срок сохранения ответа составил 9,5 года. Стойкий ТО



статистически значимо коррелировал с количеством линий предшествующей назначению аТПОр терапии [27].

На сегодняшний день отсутствуют рандомизированные исследования по снижению дозы и прекращению терапии аТПОр. В феврале 2023 г. был опубликован общеевропейский консенсус, в котором принимали участие специалисты из девяти европейских стран, по вопросу снижения дозы и прекращения терапии аТПОр у пациентов с ИТП, достигших тромбоцитарного ответа. Отмечена целесообразность снижения дозы аТПОр при достижении и сохранении оптимального ответа (тромбоциты $\geq 50-100 \times 10^9/\text{л}$) на терапию, независимо от дозы аТПОр у пациентов, получающих аТПОр не менее 6 месяцев, мотивированных к дальнейшему прекращению лечения, за 2–3 месяца до возможной отмены терапии. Также был достигнут консенсус по вопросу о возможности более медленного снижения дозы (от 6 до 12 месяцев) у пациентов с субоптимальным ответом на терапию аТПОр (количество тромбоцитов $> 50 \times 10^9/\text{л}$, отсутствие геморрагического синдрома) [28].

В качестве 3-й линии терапии первичной ИТП в персистирующей и хронической стадии в настоящее время применяется ритуксимаб. Он представляет собой моноклональное химерное антитело к CD20-антигену, которое экспрессируется на В-лимфоцитах. Препарат неселективно элиминирует весь В-клеточный пул, в том числе и клоны В-лимфоцитов, продуцирующие антитромбоцитарные антитела. По данным исследования Chugh S. и соавторов, которые провели систематический обзор и метаанализ 5 рандомизированных контролируемых исследований, оценивающих эффективность и безопасность ритуксимаба для лечения взрослых пациентов с первичной ИТП, сообщалось о получении общего ответа на ритуксимаб 57% (полный – 38%, частичный – 19%). У 38% пациентов ремиссия сохранялась в течение 1 года, у 21% – 5 лет [29].

В обновленном международном консенсусном отчете сообщалось о том, что возраст, пол и продолжительность периода от постановки диагноза до начала лечения могут являться предикторами ответа на ритуксимаб у взрослых пациентов с ИТП. Препарат более эффективен у пациентов в возрасте до 40 лет и женщин с длительностью ИТП менее года [8]. В настоящее время ритуксимаб не зарегистрирован для лечения ИТП. Однако по решению врачебной комиссии при наличии жизненных показаний и информированного согласия пациента может использоваться в обычной клинической практике [11]. Эффективность и безопасность применения препарата продолжают изучаться.

За рубежом для лечения взрослых пациентов с хронической ИТП, у которых был недостаточный ответ на предыдущее лечение, включая ГКС, аТПОр, спленэктомию, применяют пероральный лекарственный препарат фостаматиниб, который представляет собой селективный низкомолекулярный ингибитор селезеночной тирозинкиназы (Syk). Ингибируя активацию Syk в макрофагах, фостаматиниб блокирует опосредованный аутоантителами фагоцитоз тромбоцитов. По данным литературы, частота ответа составляет порядка 43% случаев, но стабильные ответы наблюдались только у 18% пациентов [30].

Достижение ответа на терапию у части пациентов с ИТП возможно при использовании в качестве третьей и последующих линий лечения таких лекарственных препаратов, как азатиоприн, даназол, дапсон, циклоспорин А, циклофосфамид, винкристин, винбластин. Все исследования по применению данной терапии

проводились на небольших и неоднородных группах пациентов, что не дает возможности объективной оценки эффективности, однако они могут рассматриваться в качестве возможной опции при рецидивирующих тяжелых формах ИТП [8, 11].

Для лечения пациентов с хронической рефрактерной иммунной тромбоцитопенической пурпурой возможно применение комбинированной терапии двумя и более препаратами [8, 11].

Таким образом, в настоящее время основная модель лечения взрослых пациентов с ИТП – использование в качестве первой линии терапии ГКС в ограниченные сроки, ВИГ – при острых ситуациях; назначение в качестве второй линии лечения аТПОр, при их неэффективности или непереносимости – смена терапии на другой аТПОр, при достижении стабильного тромбоцитарного ответа – постепенное снижение дозы с последующей отменой аТПОр. Применение препаратов этого класса позволяет добиваться стойких, длительных ремиссий и возможности прекращения терапии. Спленэктомия, а также использование ритуксимаба, иммунодепрессантов показаны только в качестве третьей и последующих линий лечения при неудаче на предыдущих этапах терапии.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Provan D, Stasi R, Newland A.C. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood*. 2010;115:168–186. doi: 10.1182/blood-2009-06-225565
2. Provan D, Semple J.W. Recent advances in the mechanisms and treatment of immune thrombocytopenia. *EBioMedicine*. 2022;76:103820.
3. Rabbolini D.J., Gardiner E.E., Morel-Kopp M.C. Anti-glycoprotein VI mediated immune thrombocytopenia: an under-recognized and significant entity? *Res Pract Thromb Haemost*. 2017;1:291–5.
4. Cheloff A.Z., Kuter D.J., Al-Samkari H. Serum complement levels in immune thrombocytopenia: characterization and relation to clinical features. *Res Pract Thromb Haemost*. 2020;4(5):807–812. doi: 10.1002/rth2.12388
5. Malik A., Anwar A. The role of CD8+ T-cell clones in immune thrombocytopenia. *Blood*. 2023;141(20):2417–2429.
6. Kaushansky K. Thrombopoietin: the primary regulator of megakaryocyte and platelet production. *Thromb Haemost*. 1995;74(1):521–5.
7. Kaushansky K., Drachman J.G. The molecular and cellular biology of thrombopoietin: the primary regulator of platelet production. *Oncogene*. 2002;21(21):3359–67. doi: 10.1038/sj.onc.1205323
8. Provan D., Arnold D.V., Bussel J.B. Updated International Consensus Report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood advances*. 2019;3(22):3780–3817.
9. Arnold D.M., Nazy I., Clare R. Misdiagnosis of primary immune thrombocytopenia and frequency of bleeding: lessons from the McMaster ITP registry. *Blood Adv*. 2017;1(25):2414–2420.
10. Melikyan A.L., Pustovaya E.I., Egorova E.K. Differential diagnosis of thrombocytopenia. *Onkogematologiya*. 2017;12(1):78–87. doi: 10.17650/1818-8346-2017-12-1-78-87. (in Russian)
11. *Russian clinical guidelines. Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) in adults. (Internet)*. Available at: [https:// npng.ru/uploads/media document/631/4a7a26c4-0f1b-4588-b2db-4b99d54d72e5.pdf](https://npng.ru/uploads/media/document/631/4a7a26c4-0f1b-4588-b2db-4b99d54d72e5.pdf). (accessed 30.06.2023).
12. Mithoowani S., Gregory-Miller K. High-dose dexamethasone compared with prednisone for previously untreated primary immune thrombocytopenia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Haematol*. 2016;3(10):e489–e496. doi: 10.1016/S2352-3026(16)30109-0
13. Todd S., Sardo Infirri S., Miah H. Splenectomy in immune thrombocytopenia: do changing treatment patterns for ITP affect outcome? data from the UK ITP registry. *Br J Haematol*. 2020;189(51):11–12.
14. Sarpatwari A., Provan D., Erqou S. Autologous 111 in-labelled platelet sequestration studies in patients with primary immune thrombocytopenia (ITP) prior to splenectomy: a report from the United Kingdom ITP registry. *Br J Haematol*. 2010;151(5):477–487.
15. Wang L. Efficacy and safety of thrombopoietin receptor agonists in patients with primary immune thrombocytopenia: A systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2016;6:39003.
16. Cines D.B., Wasser J., Rodeghiero F. Safety and efficacy of Romiplostim in splenectomized and nonsplenectomized patients with primary Immune thrombocytopenia. *Haematologica*. 2017;102(8):1342–1351.
17. Wong R.S.M., Saleh M.N., Khelif A. Safety and efficacy of long-term treatment of chronic/persistent ITP with eltrombopag: final results of the EXTEND study. *Blood*. 2017;130(23):2527–2536.
18. González-López T.J., Alvarez-Román M.T., Pascual C. Eltrombopag safety and efficacy for primary chronic immune thrombocytopenia in clinical practice. *Eur J Haematol*. 2016;97(3):297–302.
19. Cooper K., Matcham J., Helme K. Update on romiplostim and eltrombopag indirect comparison. *Int J Technol Assess Health Care*. 2014;30(1):129–130.
20. Ptushkin V.V., Vinogradova O.Yu., Pankrashkina M.M. *Thrombopoietin receptor agonists in the treatment of chronic resistant primary immune thrombocytopenia: efficacy and safety in daily clinical practice*. Available at: <https://doi.org/10.26442/terarkh201890770-76>. (in Russian)
21. Zhang J., Liang Y., Ai Y., Li X. Eltrombopag versus romiplostim in treatment of adult patients with immune thrombocytopenia: a systematic review incorporating an indirect-comparison meta-analysis. *PLoS One*. 2018;13(6):e0198504. doi: 10.1371/journal.pone.0198504



22. Cantoni S., Carpenedo M., Mazzucconi M.G. Alternate use of thrombopoietin receptor agonists in adult primary immune thrombocytopenia patients: a retrospective collaborative survey from Italian hematology centers. *Am J Hematol.* 2018;93(1):58–64. doi: 10.1002/ajh.24935
23. Jurczak W., Chojnowski K., Mayer J. Phase 3 randomised study of avatrombopag, a novel thrombopoietin receptor agonist for the treatment of chronic immune thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 2018;183(3):479–490.
24. Al-Samkari H., Jiang D., Gernsheimer T. Adults with immune thrombocytopenia who switched to avatrombopag following prior treatment with eltrombopag or romiplostim: A multicentre US study. *Br J Haematol.* 2022;197(3):359–366. doi: 10.1111/bjh.18081
25. Mingot-Castellano M.E., Caparrós I.S., Fernández F. Treatment characteristics, efficacy and safety of thrombopoietin analogues in routine management of primary immune thrombocytopenia. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2018;29(4):374–380. doi: 10.1097/mbc.0000000000000726
26. Newland A., Godeau B., Priego V. Remission and platelet responses with romiplostim in primary immune thrombocytopenia: final results from a phase 2 study. *Br J Haematol.* 2016;172(2):262–273.
27. Vinogradova O.Yu., Pankrashkina M.M., Neverova A.L. Primary immune thrombocytopenia and thrombopoietin receptor agonist: the possibility of discontinuation of treatment when a stable complete platelet response is achieved. *Klinicheskaya onkologematologiya.* 2023;16(4):413–25. (in Russian)
28. Barlassina A., González-López T.J. *European Delphi panel to build consensus on tapering and discontinuing thrombopoietin receptor agonists in immune thrombocytopenia.* Article: 2170999.
29. Chugh S., Darvish-Kazem S., Lim W. Rituximab plus standard of care for treatment of primary immune thrombocytopenia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Haematol.* 2015;2(2):e75–e81.
30. Bussel J., Arnold D.M., Grossbard E. Fostamatinib for the treatment of adult persistent and chronic immune thrombocytopenia: results of two phase 3, randomized, placebo-controlled trials. *Am J Hematol.* 2018;93(7):921–930.



Мурзабекова М.А.¹✉, Марченко Я.М.^{1,2}, Шихбабаева Д.И.³, Виноградова О.Ю.³⁻⁵

¹ Ставропольский краевой клинический онкологический диспансер, Ставрополь, Россия

² Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

³ Городская клиническая больница имени С.П. Боткина, Москва, Россия

⁴ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

⁵ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Генетические аспекты классических Rh-негативных миелопролиферативных новообразований (обзор литературы)

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн обзора, редактирование, окончательный вариант – Мурзабекова М.А.; анализ литературы, сбор данных, обработка, написание текста – Марченко Я.М.; Шихбабаева Д.И. – подготовка рукописи; Виноградова О.Ю. – окончательное одобрение рукописи, административная поддержка.

Подана: 12.03.2024

Принята: 29.04.2024

Контакты: maret2@ya.ru, yandex2005@mail.ru, djeri.shih@mail.ru, olgavinz@mail.ru

Резюме

Rh-негативные миелопролиферативные новообразования – это группа заболеваний, которые характеризуются клональной пролиферацией одной или нескольких клеточных линий миелоидных предшественников, а также соединительнотканых компонентов костного мозга и сопровождаются изменениями показателей крови. В соответствии с классификацией Всемирной организации здравоохранения 2022 года к Rh-негативным новообразованиям относятся истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз, хронический нейтрофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз и миелопролиферативное новообразование, неклассифицируемое. Патогенез миелопролиферативных новообразований связан с клональной пролиферацией неопластически измененной стволовой клетки. При этом центральным патогенетическим механизмом является независимая от цитокинов активация пути JAK-STAT, приводящая к изменениям экспрессии генов, которые вызывают патологическую пролиферацию и дальнейшее функциональное нарушение костного мозга. К активации JAK/STAT-сигнального пути приводят так называемые драйверные мутации: замена фенилаланина на валин в 617-м положении гена янускиназы второго типа (JAK2V617F), мутации в 9-м экзоне гена кальретикулина (CALR), в гене рецептора тромбопоэтина (MPL), а также эпигенетические мутации, такие как SF3B1, TP53, ASXL1, ETV6, RUNX1, GATA2, DNMT3A, TET2, IDH1/2, SRSF2, SETBP1, NRAS/KRAS, CBL, PTPN11, EZH2. В статье представлен обзор литературы, посвященный генетическим аспектам миелопролиферативных новообразований, представляющих важность как для диагностики, так и для оценки риска прогрессирования заболеваний.



Ключевые слова: Ph-негативные миелопролиферативные новообразования, миелофиброз, истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, ген JAK2, ген CALR, ген MPL, драйверные мутации, эпигенетические мутации

Murzabekova M.¹, Marchenko Ya.^{1,2}, Shikhbabaeva D.³, Vinogradova O.³⁻⁵

¹ Stavropol Regional Clinical Oncology Center, Stavropol, Russia

² Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

³ Botkin Hospital, Moscow, Russia

⁴ Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

⁵ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Genetic Aspects Classical Ph-negative Myeloproliferative Neoplasms (Literature Review)

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: the concept and design of the review, editing, final version – Murzabekova M.; literature analysis, data collection, processing, writing the manuscript – Marchenko Y.; Shikhbabaeva D. – preparation of the manuscript for printing; Vinogradova O. – final approval of the article, administrative support.

Submitted: 12.03.2024

Accepted: 29.04.2024

Contacts: maret2@ya.ru, yandex2005@mail.ru, djeri.shih@mail.ru, olgavinz@mail.ru

Abstract

Ph-negative myeloproliferative neoplasms are a group of diseases characterized by clonal proliferation of one or more cell lines of myeloid precursors, as well as connective tissue components of the bone marrow and accompanied by changes in blood parameters. According to the classification of the World Health Organization 2022, classic Ph-negative neoplasms include polycythemia vera, essential thrombocythemia and primary myelofibrosis, chronic neutrophilic leukemia, chronic eosinophilic leukemia, juvenile myelomonocytic leukemia and myeloproliferative neoplasm, unclassified. The pathogenesis of myeloproliferative neoplasms is associated with clonal proliferation of neoplastically formed stem cells. The central pathogenetic mechanism is cytokine-independent activation of the JAK-STAT pathway, leading to changes in gene expression that cause pathological proliferation and further functional impairment of the bone marrow. The activation of the JAK/STAT signaling pathway is caused by so-called driver mutations: replacement of phenylalanine with valine at position 617 of the type II januskinase gene (JAK2V617F), mutations in exon 9 of the calreticulin gene (CALR), in the thrombopoietin receptor gene (MPL), as well as epigenetic mutations such as SF3B1, TP53, ASXL1, ETV6, RUNX1, GATA2, DNMT3A, TET2, IDH1/2, SRSF2, SETBP1, NRAS/KRAS, CBL, PTPN11, EZH2. The article presents a review of the literature on the genetic aspects of myeloproliferative neoplasms, which are important both for the diagnosis and for assessment of the risk of complications and disease progression.

Keywords: Ph-negative myeloproliferative neoplasms, myelofibrosis, polycythemia vera, essential thrombocythemia, JAK2 gene, CALR gene, MPL gene, driver mutations, epigenetic mutations

Классические Ph-негативные миелопролиферативные новообразования (МПН) – это группа заболеваний, которые характеризуются клональной пролиферацией одной или нескольких клеточных линий миелоидных предшественников, а также соединительнотканых компонентов костного мозга и сопровождаются изменениями показателей крови. В соответствии с классификацией Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2022 г. Ph-негативные МПН подразделяются на истинную полицитемию (ИП), эссенциальную тромбоцитемию (ЭТ), первичный миелофиброз (ПМФ), хронический нейтрофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз и миелопролиферативное новообразование, неклассифицируемое. При этом первые три нозологии традиционно относят к так называемым классическим Ph-негативным МПН, они составляют до 98% от всех Ph-негативных МПН [1].

Для классических Ph-негативных МПН характерно длительное хроническое течение с постепенным прогрессированием в виде значимого нарушения качества жизни пациентов. Эта группа заболеваний может манифестировать повышением количества тромбоцитов, эритроцитов и лейкоцитов по отдельности или в комбинации, а также в виде фиброза костного мозга или экстрамедуллярного гемопоэза, спленомегалии. Для МПН характерен высокий риск тромбгеморрагических осложнений по сравнению с популяцией здоровых лиц аналогичного возраста [2]. Прогрессирование истинной полицитемии и эссенциальной тромбоцитемии приводит к трансформации в постполицитемический или посттромбоцитемический МФ с последующим риском трансформации в острый миелоидный лейкоз.

Причины возникновения МПН до сих пор остаются невыясненными. Предполагается сочетание генетической предрасположенности и внешних воздействий (ионизирующей радиации и химических мутагенов), приводящих к повреждению генетического аппарата клетки и блокированию механизма апоптоза [3].

Патогенез МПН связан с клональной пролиферацией неопластически измененной стволовой клетки. На поздних стадиях злокачественного перерождения клетки возникают так называемые драйверные мутации, запускающие молекулярно-генетический каскад с развитием неконтролируемого деления клеток. Центральным патогенетическим механизмом МПН является независимая от цитокинов активация пути JAK-STAT, приводящая к изменениям экспрессии генов, которые вызывают патологическую пролиферацию и дальнейшее функциональное нарушение костного мозга [4]. Цитокин-независимый рост клеток приводит к увеличению количества эритроцитов, лейкоцитов и/или тромбоцитов в периферической крови [3]. Активации JAK/STAT-сигнального пути способствуют драйверные мутации: замена на валин фенилаланина в 617-м положении гена янускиназы второго типа (JAK2V617F), мутации в 9-м экзоне гена кальретикулина (CALR), в гене рецептора тромбопоэтина (MPL), а также эпигенетические мутации, такие как SF3B1, TP53, ASXL1, ETV6, RUNX1, GATA2, DNMT3A, TET2, IDH1/2, SRSF2, SETBP1, NRAS/KRAS, CBL, PTPN11, EZH2 [5–7].

В настоящее время нет однозначного объяснения, почему одинаковая стимуляция JAK-STAT сигнального пути приводит к развитию различных нозологических форм МПН (ЭТ, ИП или ПМФ). Существует несколько гипотез, объясняющих это явление:

- мутация возникает в различных стволовых клетках при разных нозологических формах;



- гипотеза мутационной нагрузки, предполагающая, что разная аллельная нагрузка мутации JAK2V617F в гене JAK2 предопределяет разные болезни;
- носительство различных вариантов генотипа, обуславливающих наследственную предрасположенность к различным формам МПН;
- различные генетические повреждения до появления мутации [8].

Определенный интерес представляют исследования взаимосвязи аллельной нагрузки с нозологическими формами МПН. Было отмечено, что самая низкая аллельная нагрузка – $26\pm 15\%$ – наблюдалась у пациента с ЭТ, более высокая – у пациентов с ИП ($48\pm 26\%$) и ПМФ ($72\pm 24\%$), а также с постполицитемическим и посттромбоцитемическим миелофиброзом ($46\pm 30\%$) [9].

Наиболее распространенным маркером клональной пролиферации у пациентов с Rh-негативными МПН является мутация V617F гена JAK2, встречающаяся с частотой 95–98% при ИП и 50–60% при ПМФ и ЭТ [2]. Она возникает в мультипотентном гемопоэтическом предшественнике и присутствует во всех миелоидных линиях, что делает ее четким маркером клональной пролиферации ХМПН. В частности, эта мутация наблюдается в 2–13% случаев при хроническом миеломоноцитарном лейкозе (ХММЛ), в 50–70% случаев рефрактерной анемии с кольцевыми сидеробластами и тромбоцитозом (РАКС-Т) и менее чем у 10% пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) [10]. Гомозиготность мутации JAK2V617F и выраженность аллельной нагрузки прямо коррелируют с вариантом и течением заболеваний. В частности, пациенты с МПН – носители гомозиготной мутации JAK2V617F имеют более выраженные симптомы заболевания, такие как массивная спленомегалия, высокий риск тромботических осложнений. Мутация JAK2V617F в гомозиготном состоянии чаще всего наблюдается у пациентов с ИП и ПМФ – около 30% случаев, тогда как при ЭТ – только у 2–4% пациентов. У пациентов с ИП высокая аллельная нагрузка JAK2V617F ассоциирована с увеличением уровня гемоглобина и нейтрофилов, выраженностью симптомов опухолевой интоксикации (аквагенный зуд), а также скоростью трансформации с развитием постполицитемического миелофиброза (МФ) [11]. При ЭТ мутация JAK2V617F ассоциирована с высоким уровнем гемоглобина и лейкоцитозом, умеренным тромбоцитозом, высоким риском венозных тромбозов [12]. Пациенты с ПМФ с мутацией JAK2V617F имеют большие размеры селезенки, высокий лейкоцитоз, тромбоцитоз, низкий уровень гемоглобина, что является прогностическими факторами развития бластного криза и невысоких показателей общей выживаемости [13]. Самая низкая аллельная нагрузка ($26\pm 15\%$) наблюдается у пациентов с ЭТ, более высокая – у пациентов с ИП ($48\pm 26\%$) и ПМФ ($72\pm 24\%$), а также постполицитемическим и посттромбоцитемическим МФ ($46\pm 30\%$) [14]. Полученные результаты дали основание для возникновения теории «мутационной нагрузки» патогенеза МПН, основное положение которой гласит, что разный уровень аллельной нагрузки JAK2V617F обуславливает разную степень гиперфункции сигнального пути JAK-STAT и обуславливает разный фенотип МПН [8].

Клональность патологического процесса у пациентов с JAK2V617F-негативным статусом обеспечивается другими драйверными мутациями, в частности в гене (MPL), который кодирует рецептор тромбопоэтина (ТРО), расположенный в экзоне 10: мутация MPLW515L (замена гуанина на тимидин) и MPLW515K (замена триптофана на лизин). Мутация MPLW515L вызывает спонтанную активацию рецептора MPL и сигнального пути JAK-STAT, а также цитокин-независимую пролиферацию

кроветворных клеток. Мутация MPLW515L стимулирует пролиферацию клеток из-за повышения чувствительности рецептора к тромбопоэтину. На мышинных моделях показано, что мутация MPLW515L приводит к развитию МПН, протекающему с тромбоцитозом, спленомегалией, инфарктами селезенки и фиброзом костного мозга [10]. Мутации гена MPL не встречаются у пациентов с ИП, но могут быть выявлены у пациентов со вторичным ОМЛ [15]. Частота выявления мутаций MPLW515L и MPLW515K у пациентов с ПМФ и ЭТ составляет 2,6% и 8,5% соответственно. При наличии мутации MPL заболевание характеризуется высоким тромбоцитозом, низким содержанием гемоглобина, низкой клеточностью костного мозга [16].

Активация сигнального пути JAK-STAT также может осуществляться посредством драйверной мутации в гене кальретикулина (CALR), выявляемой у 30–45% пациентов с МПН с отсутствием мутаций генов JAK2 и MPL [10]. В настоящее время насчитывается в общей сложности более 50 типов соматических мутаций (инсерции и делеции) в экзоне 9 гена CALR. В исследовании T. Klampfl и соавт. (2013) [17] мутации были обнаружены у 67% пациентов с ЭТ и 88% – с ПМФ при отсутствии мутаций MPL, JAK2. В том же году J. Nangalia и соавт. [18] провели полноэкзомное секвенирование на большом количестве образцов ДНК. Авторы выявили соматические мутации CALR у 70–84% пациентов с МПН с отсутствием мутаций JAK2. Кроме того, мутации гена CALR определяются при миелодиспластическом синдроме (МДС), ХММЛ, атипичном хроническом миелолейкозе (ХМЛ), но не при ПАКС-Т, ОМЛ, системном мастоцитозе, эозинофильных расстройствах, реактивных состояниях, идиопатических эритроцитозах, лимфомах, солидных опухолях и в контрольной группе [10]. Наиболее распространенные варианты мутаций гена CALR представлены мутациями p.L367fs*46 (тип 1) и p.K385fs*47 (тип 2). Тип 1 (52-bp делеция) и тип 2 (5-bp инсерция) были обнаружены в 45–53 и 32–41% случаев соответственно [17, 18]. JAK2V617F и мутации гена CALR считаются взаимоисключающими. Тем не менее встречаются отдельные сообщения о случаях с одновременным выявлением этих мутаций [19]. Пациенты с мутациями CALR имеют фенотип заболевания, отличающийся от фенотипа при мутациях JAK2, MPL. ЭТ протекает с более низким уровнем гемоглобина и количеством лейкоцитов, более высоким тромбоцитозом и низким риском развития тромбозов, высоким риском посттромбоцитемического МФ. Пациенты обычно молодого возраста, преимущественно мужчины [17, 18]. У пациентов с ПМФ мутации CALR были связаны с высоким тромбоцитозом, нормальным количеством лейкоцитов, низкой частотой анемии и трансфузионной зависимости от переливания эритроцитарной взвеси. Заболевание преимущественно диагностировалось в молодом возрасте, а пациенты относились к группе низкого риска в соответствии со шкалой DIPSS+ [19]. У пациентов с ПМФ с мутацией CALR 1-го типа установлена более длительная общая выживаемость по сравнению с пациентами с мутацией CALR 2-го типа и JAK2 [20].

В настоящее время накоплено достаточно знаний о диагностической ценности основных драйверных мутаций, и они включены в критерии для постановки диагноза Ph-негативного МПН по критериям ВОЗ, 2022 [1]. В частности, для ПМФ разработаны прогностические шкалы MIPSS70, MIPSSv2 и GIPSS, учитывающие мутации JAK2, MPL и CALR. Шкала MIPSS70 (Mutation-enhanced International Prognostic Scoring System for transplant-age patients) основана на мутациях и клинических показателях, MIPSSv2 (версия 2.0 шкалы MIPSS70) учитывает мутационный статус, кариотип и клинические показатели; GIPSS (the Genetically-Gnspired Prognostic Scoring System)



основана исключительно на мутациях и кариотипе. Кроме того, существует прогностическая шкала MYSEC-PM (Myelofibrosis Secondary to PV and ET Prognostic Model), которая учитывает характер (первичный или вторичный) МФ и определяет прогностическую роль мутационного статуса CALR при вторичном МФ. Для прогнозирования исхода после алло-ТГСК разработана прогностическая шкала MTSS (Myelofibrosis Transplant Scoring System), которая учитывает драйверные мутации CALR и MPL [21]. Драйверная мутация JAK2 также учитывается при стратификации риска тромбгеморрагических осложнений при ЭТ.

Вместе с тем около 5–10% пациентов с Ph-негативными МПН являются «тройными негативными», т. е. у них не обнаруживаются мутации в генах JAK2, MPL и CARL. Эта группа пациентов считается прогностически наиболее неблагоприятной по выживаемости, имеет повышенный риск трансформации в ОМЛ и относится к группе высокого риска. Кроме того, в 80% случаев «трижды негативных» Ph-негативных МПН встречается хотя бы одна из эпигенетических мутаций, таких как SF3B1, TP53, ASXL1, ETV6, RUNX1, GATA2, DNMT3A, TET2, IDH1/2, SRSF2, SETBP1, NRAS/KRAS, CBL, PTPN11, EZH2. Их наличие имеет прогностическое значение, а также используется для верификации диагноза (подтверждение клональности) при «трижды негативных» случаях классических Ph-негативных МПН.

Указанные мутации не являются специфичными для классических Ph-негативных МПН, они встречаются при других миелоидных опухолях – МДС, ОМЛ. Было показано, что большинство из них участвует в прогрессии клонального гемопоэза заболевания, причем соматические мутации могут происходить до появления клона с мутацией JAK2, одновременно или как позднее молекулярное событие во время прогрессирования заболевания [22].

TET2 представляет собой ген, кодирующий метилцитозиндиоксигеназу. Данный фермент катализирует превращение 5-метилцитозина до 5-гидроксиметилцитозина, который играет ключевую роль в активном деметилировании ДНК. Мутации этого гена встречаются в 19% наблюдений при МДС, 12% – МПН, 24% – вторичном ОМЛ и 22% – ХММЛ. При ИП мутация гена выявляется в 16% наблюдений, ЭТ – в 5%, ПМФ – в 17%, при постполицитемическом и посттромбоцитемическом МФ – в 14%, в фазе бластного криза классических Ph-негативных МПН – в 17% [2, 13]. Мутация TET2 представляет собой позднее молекулярное событие, т. е. JAK2V617F предшествует ее появлению [22]. Мутация TET2 может присутствовать в независимых клонах у пациентов при прогрессировании заболевания с развитием вторичного ОМЛ [23].

Ген ASXL1 находится на хромосоме 20q11.1. Мутации данного гена являются одними из наиболее часто встречающихся у пациентов с миелоидными новообразованиями. Мутации ASXL1 были описаны у 11% пациентов с МДС, у 43% – с ХММЛ, у 7% – с первичным ОМЛ и у 47% – со вторичным ОМЛ. Мутации ASXL1 могут быть выявлены одновременно с мутацией TET2 [24]. В исследовании O. Abdel-Wahab и соавт. было показано, что мутации TET2 и ASXL1 были обнаружены у 26,3 и 19,3% пациентов со вторичным ОМЛ, развившимся в результате прогрессирования МПН. В исследовании мутационного статуса у 149 пациентов с МПН мутации ASXL1 встречались с высокой частотой у пациентов с ПМФ (20 %) по сравнению с ИП (7%) и ЭТ (4%) [25]. Данное молекулярное событие приводит к изменению уровня транскрипции и связано с неблагоприятным прогнозом у пациентов с МПН.

Изменения структуры хромосомы 7 или 7q часто встречаются и коррелируют с плохим прогнозом у пациентов с МПН. Одним из генов, расположенных на 7q36.1, является EZH2. В случае миелоидных заболеваний определяются мутации с потерей функции белка: при МДС/МПН – 12%, ПМФ – 13%, ИП – 3% [26]. В когорте 879 пациентов с ПМФ мутации EZH2 были связаны с не менее 1% циркулирующих бластных клеток и невысокой выживаемостью [27].

Гены IDH1 и IDH2 (isocitrate dehydrogenase 1 and 2) кодируют цитозольную и митохондриальную формы изоцитратдегидрогеназы, катализирующей превращение изоцитрата в α -кетоглутарат. В результате мутации генов IDH1/2 изменяется активность фермента и, как следствие, гиперметилирование ДНК. Нарушение эпигенетической регуляции, в свою очередь, вызывает подавление процесса дифференцировки гемопоэтических клеток. Частота мутаций IDH1/2 при ПМФ встречается до 4%, а при ОМЛ может достигать 33% [2]. При этом в хронической фазе МПН встречаются с низкой частотой (<5%), в фазе бластного криза частота возрастает до 21%. Риск прогрессирования заболевания с трансформацией во вторичный ОМЛ в группе 879 пациентов с ПМФ был значительно выше в случае выявления мутации IDH1 или IDH2 [28].

Ген DNMT3A (DNA methyltransferase) кодирует ДНК-метилтрансферазу 3A, осуществляющую метилирование de novo CpG-островков различных генов, тем самым участвуя в эпигенетической модификации экспрессии генов. Мутации DNMT3A диагностируются в 18–22% случаев ОМЛ у взрослых и связаны с плохим прогнозом вне зависимости от возраста пациентов, в 8% – МДС, в 7% – ИП, в 3% – ЭТ [2].

Ген CBL (гомологи c-Cbl, Cbl-b и Cbl-c) представляет собой протоонкоген, который расположен на хромосоме 11q23. Функция белка, кодируемого данным геном, заключается в фосфорилировании тирозинкиназ. В экспериментах на мышиных моделях показано, что наличие мутации CBL приводит к активации пролиферации стволовых клеток, спленомегалии, повышению чувствительности к факторам роста и развитию инвазивного рака. Мутация в области RING домена c-Cbl является причиной МПН с быстрой прогрессией заболевания и трансформацией во вторичный ОМЛ [29]. Впервые мутация CBL выявлена у пациентов с ОМЛ, позднее миссенс-мутации описаны у пациентов с МПН, ХММЛ, ювенильным ХММЛ, атипичным ХМЛ. Частота мутаций CBL составляет около 5–17% при ХММЛ, 19% при ювенильном ХММЛ и 6% при ПМФ [2]. Мутации CBL сосуществуют с RUNX1, TP53, FLT3 и JAK2 [29]. Мутации CBL встречаются в случае бластного криза классических JAK2V617F-позитивных МПН, что позволяет предположить их значение в прогрессировании заболевания [23].

Ген TP53 кодирует белок – опухолевый супрессор, участвующий в регуляции экспрессии генов-мишеней, регулирующих клеточный цикл, апоптоз, репарацию ДНК. Потеря функции гена связана с появлением различных злокачественных опухолей человека. Мутация гена TP53 выявлена в 45,5% МПН в фазе бластного криза и только в 4% в хронической фазе [30]. Таким образом, мутации TP53 играют важную роль в процессе трансформации заболевания.

Белки, кодируемые генами NRAS/KRAS, являются членами семейства RAS. Они контролируют передачу сигнала внутри клетки и играют важную роль в прогрессии заболевания. Выявляются у 13% пациентов с МПН в фазе бластного криза [23].

Таким образом, разнообразие фенотипа МПН определяется генетической гетерогенностью. Мутации в первую очередь затрагивают гены, осуществляющие контроль цитокиновых сигнальных путей, в частности путь JAK-STAT, который имеет решающее



значение в пролиферации и дифференцировке гемопоэтических клеток. JAK2V617F, CALR и реже MPL являются основными клональными маркерами МПН. С другой стороны, эпигенетические нарушения также играют важную роль в развитии МПН. Гены ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/2 и DNMT3A участвуют в эпигенетической регуляции и формируют фенотип МПН, а также МДС и заболеваний из группы МДС/МПН [29]. Гены ASXL1, EZH2, TP53, CBL, IKZF, NF1, RUNX1, LNK, NRAS/KRAS и SRSF2 условно объединены в группу, отвечающую за лейкозную прогрессию заболевания [30].

Современные знания свидетельствуют, что мутация JAK2V617F не может быть первым событием в сложном патогенезе МПН. В возникновении, развитии данных заболеваний принимают участие гены, контролирующие передачу сигналов внутри клетки, ремоделирование хроматина, метилирование ДНК, онкогены и опухолевые супрессоры. Несмотря на то, что на сегодняшний день определена роль многих мутаций, существенно влияющих на прогноз и течение заболеваний, остаются вопросы, которые требуют дальнейших исследований для уточнения роли других молекулярных событий в формировании фенотипа каждой отдельной нозологии в группе Рн-негативных МПН и выявления дополнительных молекулярных маркеров. Новые данные имеют неоспоримое значение для синтеза таргетных препаратов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Khuory et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1703–1719. doi: 10.1038/s41375-022-01613-1
2. Pop V.P. Classification and pathogenesis myeloid neoplasms. *Hematology: national guidelines*. Edited by Rukavitsyn. Moscow: GEOTAR-Media; 2015 (in Russian)
3. Lundberg P, Karow A., Nienhold R. et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2014;123(14):2220.
4. Subbotina T., Maslyukova I., Semashchenko K. et al. Analysis of somatic mutations in the JAK2, CALR, MPL and ASXL1 genes and evaluation of their impact on the survival of patients with myelofibrosis. *Oncohematology*. 2023;18(1):63–75. (in Russian). doi: 10.17650/1818-8346-2023-18-1-63-75
5. Levine R.L., Wadleigh M., Cools J. et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell*. 2005;7(4):387–397.
6. Klampfl T., Gisslinger H., Harutyunyan A.S. et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;369:2379–2390.
7. Beer P.A., Campbell P.J., Scott L.M. et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood*. 2008;112(1):141–149.
8. Shuvaev V. *Optimization of diagnostic and treatment programs for patients with myeloproliferative neoplasms*. Saint-Peterburg. 2020;286 p. (in Russian)
9. Vannucchi A.M., Antonioli E., Guglielmelli P. et al. Clinical correlates of JAK2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: a critical reappraisal. *Leukemia*. 2008;22(7):1299–1307.
10. Melikyan A., Subortseva I. Biology of Myeloproliferative Malignancies. *Clinical oncohematology*. 2016;9(3):314–25. (in Russian). doi: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-314-325
11. Tefferi A., Pardanani A. Myeloproliferative neoplasms – a contemporary review. *JAMA Oncol*. 2015;1(1):97–105. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.89
12. Wang M., He N., Tian T., et al. Mutation analysis of JAK2V617F, FLT3-ITD, NPM1, and DNMT3A in Chinese patients with myeloproliferative neoplasms. *BioMed Res Int*. 2014;2014:485645. doi: 10.1155/2014/485645
13. Barosi G., Bergamaschi G., Marchetti M., et al. JAK2 V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis. *Blood*. 2007;110(12):4030–6. doi: 10.1182/blood-2007-07-099184
14. Vannucchi A.M., Antonioli E., Guglielmelli P. et al. Clinical correlates of JAK2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: a critical reappraisal. *Leukemia*. 2008;22(7):1299–1307.
15. Hussein K., Bock O., Theophile K., et al. MPLW515L mutation in acute megakaryoblastic leukaemia. *Leukemia*. 2009;23(5):852–5. doi: 10.1038/leu.2008.371
16. Beer P.A., Campbell P.J., Scott L.M., et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood*. 2008;112(1):141–9. doi: 10.1182/blood-2008-01-131664.
17. Klampfl T., Gisslinger H., Harutyunyan A.S., et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2379–90. doi: 10.1056/NEJMoa1311347
18. Nangalia J., Massie C.E., Baxter E.J., et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2391–405. doi: 10.1056/NEJMoa1312542.
19. Cervantes F., Colomer D., et al. Role of calreticulin mutations in the aetiological diagnosis of splanchnic vein thrombosis. *J Hepatol*. 2015;62(1):72–4. doi: 10.1016/j.jhep.2014.08.032.

20. Tefferi A., Lasho T.L., Finke C., et al. Type 1 vs type 2 calreticulin mutations in primary myelofibrosis: differences in phenotype and prognostic impact. *Leukemia*. 2014;28(7):1568–70. doi: 10.1038/leu.2014.83
21. Morsia E., Torre E., Poloni A., et al. Molecular Pathogenesis of Myeloproliferative Neoplasms: From Molecular Landscape to Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci*. 2022;23(9):4573. doi: 10.3390/ijms23094573
22. Delhommeau F., Dupont S., Della Valle V., et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med*. 2009;360(22):2289–301. doi: 10.1056/NEJMoa0810069
23. Beer P.A., Delhommeau F., LeCouedic J.P., et al. Two routes to leukemic transformation after a JAK2 mutation-positive myeloproliferative neoplasm. *Blood*. 2010;115(14):2891–900. doi: 10.1182/blood-2009-08-236596.
24. Carbuca N., Murati A., Trouplin V., et al. Mutations of ASXL1 gene in myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 2009;23(11):2183–6. doi: 10.1038/leu.2009.141.
25. Breckueville M., Rey J., Bertucci F., et al. Mutation analysis of ASXL1, CBL, DNMT3A, IDH1, IDH2, JAK2, MPL, NF1, SF3B1, SUZ12, and TET2 in myeloproliferative neoplasms. *Genes Chromos Cancer*. 2012;51(8):743–55. doi: 10.1002/gcc.21960.
26. Ernst T., Chase A.J., Score J., et al. Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. *Nat Genet*. 2010;42(8):722–6. doi: 10.1038/ng.621.
27. Vannucchi A.M., Lasho T.L., Guglielmelli P., et al. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia*. 2013;27(9):1861–9. doi: 10.1038/leu.2013.119.
28. Rathinam C., Thien C.B., Flavell R.A., Langdon W.Y. Myeloid leukemia development in c-Cbl RING finger mutant mice is dependent on FLT3 signaling. *Cancer Cell*. 2010;18(4):341–52. doi: 10.1016/j.ccr.2010.09.008
29. Raza S., Viswanatha D., Frederick L., et al. TP53 mutations and polymorphisms in primary myelofibrosis. *Am J Hematol*. 2012;87(2):204–6. doi: 10.1002/ajh.22216
30. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia*. 2010;24(6):1128–38. doi: 10.1038/leu.2010.69



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.2.012>



Саридзе Э.Х.✉, Зарембо С.А.

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

Практические вопросы коррекции гемодинамики

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: авторы внесли равный вклад в подготовку статьи.

Подана: 07.05.2024

Принята: 10.06.2024

Контакты: esarydze@mail.ru

Резюме

Коррекция гемодинамики представляет собой важный аспект в лечении различных сердечно-сосудистых заболеваний и критических состояний. В условиях современной медицины развитие технологий и углубление знаний о механизмах регуляции кровообращения позволяют врачам более эффективно управлять параметрами гемодинамики, улучшая прогноз и качество жизни пациентов. В данной статье будут рассмотрены ключевые практические вопросы, связанные с коррекцией гемодинамики, включая использование фармакологических препаратов, внедрение инвазивных и неинвазивных методов мониторинга, а также стратегии персонализированного подхода в терапии. Основное внимание уделено клиническим рекомендациям и практическим аспектам, которые помогут медицинским работникам принимать обоснованные решения в условиях реальной клинической практики.

Ключевые слова: гемодинамика, инфузионная терапия, кристаллоиды, коллоиды, альбумин

Saridze E., Zarembo S.

N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk, Belarus

Practical Issues in Hemodynamic Correction

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: all authors contributed equally to the article.

Submitted: 07.05.2024

Accepted: 10.06.2024

Contacts: esarydze@mail.ru

Abstract

Hemodynamic correction is a crucial aspect in the treatment of various cardiovascular diseases and critical conditions. In the context of modern medicine, advancements in technology and a deeper understanding of the mechanisms regulating blood circulation allow physicians to more effectively manage hemodynamic parameters, thereby improving patient outcomes and quality of life. This article will explore key practical issues

related to hemodynamic correction, including the use of pharmacological agents, the implementation of invasive and non-invasive monitoring methods, and strategies for a personalized approach to therapy. Emphasis is placed on clinical guidelines and practical aspects that will help healthcare professionals make informed decisions in real clinical settings.

Keywords: hemodynamics, infusion therapy, crystalloids, colloids, albumin

Инфузионная терапия всегда считалась одной из основ интенсивной терапии. Результаты патофизиологических и клинических исследований последних лет, выполненных на основе принципов доказательной медицины, сместили акценты в сторону уменьшения объемов инфузионной терапии в различных ситуациях [1].

Следует помнить, что растворы, используемые для проведения инфузионной терапии, необходимо рассматривать как лекарственные препараты с соответствующими рекомендациями по дозированию, показаниями, противопоказаниями и побочными эффектами [2].

Исходя из вышесказанного, показания для проведения инфузионной терапии должны быть четко обоснованы.

Основными показаниями для инфузионной терапии являются:

- кровотечение, при котором инфузионная терапия проводится в случае небольших объемов кровопотери для быстрого восполнения, преимущественно за счет сбалансированных кристаллоидов;
- дистрибутивный шок, при котором показана инфузионная терапия в первые минуты-часы для восполнения жидкости прежде всего кристаллоидами, а также коллоидами совместно с ранним началом инотропной и вазопрессорной поддержки;
- дегидратация, при которой восполнение происходит исключительно сбалансированными кристаллоидами и медленно (часы, дни) при невозможности пероральной регидратации.

Основными целями инфузионной терапии являются коррекция нарушений микроциркуляции (восполнение дефицита внутрисосудистого объема) и коррекция дегидратации (восполнение дефицита в первую очередь внеклеточной жидкости).

Обзор препаратов для проведения инфузионной терапии

Традиционно для проведения инфузионной терапии используют растворы кристаллоидов и коллоидов [2, 3].

Существует две категории кристаллоидов, доступных для внутривенного введения. Первая категория включает в себя физиологически сбалансированные растворы, содержащие электролиты и буфер в концентрациях, сравнимых с плазменными. Вторая категория – это растворы, которые не относятся ни к сбалансированным, ни к буферизированным.

Полностью сбалансированный раствор кристаллоидов должен соответствовать следующим условиям: изоосмолярность, физиологический уровень pH, идентичность плазменному составу электролитов.

Следует отметить, что некоторые кристаллоиды, например 0,9% раствор хлорида натрия, могут спровоцировать дозозависимый гиперхлоремический метаболический ацидоз.



Коллоиды представляют собой жидкости для внутривенного введения, которые содержат вещества с большой молекулярной массой, растворенные в кристаллоидах. Коллоиды были введены в медицинскую практику из-за их теоретической способности оставаться внутри сосуда длительный период времени и создавать большее осмотическое давление. Коллоиды делятся на две группы: полусинтетические и природные [2, 3]. К полусинтетическим коллоидам относят гидроксипропиладекстрин, декстран и желатин, к природным – альбумин.

Из-за своей высокой молекулярной массы коллоиды очень медленно проникают через здоровый полупроницаемый эндотелиальный барьер, однако эта способность утрачивается при увеличении проницаемости сосудов, индуцированной воспалением.

Преимуществом коллоидов также является их объемосберегающий эффект, и этим объясняется тот факт, что объем коллоидного раствора, необходимый для поддержания одного и того же внутрисосудистого объема, до трех раз меньше в сравнении с кристаллоидами. Однако это преимущество утрачивается при воспалении вследствие повреждения эндотелиального гликокаликса.

Оба типа коллоидов нашли свое применение в медицине в различные периоды ее развития. Ранее предпочтения отдавались полусинтетическим коллоидам, поскольку считалось, что они сопоставимы по эффективности, но дешевле и доступнее, чем природные аналоги. Из полусинтетических коллоидов именно гидроксипропиладекстрин на протяжении десятилетий использовался во многих странах.

Гидроксипропиладекстрин – полусинтетический субстрат, получаемый путем гидроксипропилирования замещения в молекулах аминоклетчатки картофельного или кукурузного крахмала. Его растворы доступны с различной молекулярной массой, осмолярностью и тоничностью, при этом более высокая концентрация и молекулярная масса связаны с более выраженным осмотическим эффектом.

Желатин – полусинтетический коллоид, дериват молекул бычьего коллагена с относительно небольшой молекулярной массой (около 35 кДа), осмотический эффект которого проявляется в течение более короткого времени, нежели у других коллоидов.

Декстраны – это смесь полимеров глюкозы различных размеров. Характерными свойствами этих растворов являются такие, как улучшение реологии крови, снижение вязкости крови и потенциальное улучшение микроциркуляции.

Альбумин – это протеин плазмы крови человека, синтез которого происходит в печени. Являясь многофункциональным протеином с массой 66 кДа, он состоит из 585 аминокислот и обладает как коллоидной, так и фармакологической активностью [4].

Его коллоидная активность обеспечивает поддержание баланса жидкости между внутрисосудистым и интерстициальным компартментами. У здоровых людей уровень альбумина плазмы колеблется в пределах 33–52 г/л. Он образуется только в печени со скоростью 9–12 г/сутки, и в физиологических условиях только 20–30% гепатоцитов синтезируют альбумин, однако по требованию объем синтеза может быть увеличен в 2–3 раза.

Единственным фактором, регулирующим синтез, является внесосудистое коллоидно-осмотическое давление в печени. Синтез может быть подавлен использованием экзогенных субстанций, влияющих на коллоидно-осмотическое давление, например, синтетических коллоидов.

Ежедневно около 10% альбумина плазмы метаболизируется, катаболизм, вероятно, происходит в эндотелии или в непосредственной близости от него со скоростью 9–12 г/сутки.

Альбумин имеет высокую емкость связывания воды – примерно 18 мл/г, период полужизни – около 19 дней.

Альбумин – это основной протеин плазмы, обеспечивающий коллоидно-осмотическое давление примерно на 75–80%. Кроме этого, он обеспечивает множество специфических биологических эффектов, таких как связывание лигандов, функция антиоксиданта и удаления свободных радикалов, противовоспалительный эффект, подавление апоптоза, сигнальная функция для клеток.

Качественный и количественный состав инфузионной программы должен определяться выраженностью снижения объема циркулирующей крови, степенью нарушения микроциркуляции, наличием периферических отеков, уровнем альбумина, тяжестью острого респираторного дистресс-синдрома и т. п. Для этого следует четко определить цель инфузионной терапии – коррекция острых расстройств микроциркуляции или дегидратации [4].

Вопросы эффективности коллоидов

В настоящее время сохраняется некоторая неопределенность в выборе средств и подходов к инфузионной терапии.

Среди крупных исследований нужно отметить рандомизированное исследование CRISTAL [5]. Его целью была оценка влияния использования кристаллоидов в сравнении с коллоидами на смертность пациентов с гиповолемическим шоком, поступивших в отделения интенсивной терапии. Выводы исследования были такими: использование коллоидов в сравнении с кристаллоидами при гиповолемическом шоке не показало статистически значимой разницы в отношении 28-дневной летальности. Необходимо отметить, что в данном исследовании в группе кристаллоидов 16% пациентов получили раствор альбумина [5]. Это может говорить о том, что «избранным» пациентам было необходимо введение коллоидов, и только в этом случае эффект в группе кристаллоидов может считаться равным эффекту базовой терапии коллоидами. Базовая терапия коллоидами в этом случае подразумевала введение изоонкотических коллоидов с самого начала инфузионной терапии. Следует отметить, что определить данную группу «избранных» пациентов в настоящее время в реальной практике в самом начале терапии практически невозможно.

Martin и соавторы при проведении систематического обзора данных проанализировали 55 рандомизированных клинических исследований, в которых сравнивалась эффективность коллоидов и кристаллоидов [6]. В этом обзоре оценивались результаты всех исследований, доступных для поиска на июль 2018 г. Вывод, сделанный авторами, гласит, что коллоиды эффективнее кристаллоидов. Однако эффективность коллоидов выражалась только в улучшении гемодинамических параметров (увеличение центрального венозного давления, среднего артериального давления, сердечный индекс), то есть более высокая эффективность коллоидов была подтверждена только для суррогатных исходов [6]. Какого-либо положительного влияния на клинические исходы, такие как смертность, продолжительность пребывания в стационаре и т. д., выявлено не было.



Кохрановский обзор, опубликованный в 2018 году, указывает, что нет доказательств позитивного влияния коллоидов на смертность, потребность в трансфузиях компонентов крови и заместительной почечной терапии. Другие исходы, такие как продолжительность госпитализации или потребность в вентиляции, авторами не оценивались [10].

Результаты исследований и обзоров могут говорить о том, что подход «изоонкотический коллоид с начального этапа терапии всем пациентам» эквивалентен подходу «кристаллоиды всем пациентам, некоторым коллоид по показаниям». О необходимости выбора специфических пациентов для использования коллоидов говорят и результаты обзора Martin, приведенные выше: положительный эффект при оценке суррогатных исходов и отсутствие эффекта при оценке клинических свидетельствуют о необходимости более тщательного выбора пациентов для получения значимого эффекта проводимой терапии. В настоящее время в подавляющем большинстве случаев нельзя предсказать ответ пациента на инфузионную терапию с начальной фазы какого-либо вмешательства, поэтому стоит последовательно оценивать состояние пациента и пересматривать терапию при необходимости.

Таким образом, в настоящее время речь идет о пошаговой терапии, какого-либо универсального раствора для восстановления гемодинамики не существует. Возникают большие сомнения в отношении возможности использовать изоонкотические и слабогиперонкотические коллоидные растворы в качестве второго этапа инфузионной терапии, после значительного объема кристаллоидов – в этих случаях общий объем жидкости может быть слишком большим.

Безопасность коллоидов

Кроме эффективности использования тех или иных инфузионных сред, остается открытым вопрос безопасности их применения, особенно это касается полусинтетических коллоидов.

Побочные эффекты использования гидроксиэтилкрахмала проявляются в виде почечной дисфункции, коагулопатии, кожного зуда и аллергических реакций. Многочисленные исследования демонстрируют нефротоксический эффект его гиперонкотических растворов [3].

Ввиду этих серьезных рисков Европейское медицинское агентство, а также Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Соединенных Штатов Америки рекомендовали приостановить действие разрешения на продажу и отзывали одобрение некоторых растворов, содержащих гидроксиэтилкрахмал [3].

Систематический обзор ограниченного количества исследований не выявил преимуществ в назначении растворов желатина в сравнении с кристаллоидами [7]. Использование желатинов сопряжено с высоким риском тяжелой анафилаксии и гиперчувствительности к галактозе, кроме этого, они повышают риск кровотечения, острого почечного повреждения и смертности. Поэтому желатин не рекомендован для объемной реанимации в терапии острых состояний, особенно при сепсисе [8].

Использование декстранов ассоциируется с почечной недостаточностью, аллергическими реакциями, коагулопатией. У пациента в критическом состоянии в систематических обзорах не выявлено улучшения клинических исходов в группе декстрана в сравнении с группой кристаллоидов [3].

Применение искусственных коллоидов, таких как декстраны и гидроксипропилкрахмалы, связано с высоким риском развития побочных эффектов, кроме того, их эффективность в рамках традиционных протоколов представляется сомнительной, о чем говорилось выше.

Таким образом, базисом инфузионной терапии являются кристаллоиды, и второй линией терапии должен являться коллоидный раствор с выраженным гемодинамическим эффектом, минимальным объемом и высоким уровнем безопасности, и таким раствором является только альбумин в высокой концентрации.

Алгоритмы инфузионной терапии

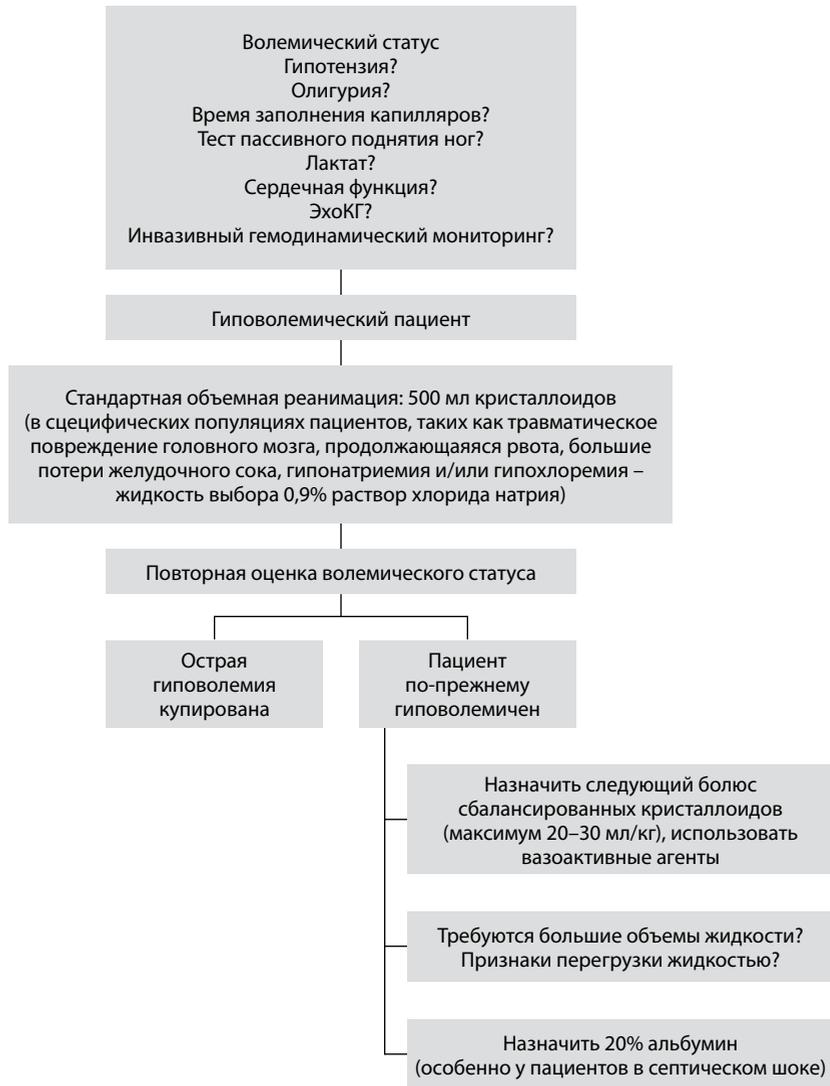
На основании существующих данных Mayerhöfer T. и соавторы предложили алгоритм объемной реанимации у критических пациентов, где указаны только кристаллоиды и гиперонкотический раствор альбумина (рис. 1). Авторы указывают концентрацию 20%, и это может быть связано с выбором концентрации в их практике. В подобной ситуации можно также использовать альбумин 25%, главное, чтобы гиперонкотические свойства раствора на позднем этапе терапии были достаточно высоки – это позволит максимально снизить риск перегрузки объемом.

Это пример пошаговой терапии, подразумевающий регулярную комплексную оценку гемодинамических параметров, последующее принятие решения, выбор инфузионных сред, и это отражает современные взгляды на лечение вообще и необходимость индивидуализировать терапию в виде «ступенчатого» подхода [3].

В качестве модели инфузионной терапии, демонстрирующей влияние концентрации на гемодинамику и объем, может рассматриваться исследование SWIPE, где после начального этапа терапии (авторы не указывают детали) пациенты были рандомизированы в группы альбумина 20% и 4–5%. В этом рандомизированном клиническом исследовании были сделаны следующие выводы: объемная реанимация с 20% альбумином снижала потребность в жидкости, минимизировала ранний положительный гидробаланс без какого-либо вреда для организма пациента в сравнении с использованием 4–5% раствора альбумина [11, 12]. Так, в группе 4–5% альбумина средний объем жидкости для объемной реанимации составил 900 мл, а в группе 20% – 300 мл, общий объем введенной жидкости в первые 48 часов – 4217 мл и 3429 мл соответственно. Таким образом, в группе альбумина 20% гемодинамический эффект достигнут при использовании значительно меньшего объема жидкости, и разница составила 600 мл. Гемодинамические изменения в обеих группах представлены на рис. 2.

Общество медицины критических состояний США и Европейское общество медицины критических состояний рекомендуют альбумин как коллоид выбора у пациентов с сепсисом и септическим шоком [8, 13].

Детализированный алгоритм применения альбумина при сепсисе предложен в научной литературе только экспертами из Китая. Авторы считают, что альбумин должен вводиться пациентам с септическим шоком в случае, если сохраняется нестабильность гемодинамики после инфузии кристаллоидов в дозе 30 мл/кг. Понятие «нестабильность гемодинамики» включает следующее: 1) невозможность поддерживать среднее артериальное давление (САР) 65 мм рт. ст. и выше, несмотря на внутривенное введение норадреналина со скоростью 0,4 мкг/кг/мин или выше; 2) частые



**Рис. 1. Алгоритм пошаговой инфузионной терапии у пациентов в критическом состоянии [3]
Fig. 1. Algorithm of step-by-step infusion therapy in critically ill patients [3]**

колебания САР в значениях, близких к 65 мм рт. ст.; 3) сопутствующие заболевания с очевидной повышенной проницаемостью капилляров [15].

У пациентов со сниженным внутрисосудистым объемом вследствие травмы, хирургического вмешательства, которым показана инфузионная терапия для поддержания или увеличения объема циркулирующей крови, использование альбумина не связано с увеличением смертности в сравнении с использованием кристаллоидов [14].

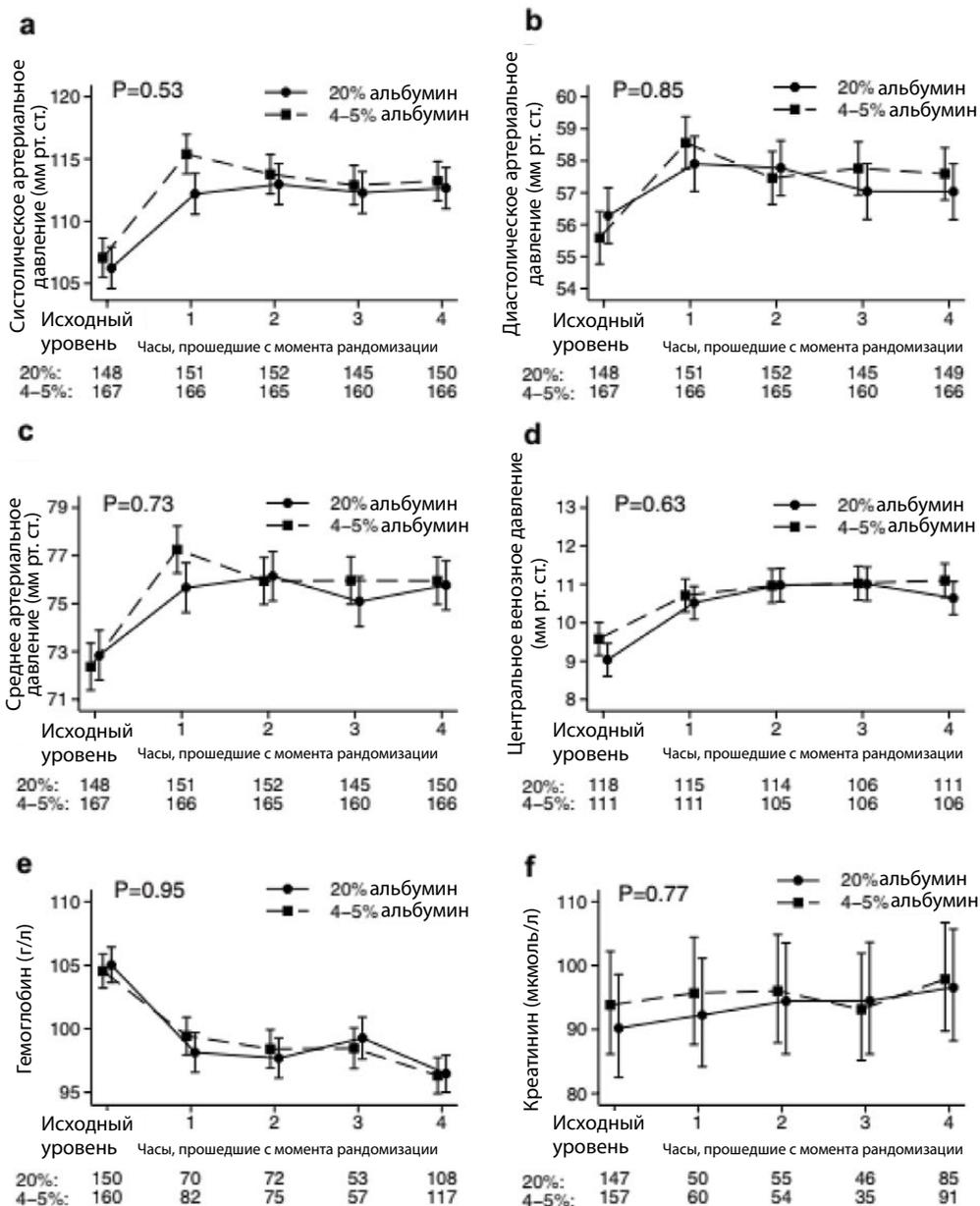


Рис. 2. Изменения гемодинамических показателей в двух группах при проведении объемной реанимации [12], где а – систолическое артериальное давление, б – диастолическое артериальное давление, с – среднее артериальное давление, д – центральное венозное давление, е – уровень гемоглобина (г/л), ф – уровень креатинина сыворотки (мкмоль/л)

Fig. 2. Changes in hemodynamic parameters in two groups during volumetric resuscitation [12], where a is systolic blood pressure, b is diastolic blood pressure, c is mean blood pressure, d is central venous pressure, e is hemoglobin level (g/l), f is serum creatinine level (mmol/l)



У пациентов с сепсисом и септическим шоком использование альбумина не связано с увеличением смертности в сравнении с использованием кристаллоидов [8, 13]. При этом в исследовании LICRA показано, что использование 20% растворов альбумина связано со значительно меньшим количеством случаев гиперхлоремии [14].

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение хотелось бы напомнить, что идеального раствора не существует и нужно рассматривать алгоритмы, включающие несколько подходов. Также нужно отметить, что введение любой жидкости пациенту следует рассматривать как фармакологическое вмешательство, эффекты и нежелательные реакции зависят от количества и типа вводимого раствора. Перегрузка жидкостью неизменно связана с увеличением смертности, а если требуется большой объем кристаллоидов для восстановления волемии, то эффективной и безопасной терапией второй линии в настоящее время является только высококонцентрированный (20–25%) альбумин [2, 3, 9, 10].

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Zabolotskih I.B., Procenko D.N. (eds.) *Intensive Care: National Guidelines: in 2 volumes. 2nd edition, revised and expanded*. Moscow: GEOTAR-Media.2022. (in Russian)
2. Boer C. Choice of fluid type: physiological concepts and perioperative indications. *British Journal of Anaesthesia*. 2018;120(2):384–396.
3. Mayerhöfer T. Fluids in the ICU: which is the right one? *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2023;38(Issue 7):1603–1612.
4. Wiedermann C.J., Joannidis M. *Volume Replacement Therapy – Principles and Clinical Use*. 1st edition. Bremen: UNI-MED, 2013.
5. Annane D., Siami S. Effects of Fluid Resuscitation with Colloids vs Crystalloids on Mortality in Critically Ill Patients Presenting with Hypovolemic Shock. The CRISTAL Randomized Trial. *JAMA*. 2013;310(17):1809–1817. doi: 10.1001/jama.2013.2805026.
6. Martin G.S., Bassett P. Crystalloids vs. colloids for fluid resuscitation in the Intensive Care Unit: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Critical Care*. 2019;50:144–154.7.
7. Moeller C., Fleischmann C., Thomas-Rueddel D. How safe is gelatin? A systematic review and meta-analysis of gelatin-containing plasmaexpanders vs crystalloids and albumin. *J Crit Care*. 2016;35:75–83.
8. Evans L., Rhodes A., Alhazzani W. *Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021*. *Crit Care Med*. 2021;49:e1063–143.
9. Raynor B. The Role of Albumin in the Resuscitation of Hypotensive Patients. *Current Emergency and Hospital Medicine Reports*. 2023;11:89–94.
10. Lewis S.R. Colloids versus cristalloids for fluid resuscitation in critically ill people. *Cochrane Database Syst. Rev*. 2018;8:Cd000567.
11. *Instructions for medical use of the drug Albnorm r/u No. 10175/13/19 dated 02/21/2019 valid indefinitely*
12. Mårtensson J., Bihari S., Bannard-Smith J. Small volume resuscitation with 20% albumin in intensive care: physiological effects The SWIPE randomised clinical trial. *Intensive Care Med*. 2018. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00134-018-5253-2>
13. Melia D., Post B. Human albumin solutions in intensive care: A review. *Journal of the Intensive Care Society*. 2021;22(3):248–254.
14. Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy. *Evidence-based Guidelines for the Use of Albumin Products*. *Japanese Journal of Transfusion and Cell Therapy*. 2017;63(5):641–663.
15. JYu, Yue-Tia. Expert consensus on the use of human serum albumin in critically ill patients. *Chinese Medical Journal*. 2021;134(14):1639–1654.



Герасимович О.В.¹✉, Исков И.А.², Лендина И.Ю.¹, Смольникова В.В.¹

¹ Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Беларусь

² Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

Вакцинопрофилактика у пациентов с острыми лейкозами: опыт одного центра

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Герасимович О.В. – концепция, дизайн и написание статьи, сбор и обработка данных, анализ и интерпретация результатов, подготовка статьи к опубликованию; Исков И.А. – существенный вклад в замысел и дизайн исследования, интерпретацию данных, написание статьи, окончательное одобрение варианта статьи для опубликования; Лендина И.Ю. – предоставление материалов исследования, участие в написании статьи, критический пересмотр статьи в части значимого интеллектуального содержания.

Подана: 03.05.2024

Принята: 10.06.2024

Контакты: gerasimovichov@gmail.com

Резюме

Вакцинопрофилактика – искусственное воспроизведение иммунного ответа путем введения вакцины с целью создания невосприимчивости к инфекциям. В основе вакцинации лежит иммунологическая память – способность иммунной системы к быстрому и эффективному ответу на тот антиген (чужеродное или потенциально опасное для организма вещество, против которого начинается выработка собственных антител), с которым организм встречался ранее. Важная задача вакцинопрофилактики – иммунизация пациентов, наиболее тяжело болеющих. Это пациенты с иммунодефицитами, различными хроническими и другими тяжелыми заболеваниями, в том числе онкологическими. Хотя многочисленные исследования доказывают эффективность и безопасность вакцинации, использование ее в рутинной практике при острых гемобластозах требует дополнительных исследований.

Материалы и методы. В проспективное исследование (2021–2023) включено 27 взрослых пациентов с диагнозом «острый лейкоз», получивших индукционный и консолидирующий этапы терапии. Группа интервенции (вакцинопрофилактика) и контрольная группа были сопряжены по клинико-демографическим показателям. За первичный исход в анализе было принято статистически значимое различие в изменениях от исходного уровня исследуемых параметров в группах.

Результаты. Восстановление популяций В-клеток у пациентов с острым лейкозом коррелирует с увеличением времени после химиотерапии. Вследствие этого вакцинацию не следует проводить во время фазы индукции ремиссии из-за слабого иммунного ответа в течение этого периода. Полученные в исследовании иммунологические данные позволяют планировать введение первой дозы конъюгированной пневмококковой вакцины уже через 60 дней после окончания индукционной терапии у пациентов с острым лейкозом.



Заключение. Имеет смысл при постановке онкологического диагноза сразу планировать индивидуальный календарь вакцинации с возможным хронологическим разделением блоков химиотерапии и вакцинации. При этом вакцинация снижает частоту эпизодов фебрильной нейтропении и инфекционных осложнений (в частности пневмоний) у пациентов с острым лейкозом.

Ключевые слова: инфекции в гематологии, вакцинопрофилактика, приобретенный иммунодефицит, острый лейкоз

Gerasimovich O.¹, Iskrov I.², Lendina I.¹, Smolnikova V.¹

¹ Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology, Minsk, Belarus

² Institute for Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Educational Institution "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus

Vaccinal Prophylaxis in Patients with Acute Leukemia: Experience from One Center

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Gerasimovich O. – concept, design and writing of the article, data collection and processing, analysis and interpretation of results, preparation of the article for publication; Iskrov I. – significant contribution to the idea and design of the study, interpretation of data, writing of the article, final approval of the version of the article for publication; Lendina I. – provision of research materials, participation in writing an article, a critical revision of the article in terms of meaningful intellectual content.

Submitted: 03.05.2024

Accepted: 10.06.2024

Contacts: gerasimovichov@gmail.com

Abstract

Vaccinal prophylaxis is the artificial reproduction of the immune response by administering a vaccine in order to create immunity to infections. Vaccination is based on immunological memory – the ability of the immune system to quickly and effectively respond to an antigen (a foreign or potentially dangerous substance for the body, against which the production of its own antibodies begins) that the body has encountered previously. An important task of vaccine prevention is the immunization of patients who are most seriously ill. These are patients with immunodeficiencies, with various chronic and other serious diseases, including cancer. Although numerous studies prove the effectiveness and safety of vaccination, its use in routine practice for acute hematological malignancies requires additional research.

Material and methods. The prospective study (2021–2023) included 27 adult patients diagnosed with acute leukemia who received induction and consolidation stages of therapy. The intervention (vaccination) and control groups were matched according to clinical and demographic indicators. The primary outcome in the analysis was a statistically significant difference in changes from the initial level of the studied parameters in the groups.

Results. Restoration of B cell populations in patients with AL correlates with an increase in time after chemotherapy. As a consequence, vaccination should not be performed during

the remission induction phase due to the weak immune response during this period. The immunological data obtained in the study make it possible to plan the administration of the first dose of conjugate pneumococcal vaccine within 60 days after the end of induction therapy in patients with AL.

Conclusion. When making an oncological diagnosis, it makes sense to immediately plan an individual vaccination calendar, with a possible chronological division of chemotherapy and vaccination blocks. At the same time, vaccination reduces the frequency of episodes of febrile neutropenia and infectious complications (in particular pneumonia) in patients with acute leukemia.

Keywords: infections in hematology, vaccine prophylaxis, acquired immunodeficiency, acute leukemia

■ ВВЕДЕНИЕ

Вакциноуправляемые инфекции, в том числе грипп, инвазивные пневмококковые инфекции, а также инфекция COVID-19 характеризуются высоким риском неблагоприятного исхода именно у взрослых иммунокомпрометированных пациентов [1].

Согласно действующим международным рекомендациям, ежегодная вакцинация инактивированной вакциной против гриппа показана пациентам в возрасте ≥ 6 месяцев с опухолевыми заболеваниями кроветворной ткани или солидными злокачественными опухолями, за исключением периодов введения анти-В-клеточных антител или интенсивной химиотерапии (периоды индукции / консолидация ремиссии при остром лейкозе, период кондиционирования и ранний период при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток), конъюгированная 13-валентная пневмококковая вакцина должна рекомендоваться к введению пациентам с впервые диагностированным опухолевым заболеванием кроветворной ткани или злокачественным новообразованием.

У многих онкологических пациентов имеется временной период перед началом курса химиотерапии, в течение которого пациент может считаться иммунокомпетентным и не имеет особых противопоказаний к вакцинации. Однако важно подчеркнуть, что лечение основного заболевания не следует откладывать для достижения целей вакцинации или профилактики инфекций [2, 665–95]. Тем не менее достоверно показано, что эффективность вакцинации выше до начала курса иммуносупрессии. Считается также, что после введения живых вирусных вакцин период репликации вируса и развития иммунного ответа составляет обычно до 3 недель, поэтому вакцинация живыми вакцинами возможна не менее чем за 4 недели до планируемой иммуносупрессии. Введение живых вакцин менее чем за 2 недели до химиотерапии сопровождается высоким риском осложнений и строго противопоказано. В противоположность живым вакцинам имеющиеся многочисленные доказательства указывают на то, что инактивированные вакцины обычно имеют такой же профиль безопасности у пациентов с ослабленным иммунитетом, как у иммунокомпетентных пациентов.

Терапия онкологических и гематологических заболеваний в настоящее время переживает второе рождение: режимы стали более интенсивными, широко используются моноклональные антитела и таргетные лекарственные средства [3, 2349–61;



4, 309–24]. Поскольку многие исследования в области вакцинологии проводились в эпоху более слабых иммуносупрессантов, результаты таких исследований, к сожалению, могут не всегда точно отражать текущие риски и преимущества вакцинации на фоне отдельных режимов химиотерапии. Важно отметить, что вакцины не следует вводить во время фазы индукции и консолидации ремиссии из-за слабого иммунного ответа в течение этих периодов. Хотя вакцины, вводимые на фоне других, менее интенсивных фаз химиотерапии, отличаются меньшей иммуногенностью по сравнению с теми случаями, когда на момент иммунизации химиотерапия прекращалась, они не вредны и, по-видимому, обеспечивают серопротекцию у части пациентов.

Хотя иммунотерапевтические стратегии поддержания ремиссии после интенсивной химиотерапии у пациентов логичны и апробируются в клинических исследованиях [5, 207–14], существует неполное описание состояния адаптивной иммунной системы у пациентов с ОЛ, завершивших химиотерапию. Исследования по восстановлению лимфоцитов периферической крови при ОЛ после индукции демонстрируют перекос компартамента Т-клеток в сторону периферически размножающихся олигоклонально активированных Т-регуляторных клеток (T-reg) сразу после химиотерапии [6, 2245–55]. Тем не менее функциональная способность иммунной системы у пациентов с ОЛ после завершения интенсивной химиотерапии в значительной степени неизвестна, и это имеет важные последствия для успеха любой последующей иммунотерапии, направленной на предотвращение рецидива, особенно вакцинации и блокады иммунных контрольных точек, предназначенных для увеличения эндогенного иммунитета и клеточно-опосредованный противоопухолевый ответ [7; 8, 608–17].

Тактика индивидуальной рутинной ревакцинации монодозами у взрослой популяции может быть обоснована в ряде случаев. Наиболее адекватным решением у взрослых пациентов после химиотерапии может быть серологическое тестирование вакциноуправляемых заболеваний, имеющих доказанные серологические корреляции (например, дифтерийный анатоксин, НiВ, НерА, НерВ, ИПВ, краснуха, корь, столбнячный анатоксин, вакцины против ветряной оспы), и решение о вакцинации только тех, у кого отмечена недостаточная концентрация защитных антител в сыворотке крови [7].

Вакцинацию рекомендуют даже во время проведения химиотерапии, даже при проведении интенсивной цитотоксической терапии. Единственное, рекомендуется отложить введение до восстановления абсолютного числа нейтрофилов [9, 1186–98; 10]. При этом гранулоцитопения сама по себе существенно не влияет на иммунологический ответ на вакцинацию, в условиях глубокой иммуносупрессии уровень гранулоцитов может быть использован только как признак восстановления иммунной системы для планирования вакцинации.

Недавние исследования выявили наличие клеточных сигнатур, индуцированных вакциной против гриппа, которые позволяют прогнозировать устойчивые иммунные реакции у широкого спектра здоровых людей [11, 4099–107; 12, 46–53; 13, 1089–92]. Грипп является значимой причиной заболеваемости и смертности пациентов с гематологическими злокачественными новообразованиями [14, 686–94; 15, 890–901].

Поскольку нарушения в адаптивной иммунной системе после химиотерапии имеют серьезные последствия для успеха любой иммунотерапии, особенно методов, основанных на вакцинах, мы стремились изучить восстановление и наличие

или отсутствие популяций иммунных клеток, потенциально предсказывающих ответ на вакцинацию у пациентов с ОЛ. Мы провели комплексное фенотипическое и функциональное иммунное профилирование непосредственно перед, через 30 и 60 дней после проведения индукционного курса полихимиотерапии у 27 пациентов с ОЛ в первой ремиссии.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение оптимальных сроков начала вакцинации и клинической эффективности вакцинации сезонных вакциноуправляемых инфекций (пневмококковая инфекция, грипп, инфекция COVID-19) у пациентов с острым лейкозом (ОЛ).

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2021–2023 гг. на базе гематологического отделения № 3 ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» было проведено когортное проспективное исследование.

В исследование были включены 27 взрослых пациентов с впервые выявленным диагнозом «острый лейкоз», получивших индукционный этап терапии: 11 пациентов с ОМЛ, получавших курс индукционной химиотерапии по схеме «7+3», 2 пациента со смешанным клеточным вариантом с миелоидным преобладанием и 6 пациентов с ОМЛ с изменениями, ассоциированными с миелодисплазией, получивших индукционный курс полихимиотерапии по схеме «FLAG-Ida», 6 пациентов с ОЛЛ на программной терапии согласно протоколу Hyper-CVAD/HMA (курс Hyper-CVAD-1) и 2 пациента с ОЛЛ на программной терапии по протоколу CALGB. Пациентов наблюдали в течение одного месяца (проведение индукционного этапа терапии).

Анализ выполнялся по данным иммунологического исследования периферической крови методом проточной цитофлуориметрии на аппарате FACS Lyric (Becton Dickinson, США), оснащенного тремя лазерами 488 нм, 633 нм и 405 нм с детекцией 10 каналов флуоресценции. Сбор и анализ данных проводили в рабочей программе FACS Suite (v.5.1). Иммунофенотипирование выполнялось для всех пациентов, включенных в этап исследования: базовый уровень (до индукционной полихимиотерапии), день +30, день +60.

Для всех исходных параметров была рассчитана описательная статистика по группам сравнения. Различия в изменениях от исходного уровня между группами оценивались с помощью непараметрических тестов (Вилкоксона – Манна – Уитни).

Для статистического анализа динамического состава клеточных линий, необходимых для динамического ответа на вакцинацию, применялись методы графического анализа и критерий Краскела – Уоллиса (ANOVA) как непараметрическая альтернатива одномерному (межгрупповому) дисперсионному анализу. Для подробного уточнения характеристик выполнялся апостериорный анализ (англ. post-hoc analysis) по Коноверу.

Группа исследования: 27 пациентов с диагнозом ОЛ, из них 14 проведена вакцинопрофилактика (грипп, пневмококк, COVID-19).

Вакцинопрофилактика проводилась в период поддерживающей химиотерапии (межкурсовая отстройка кроветворения) или наблюдения после снятия с лечения (период после проведения интенсивной химиотерапии).



Грипп: инактивированная тетрасплит-вакцина, т. е. расщепленная вакцина, содержащая наружные (гемагглютинин и нейраминидазу) и внутренние антигены вируса гриппа (V1).

Пневмококк: конъюгированная 13-валентная пневмококковая вакцина PSV-13 (V1, V2, R1).

Инфекция COVID-19: очищенные инактивированные цельновирионные (V1, R1, R2).

Группа сравнения (без вакцинопрофилактики) и контрольная группа были сопоставимы по демографическим показателям и статистически значимо не различались ($p > 0,05$).

За первичный результат анализа было принято статистически значимое различие в изменениях от исходного уровня исследуемых параметров в группах.

Для уточнения достоверности различий выполнялся анализ с помощью критерия Краскела – Уоллиса (ANOVA) с апостериорным анализом (англ. post-hoc analysis) по Коноверу, результаты представлены в табл. 2.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам динамического анализа иммунологических параметров у 27 пациентов с ОЛ после проведения индукционного курса полихимиотерапии был установлен ряд закономерностей (табл. 1, рис. 4, 5).

На этапе скрининга клеточное распределение у пациентов с ОЛ: соотношение Т-/В-/ЕК-клеток соответствует референтным значениям иммунограммы; в пуле Т-лимфоцитов преобладают в процентном и абсолютном количестве Т-хелперы (CD3+ CD4+), в то время как пул В-клеток представлен в основном зрелыми наивными В-клетками (CD19+ CD27- IgD+ IgM-) (рис. 1).

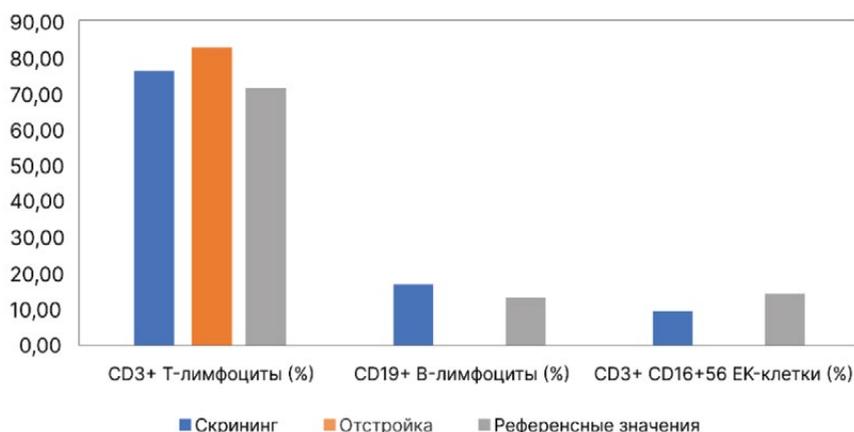


Рис. 1. Доли основных субпопуляций лимфоцитов в периоды скрининга и отстройки кроветворения на этапе индукционной терапии (%)

Fig. 1. Proportions of the main subpopulations of lymphocytes during the periods of screening and hematopoietic development at the stage of induction therapy (%)

На этапе отстройки кроветворения (день +30): абсолютное и процентное соотношение Т- и В-лимфоцитов смещается в сторону Т-лимфоцитов (абсолютный и относительный дефицит В-клеток). При этом пул Т-клеток представлен в более чем 75% Т-хелперами (соотношение Тх/Тс от нормы в 1–1,5 смещается к 10).

В группе пациентов с ОМЛ медиана уровня CD3+ лимфоцитов 0,636 тыс/мкл (при референсном интервале нормы 1,1–1,7 тыс/мкл), медиана CD19+ лимфоцитов – 0,0025 тыс/мкл (0,2–0,4 тыс/мкл). Распределение в группе пациентов с ОЛЛ: CD3+ клетки – 0,41 тыс/мкл, CD19+ клетки – 0,0365 тыс/мкл. При этом доля CD3+ клеток в общем пуле лимфоцитов у пациентов с ОМЛ – 87,8%, у пациентов с ОЛЛ – 85,15%. Соотношение клеток CD3+/CD19+ на этапах скрининга и отстройки кроветворения составило 5,5 : 1 и 8,5 : 1 соответственно. В пуле CD19+ клеток преобладающим классом клеток являются В-клетки памяти (CD19+ CD27+ IgD- IgM-) – как в группе пациентов с ОМЛ, так и у пациентов с ОЛЛ: 71,15% и 64,9% соответственно.

По результатам исследования лишь к 60-му дню уровень наивных В-клеток возвращается к исходному значению (критерий Краскела – Уоллиса 41,93; 4 степени свободы; P<0,001), что позволяет планировать проведение вакцинации после 2 месяцев от индукционной терапии у пациентов с ОЛ.

Известно, что иммунный ответ на пневмококковую вакцинацию является оптимальным у пациентов с числом CD34+ клеток более 200 кл/мкл. В исследуемой выборке начиная от 30-го дня уровень CD4+ ниже 200 кл/мкл не опускался, что говорит об эффективности вакцинации Т-зависимыми вакцинами у пациентов с ОЛ.

Наблюдалось также увеличение относительного и абсолютного показателей дендритных клеток с преобладанием уровня дендритных клеток типа 1 (mDCs CD11c+ CD123low HLA-DR+) (рис. 3).

В совокупности эти данные подчеркивают гетерогенность в нашей когорте ОЛ, более серьезные нарушения в компартменте В-клеток у пациентов с ОЛ после химиотерапии и популяции клеток, которые могут быть особенно затронуты у пациентов с ОЛ, у которых может наблюдаться отсутствие ответа на вакцинацию против гриппа.

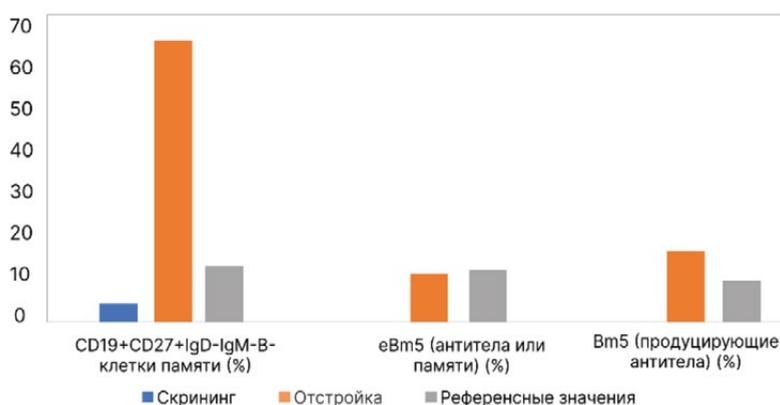


Рис. 2. Распределение В-клеток (памяти / антитела / продуцирующие антитела) на этапах скрининга и отстройки кроветворения после индукционной терапии (%)

Fig. 2. Distribution of B cells (memory / antibodies / producing antibodies) at the stages of screening and hematopoietic development after induction therapy (%)

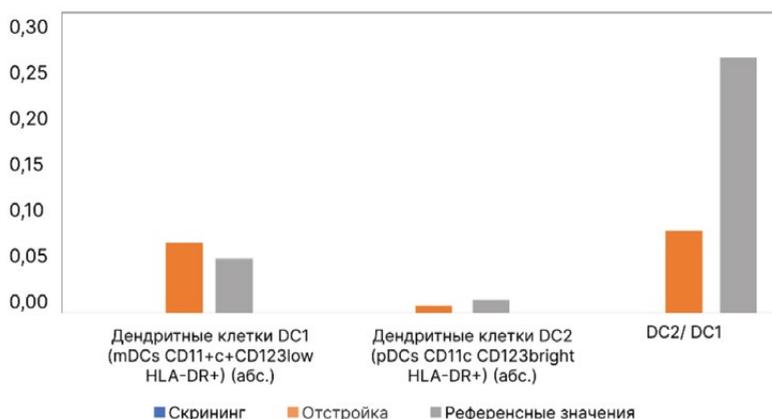


Рис. 3. Распределение субпопуляций дендритных клеток (DC1/DC2/DC2:DC1) на этапах скрининга и отстройки кроветворения после индукционной терапии (%)

Fig. 3. Distribution of dendritic cell subpopulations (DC1/DC2/DC2:DC1) at the stages of screening and hematopoietic development after induction therapy (%)

Таблица 1

Динамика восстановления иммунного ответа после проведения индукционной терапии по поводу ОЛ

Table 1

Dynamics of restoration of the immune response after induction therapy for AL

День	Абсолютное число пациентов (n)	Ср. значение, [$\cdot 10^9/\text{л}$]	Медиана, [$\cdot 10^9/\text{л}$]
Динамика восстановления NvB (наивных В-клеток)			
0	27	0,0521	0,0390
+30	23	0,0059	0,0019
+60	20	0,0562	0,0450
Динамика восстановления MnSw-клеток (memory non-switched В-клеток)			
0	27	0,0110	0,0069
+30	23	0,0001	0,0001
+60	20	0,0003	0,0002
Динамика восстановления MSw-клеток (memory switched В-клеток)			
0	27	0,0213	0,0149
+30	23	0,0013	0,0004
+60	20	0,0028	0,0034
Динамика восстановления CD4+клеток			
0	27	0,7167	0,6450
+30	23	0,3141	0,3300
+60	20	0,3374	0,2700
Динамика восстановления дендритных (DC1) клеток			
0	27	0,0511	0,0443
+30	23	0,1087	0,0920
+60	20	0,0755	0,0590
Динамика восстановления дендритных (DC2) клеток			
0	27	0,0039	0,0031
+30	23	0,0064	0,0050
+60	20	0,0075	0,0086

Первичное восстановление MnSw-клеток и MSw-клеток также происходило к 60-му дню, однако статистической значимости в данном исследовании различия не имели, так как данные клетки являются одними из последних в ряду дифференциации В-клеток и будут формироваться уже при введении вакцинного препарата.

Восстановление NvB-клеток происходит у большинства пациентов с ОЛ к 60-му дню после проведения курса интенсивной химиотерапии (рис. 4, табл. 2).

Что немаловажно, дендритные клетки восстанавливаются уже к 30-му дню после проведенного курса индукционной химиотерапии, как DC1, так и DC2, что еще раз подтверждает обоснованность проведения вакцинопрофилактики уже через 2 месяца при необходимости.

Одним из важных результатов исследования явилась находка того, что восстановление двух типов дендритных клеток (DC1 и DC2) у пациентов с ОЛ после интенсивной химиотерапии проходило параллельно, так как соотношение DC2/DC1 не менялось в течение времени (рис. 5).

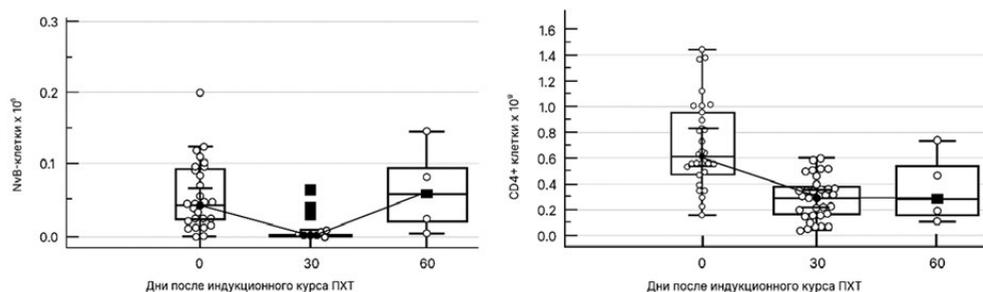


Рис. 4. Динамика восстановления NvB (наивных В-клеток) и CD4+-клеток после индукционного курса полихимиотерапии у пациентов с ОЛ
Fig. 4. Dynamics of recovery of NvB (naive B cells) and CD4+ cells after an induction course of polychemotherapy in patients with AL

Таблица 2

Результаты анализа различий в уровнях NvB-клеток после проведения индукционной терапии по поводу ОЛ с помощью критерия Краскела – Уоллиса

Table 2

Results of analysis of differences in the levels of NvB cells after induction therapy for AL using the Kruskal – Wallis test

Критерий	41,9134		
Корр. критерий	41,8987		
Степень свободы	4		
Значение p	< 0,000001		
Апостериорный анализ (по Коноверу)			
Фактор	N	Среднее значение ранга	Отличия от фактора № (p<0.05)
(1) 0	27	49,41	(2)
(2) 30	23	19,72	(1)(3)
(3) 60	20	48,74	(2)

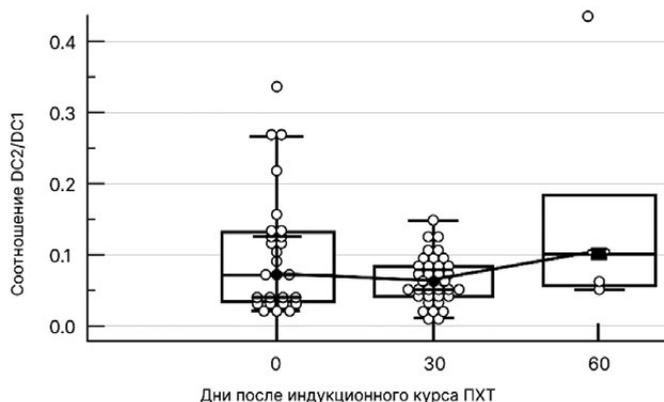


Рис. 5. Динамика соотношения дендритных DC2/DC1-клеток у пациентов с ОЛ индукционного курса полихимиотерапии
Fig. 5. Dynamics of the ratio of dendritic DC2/DC1 cells in patients with AL during an induction course of polychemotherapy

Таблица 3

Результаты анализа различий в уровнях дендритных (DC1 и DC2) клеток после проведения индукционной терапии по поводу ОЛ с помощью критерия Краскела – Уоллиса

Table 3

Results of analysis of differences in the levels of dendritic (DC1 and DC2) cells after induction therapy for AL using the Kruskal – Wallis test

Критерий	25,7110		
Корр. критерий	25,7900		
Степень свободы	4		
Значение p	0,000031		
Апостериорный анализ (по Коноверу)			
Фактор	n	Среднее значение ранга	Отличия от (p<0.05) фактора №
(1) 0	27	27,57	(2)
(2) 30	23	59,58	(1)(3)
(3) 60	20	43,40	(2)
Критерий	11,1542		
Корр. критерий	11,1954		
Степень свободы	4		
Значение p	0.024615		
Апостериорный анализ (по Коноверу)			
Фактор	n	Среднее значение ранга	Отличия от (p<0.05) фактора №
(1) 0	27	31,12	(2)
(2) 30	23	45,63	(1)(3)
(3) 30	20	62.10	(1)

Таблица 4

Результаты анализа клинического эффекта внедрения пневмококковой вакцинации у пациентов с ОЛ

Table 4

Results of the analysis of the clinical effect of the introduction of pneumococcal vaccination in patients with acute leukemia

Характеристика	Группа вакцинации (n=13)	Группа контроля (n=14)	Значение P
	Абс. число (%)	Абс. число (%)	
Возраст, мед. (интеркв. интервал)	31	33	0,5021
Пол (муж.)	9 (69,23)	7 (50)	0,6367
Эпизоды ФН	1	9	0,0710
Пневмонии	1	5	0,2641
Инфекция COVID-19	1	4	0,2213
ОРИ неуточненное	0	4	0,1792

Достоверность различий в уровнях дендритных (DC1 и DC2) клеток в динамике выполнялась ниже с помощью критерия Краскела – Уоллиса (табл. 3).

При анализе графиков интересно отметить, что уровень дендритных клеток на 30-й день был выше, чем даже в 0 (т. е. до химиотерапии). Этот феномен объясняется хорошими результатами проведенного индукционного курса полихимиотерапии (достижение первой полной ремиссии), т. е. элиминацией/снижением иммуносупрессивного действия опухолевой массы на дендритные клетки, что и дает описанный подъем.

По результатам исследования в группе пациентов с выполненной вакцинопрофилактикой развился 1 эпизод пневмонии, 1 эпизод подтвержденной коронавирусной инфекции против 5 эпизодов пневмонии, 5 эпизодов коронавирусной инфекции и 4 эпизодов острой респираторной инфекции неуточненной этиологии в группе без вакцинопрофилактики. Результаты оценки клинического эффекта внедрения вакцинопрофилактики гриппа, пневмококковой инфекции и инфекции COVID-19 представлены в табл. 4.

Таким образом, отмечено влияние вакцинации инактивированной тетрасплит-вакциной, конъюгированной пневмококковой вакциной и очищенной инактивированной цельновирионной вакциной против COVID-19 на частоту фебрильной нейтропении ($p=0,0710$). При этом в отношении клинико-рентгенологически подтвержденных пневмоний и лабораторно подтвержденных инфекций COVID-19 имеется тенденция к снижению частоты данных осложнений у пациентов с ОЛ после вакцинации ($p=0,2641$ и $0,2213$ соответственно).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На этапе индукционной терапии ОЛ наблюдается угнетение клеточного (подавление лимфоцитопоза) и гуморального (функциональная гипогаммаглобулинемия) иммунитета, что играет значительную роль в развитии инфекционных эпизодов у пациентов с ОЛ.

Абсолютный дефицит Т-лимфоцитов и абсолютный и относительный дефицит В-лимфоцитов у пациентов с ОМЛ и ОЛЛ после проведения индукционного этапа



полихимиотерапии приводит к состоянию вторичного иммунодефицита, являющемуся показателем повышенного риска развития инфекционных эпизодов разной этиологии.

Уровень наивных В-клеток у пациентов с ОЛ после индукционного этапа лечения возвращается к исходному значению к 60-му дню (критерий Краскела – Уоллиса 41,93; 4 степени свободы; $P < 0,001$). Полученные данные позволяют планировать проведение вакцинации после 2 месяцев от индукционной терапии у пациентов с ОЛ с перспективой внедрения индивидуализированного календаря вакцинации на основе иммунологических параметров.

Дендритные клетки (DC1 и DC2) параллельно восстанавливаются уже к 30-му дню после проведения курса химиотерапии у пациентов с ОЛ (критерий Краскела – Уоллиса 25,71; 4 степени свободы; $P < 0,001$ для DC1 и критерий Краскела – Уоллиса 11,15; 4 степени свободы; $P < 0,025$ для DC2), что подтверждает обоснованность ранней вакцинации у данной категории пациентов.

Внедрение вакцинопрофилактики у пациентов с ОЛ на фоне проведения химиотерапии позволяет снизить частоту эпизодов фебрильной нейтропении, пневмонии, инфекции COVID-19.

Мы показали, что возможно нарушение реакции на вакцинацию против гриппа у пациентов с ОЛ в связи с изменением состава В-клеток и нарушением В-клеточного иммунитета. Успешные ответы на вакцинацию требуют как функционального клеточного, так и гуморального адаптивного иммунитета, а описанные нами несвязанные В-клеточные и Т-клеточные реакции имеют значение для успеха некоторых видов иммунотерапии. Эти результаты могут иметь значение для использования вакцинопрофилактики у пациентов с ОЛ.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Welch JS, Ley TJ, Link DC, Miller CA, Larson DE, Koboldt DC, et al. The EHA Research Roadmap: Infections in Hematology. *HemaSphere*. 2021;5(12):pe662. DOI: 10.1097/H59.0000000000000662.
2. Ramos NR, Mo CC, Karp JE, Hourigan CS. Current approaches in the treatment of relapsed and refractory acute myeloid leukemia. *J Clin Med*. 2015;4(4):665–95. DOI: 10.3390/jcm4040665.
3. Koreth J, Schlenk R, Kopecky KJ, Honda S, Sierra J, Djulbegovic BJ, et al. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis of prospective clinical trials. *JAMA*. 2009;301(22):2349–61. DOI: 10.1001/jama.2009.813.
4. Hourigan CS, Levitsky HI. Evaluation of current cancer immunotherapy: hemato-oncology. *Cancer J*. 2011;17(5):309–24. DOI: 10.1097/PP0.0b013e3182341fde.
5. Lichtenegger FS, Krupka C, Kohnke T, Subklewe M. Immunotherapy for acute myeloid leukemia. *Semin Hematol*. 2015;52(3):207–14. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2015.03.006.
6. Rezvani K, Yong AS, Tawab A, Jafarpour B, Eniafe R, Mielke S, et al. Ex vivo characterization of polyclonal memory CD8+ T-cell responses to PRAME-specific peptides in patients with acute lymphoblastic leukemia and acute and chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2009;113(10):2245–55. DOI: 10.1182/blood-2008-03-144071.
7. Rosenblatt J, Stone RM, Uhl L, Neuberg D, Joyce R, Levine JD, et al. Individualized vaccination of AML patients in remission is associated with induction of antileukemia immunity and prolonged remissions. *Sci Transl Med*. 2016;8(368):368ra171. DOI: 10.1126/scitranslmed.aag1298.
8. Kanakry CG, Hess AD, Gocke CD, Thoburn C, Kos F, Meyer C, et al. Early lymphocyte recovery after intensive timed sequential chemotherapy for acute myelogenous leukemia: peripheral oligoclonal expansion of regulatory T cells. *Blood*. 2011;117(2):608–17. DOI: 10.1182/blood-2010-04-277939.
9. Nakaya HI, Hagan T, Duraisingham SS, Lee EK, Kwissa M, Roupael N, et al. Systems analysis of immunity to influenza vaccination across multiple years and in diverse populations reveals shared molecular signatures. *Immunity*. 2015;43(6):1186–98. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.11.012.
10. Beck CR, McKenzie BC, Hashim AB, Harris RC, Zanuzdana A, Agboado G, et al. Influenza vaccination for immunocompromised patients: systematic review and meta-analysis from a public health policy perspective. *PLoS ONE*. 2011;6(12):e29249. DOI: 10.1371/journal.pone.0029249.
11. Robins HS, Campregher PV, Srivastava SK, Wachter A, Turtle CJ, Kahsai O, et al. Comprehensive assessment of T-cell receptor beta-chain diversity in alphabeta T cells. *Blood*. 2009;114(19):4099–107. DOI: 10.1182/blood-2009-04-217604.
12. Reilly A, Kersun LS, Luning Prak E, Boyer J, McDonald K, Jawad AF, et al. Immunologic consequences of chemotherapy for acute myeloid leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2013;35(1):46–53. DOI: 10.1097/MPH.0b013e318266c0c8.
13. Xhaard A, Moins-Teisserenc H, Busson M, Robin M, Ribaud P, Dhedin N, et al. Reconstitution of regulatory T-cell subsets after allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(8):1089–92. DOI: 10.1038/bmt.2014.105.
14. Tangye SG, Avery DT, Deenick EK, Hodgkin PD. Intrinsic differences in the proliferation of naive and memory human B cells as a mechanism for enhanced secondary immune responses. *J Immunol*. 2003;170(2):686–94. DOI: 10.4049/jimmunol.170.2.686.
15. Good KL, Avery DT, Tangye SG. Resting human memory B cells are intrinsically programmed for enhanced survival and responsiveness to diverse stimuli compared to naive B cells. *J Immunol*. 2009;182(2):890–901. DOI: 10.4049/jimmunol.182.2.890.



Третьяк Д.С., Трухан А.П., Гуляев А.А., Бузин А.Н. ✉
432 ордена Красной Звезды главный военный клинический медицинский центр
Вооруженных Сил Республики Беларусь, Минск, Беларусь

Применение кровесберегающих технологий в лечении пациентов с огнестрельными и минно-взрывными ранениями

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Третьяк Д.С., Бузин А.Н.; сбор материала – Третьяк Д.С., Гуляев А.А.; обработка материала и выполнение исследования – Третьяк Д.С., Гуляев А.А.; обработка данных – Гуляев А.А., Третьяк Д.С.; написание текста – Третьяк Д.С., Трухан А.П., Бузин А.Н.; редактирование – Третьяк Д.С., Трухан А.П.

Подана: 18.03.2024
Принята: 29.04.2024
Контакты: buzin00@bk.ru

Резюме

Лечение геморрагического шока и его осложнений остается одной из актуальных проблем современной медицины. Огнестрельные и минно-взрывные травмы нередко приводят к развитию наружных и внутренних кровотечений и острой массивной кровопотери. В связи с этим эффективность лечения пациентов с данными видами повреждений в значительной степени связана с возможностью ранней остановки кровотечения, а также тактикой и качеством трансфузионного пособия.

Ключевые слова: острая массивная кровопотеря, огнестрельная травма, минно-взрывная травма, аппаратная реинфузия

Tretyak D., Trukhan A., Gulyaev A., Buzin A.
432 Main Military Clinical Medical Center of the Armed Forces of the Republic of Belarus,
Minsk, Belarus

Application of Blood-Saving Technologies in the Treatment of Patients with Gunshot and Mine-Explosive Wounds

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design research – Tretyak D., Buzin A.; collection of material – Tretyak D., Gulyaev A.; processing of material and execution of research – Tretyak D., Gulyaev A.; data processing – Gulyaev A., Tretyak D.; the text is written by Tretyak D., Trukhan A., Buzin A.; editing by Tretyak D., Trukhan A.

Submitted: 18.03.2024
Accepted: 29.04.2024
Contacts: buzin00@bk.ru

Abstract

Treatment of hemorrhagic shock and its complications remains one of the pressing problems of modern medicine. Gunshot and mine-explosive injuries often lead to the



development of external and internal bleeding and acute massive blood loss. In this regard, the effectiveness of treatment of patients with these types of injuries is largely related to the possibility of early bleeding control, as well as the tactics and quality of transfusion management.

Keywords: acute massive blood loss, gunshot injury, mine blast injury, hardware reinfusion

■ ВВЕДЕНИЕ

Лечение геморрагического шока и его осложнений остается одной из актуальных проблем современной медицины. Огнестрельные и минно-взрывные травмы нередко приводят к развитию наружных и внутренних кровотечений и острой массивной кровопотери (ОМК). В связи с этим эффективность лечения пациентов с данными видами повреждений в значительной степени связана с возможностью ранней остановки кровотечения, а также тактикой и качеством трансфузионного пособия [1]. С увеличением объема и площади поражения тканей ранящим снарядом возрастает объем кровопотери и, как следствие, растет потребность в гемотрансфузии, соответственно, повышается риск неблагоприятных посттрансфузионных реакций и осложнений.

Наиболее безопасными и в то же время эффективными способами коррекции кровопотери являются методы аутогемотрансфузии, которые можно рассматривать как альтернативу донорской крови без проведения первичных исследований на совместимость. В условиях хирургического стационара методом выбора является аппаратная реинфузия крови [2, 3]. Ограничением для более широкого внедрения метода аппаратной интраоперационной реинфузии крови в практику экстренной хирургии является стоимость оборудования и расходных материалов, необходимость обучения медицинского персонала.

Аппаратная реинфузия является процедурой плазмафереза полостной или раневой аутокрови, подразумевающей под собой удаление плазмы, отмывание клеток крови, их концентрирование до Ht 65–75 об. % с последующим возвратом трансфузионной среды пациенту. Конечный продукт представляет собой концентрат клеток в изотоническом солевом растворе (отмытых эритроцитов) с содержанием белка менее 0,5 г/л. Данный препарат содержит все клетки крови, что служит обоснованием для обозначения таковой среды как «клеточный компонент крови» [4–7].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить безопасность и эффективность методики аппаратной реинфузии излившейся крови с применением аппарата CATSmart у пациентов с огнестрельными и взрывными ранениями, осложнившимися острой массивной кровопотерей.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В статье представлен собственный опыт применения интраоперационной аппаратной реинфузии у пациентов с огнестрельными и взрывными ранениями, осложнившимися ОМК. Обследование и лечение пациентов проходило на базе 432-го главного военного клинического медицинского центра согласно утвержденным

клиническим протоколам «Диагностика и лечение пациентов (взрослое и детское население) с огнестрельными ранениями груди» и «Диагностика и лечение пациентов (взрослое и детское население) с огнестрельными ранениями живота» (постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 09.08.2021 № 94).

Анализ включал оценку организационных мероприятий (алгоритм подготовки аппарата CATSmart к интраоперационному применению), непосредственно медицинскую технологию проведения манипуляции, адекватность восполнения ОМК с помощью инфузионно-трансфузионных сред (рис. 1).

Сбор крови из полости или раны осуществляли с помощью магистрали. На накопник подавался антикоагулянт со скоростью 40–60 капель в минуту, и стабилизируемая кровь под давлением (100–150 мм рт. ст.) поступала в емкость для сбора крови. Процедура фракционирования состояла из трех последовательных стадий обработки собранной аутокрови. Стабилизированная кровь из резервуара нагнеталась помпой во вращающуюся «промывочную» камеру аппарата, где происходила первая стадия сепарации, в результате которой отделялась большая часть жидкой составляющей. При центрифугировании менее плотные субстанции всплывали и удалялись через специальную систему в мешок для отходов. Во второй стадии клетки крови промывались 0,9% раствором NaCl. В третьей стадии происходило отделение отработанного «промывного» раствора и концентрирование клеток. В результате этих последовательных стадий получался концентрат клеток аутокрови или «клеточный компонент аутокрови». Он перемещался насосом возврата в контейнер для переливания и с помощью одноразовой системы возвращался пациенту. Так как в процессе аппаратной реинфузии происходило удаление 95–98% плазмы, необходимо было обязательное введение пациенту свежезамороженной донорской плазмы.



Рис. 1. Применение аппарата CATSmart в операционной
Fig. 1. Application of the CATSmart device in the operating room



Абсолютным противопоказанием к проведению методики аппаратной реинфузии крови считали наличие гнойно-септического процесса в полости, наличие фибринолизированной крови (нахождение крови в брюшной полости более 24 часов). Относительными противопоказаниями считали наличие у пациента онкологических заболеваний, повреждение полых органов с массивным загрязнением брюшной полости и распространенным перитонитом.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Критерием вызова трансфузиолога на экстренную операцию являлась ультразвуковая либо рентгенологическая визуализация в полостях крови в объеме 500–700 мл, клиническая картина продолжающегося внутреннего кровотечения, а также информация от бригады скорой медицинской помощи (СМП) о наличии у пациента нестабильной гемодинамики вследствие предполагаемой кровопотери. Трансфузиологи приходили в операционную одновременно с хирургами, готовили аппарат реинфузии к применению и ждали раскрытия полости. Такую последовательность в определении тактики принятия решения считаем оправданной, так как от начала сбора аутокрови зависит эффективность манипуляции интраоперационной реинфузии и адекватность компенсации кровопотери во время оперативного вмешательства.

Клинический случай № 1. Пациент Л., 23 года. Около 14 часов в 432 ГВКМЦ была получена информация о транспортировке бригадой СМП пациента с огнестрельным пулевым ранении груди (случайный выстрел из автомата Калашникова, калибр 5,45 мм) и нестабильной гемодинамикой. Сразу была подготовлена экстренная операционная с бригадой, и одновременно трансфузиологической службой был развернут аппарат CATSmart. При поступлении состояние пациента крайне тяжелое, нестабильное, обусловленное огнестрельным проникающим ранением груди.

Уровень сознания – кома 1 (7 баллов по шкале ком Глазго). Кожный покров холодный, бледный, видимые слизистые бледные, симптом «бледного пятна» более 5 секунд. Зрачки равновеликие, фотореакция сохранена. Дыхание самостоятельное, 26/мин, аускультативно дыхание слева резко ослаблено. Пульс на периферических артериях не определяется. АД 60/30 мм рт. ст., ЧСС – 92 удара/мин. Установлен мочевой катетер, моча не получена.

Пациент сразу направлен на компьютерную томографию (КТ) груди, где было выявлено, что в паравerteбральной области слева на уровне Th 6–9 определяются металлические фрагменты и оскольчатый перелом 9-го ребра. По передней подмышечной линии имеется краевой перелом 5-го ребра, в мягких тканях нижних отделов шеи и левой половины грудной клетки определяется свободный газ. Левое легкое в размере уменьшено за счет частичного ателектаза нижней доли, деформировано за счет раневого хода с наличием зоны контузии легкого в прилежащих отделах. В левой плевральной полости определяется кровянистая жидкость толщиной до 80 мм и газ толщиной около 10 мм (рис. 2а, 2б).

Установлен диагноз: огнестрельное пулевое сквозное проникающее ранение левой половины груди с повреждением левого легкого, огнестрельные переломы V, IX ребер. Гемопневмоторакс, продолжающееся внутривнутриплевральное кровотечение. Геморрагический шок III ст.

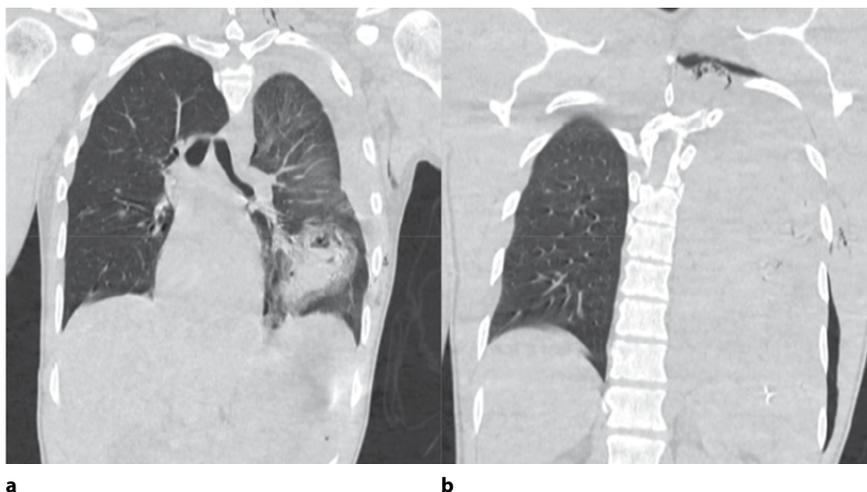


Рис. 2 (a, b). КТ-картина при поступлении
Fig. 2 (a, b). CT scan upon admission

Пациент доставлен в операционную. Выполнен торакоцентез, начато дренирование плевральной полости с активной аспирацией крови с помощью аппарата CATSmart, произведена реинфузия 1100 мл крови. Учитывая объем кровопотери и наличие сгустков в плевральной полости по результатам КТ, принято решение о торакотомии. В плевральной полости обнаружено еще 600 мл крови, также была выполнена аппаратная реинфузия. При дальнейшей ревизии выявлены ранения верхней и нижней долей легкого (S4, 7, 9), кровоточащие, с поступлением воздуха. Раны ушиты отдельными узловыми швами, герметизированы фибриновым клеем Фибриностат. Выполнена ПХО выходного отверстия. Торакотомная рана послойно ушита наглухо. Налажена активная аспирация.

После операции пациент доставлен на лечение в отделение анестезиологии и реанимации. Спустя двое суток переведен с аппарата искусственной вентиляции легких на самостоятельное дыхание. Пациент в сознании, доступен продуктивному контакту. Спустя 3 суток пациент переведен в профильное хирургическое отделение для продолжения лечения. Через 11 суток выписан из стационара.

Клинический случай № 2. Пациент К., 38 лет, доставлен в 432 ГВКМЦ через час после получения травмы (взрыв боеприпаса на полигоне). Состояние пациента тяжелое, обусловленное тяжелым сочетанным минно-взрывным ранением головы, живота, конечностей (рис. 3).

Уровень сознания – 12 баллов по шкале ком Глазго. Доступен простому контакту, ориентирован в личности и времени. Кожный покров и видимые слизистые бледные, сухие. Симптом «бледного пятна» более 5 секунд. Дыхание самостоятельное, эффективное, проводится во все отделы легких, ЧД = 22/мин., SpO₂ = 92%, хрипы не выслушиваются. Тоны сердца ясные, ритмичные. ЧСС = 118/мин., АД 90/40 мм рт. ст. Живот напряжен, болезненный при пальпации во всех отделах. Диурез сохранен (установлен мочевого катетер, получена моча с/ж цвета).



Рис. 3. Вид раны до хирургической обработки
Fig. 3. View of the wound before surgical treatment

На КТ живота: отмечаются множественные, металлической плотности инородные тела в печени, правой почке, межпетельно относительно тонкого кишечника, в области посходящего отдела толстой кишки, в области границы печени и нижней полой вены на уровне тела Th10, в правой поясничной области (в том числе в структуре правой подвздошно-поясничной мышцы), по передней, правой латеральной и задней брюшной стенке, в правой ягодичной области (рис. 4 а, b). Вокруг печени отмечается слой жидкости кровяной плотности с толщиной до 18 мм.

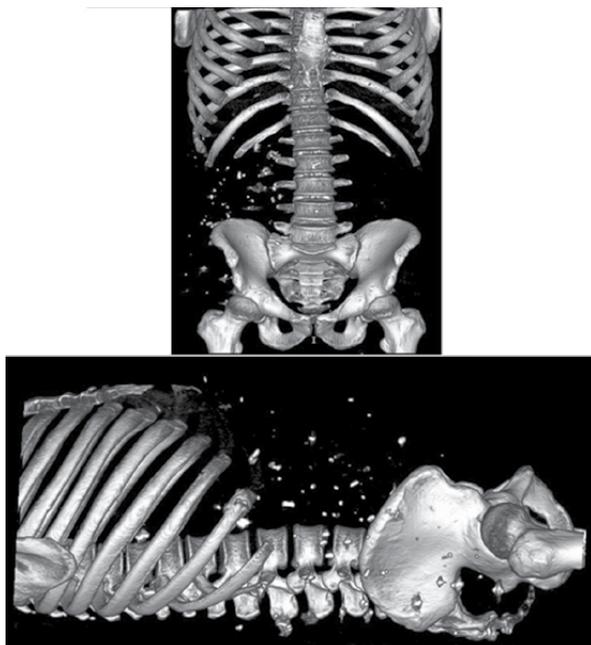


Рис. 4 (а, b). 3D-моделирование КТ при поступлении
Fig. 4 (a, b). 3D CT modeling upon admission

Выставлен диагноз: тяжелая сочетанная огнестрельная травма головы, груди, живота, таза, конечностей. Множественные осколочные слепые и сквозные проникающие ранения живота с повреждением печени. Продолжающееся внутрибрюшное кровотечение. Травматический шок 2–3-й степени.

Пациент доставлен в операционную. В брюшной полости, преимущественно в правых отделах, обнаружено до 700 мл крови со сгустками, начат сбор крови в аппарат для реинфузии. По диафрагмальной поверхности печени определяются множественные глубокие ранения с незначительным подтеканием крови, выполнена тампонада печени. В терминальном отделе подвздошной кишки на расстоянии 20 см определяется 4 сквозных ранения, сквозное ранение купола слепой кишки. Через отверстие отмечается незначительное выделение кишечного содержимого. Учитывая ранние сроки с момента получения травмы и незначительное количество кишечного содержимого в брюшной полости, было принято решение о выполнении реинфузии. Раны диафрагмальной поверхности тампонируются гемостатической губкой, ушиты Z-образными швами, установлены тампоны в над- и подпеченочное пространство. Выполнена обструктивная правосторонняя гемиколэктомия.

После операции пациент доставлен в отделение анестезиологии и реанимации, где проходил лечение на протяжении 14 суток. На 2, 4, 6-е сутки выполняли программные санационные релапаротомии.

Необходимо отметить, что, несмотря на тяжесть состояния и повторные операции, у пациента не возникло осложнений на смежных органах. В лабораторных показателях не было проявлений ацидоза, а показатели гемоглобина и эритроцитов оставались в пределах нижней границы нормы. Спустя 36 суток с момента поступления пациент выписан из стационара.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показывает наш опыт, пациент К. (клинический пример № 2) поступил изначально с нормальными цифрами показателей красной крови (гемоглобин, эритроциты, гематокрит), несмотря на подтвержденную ОМК, что может ввести в заблуждение врача при выборе тактики трансфузионной терапии.

Раннее начало трансфузионной поддержки с применением аутокрови, полученной в результате использования аппарата для реинфузии CATSmart, является безопасной медицинской технологией, что позволило минимизировать риски возникновения постоперационных осложнений, снизить потребление донорских эритроцитных компонентов крови, улучшить репаративные функции организма за счет прямого влияния аутокрови на комплексный гомеостаз.

В процессе оперативных вмешательств аутокровь подвергалась обработке в центрифуге объемом от 225 до 400 мл со скоростью 800 мл/мин и возвращалась пациентам в виде отмытых эритроцитов с гематокритом 60–65% внутривенно. Применение данного метода позволило вернуть пациентам 1000 ± 70 мл. Осложнений после использования обработанной аутокрови отмечено не было.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение интраоперационной аппаратной реинфузии в комплексе инфузионно-трансфузионной терапии позволяет в кратчайшие сроки стабилизировать



показатели центральной и периферической гемодинамики. Данная методика предоставила возможность снизить объем трансфузии донорских эритроцитов как в интраоперационном, так и в постоперационном периодах.

Применение интраоперационной аппаратной реинфузии крови во время экстренных операций позволило избежать развития тяжелого ДВС-синдрома.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Abakumov M., Lozhkin A., Khvatov V. Assessment of the volume and degree of blood loss in trauma to the chest and abdomen. *Surgery*. 2002;11:4–7.
2. Ermolov A., Valetova V., Khvatov V. New technologies intraoperative blood reinfusion in severe combined trauma. *Health and medical technology*. 2008;4:4–6.
3. Zilber A. *Blood loss and blood transfusion. Principles and methods of bloodless surgery*. Petrozavodsk, 1999. 120 p.
4. Ragimov A., Shcherbakova G. *Infusion-transfusion therapy*. M: GEOTAR-Media 2021;70–72.
5. Ragimov A., Eremenko A., Nikiforov Yu. *Transfusiology in resuscitation*. M.: MIA, 2005. 775 p.
6. Ragimov A., Kravivkin I. *Blood-saving technologies in cardiovascular surgery*. M.: VUNMC Ministry of Health of the Russian Federation, 1999. 74 p.
7. Khvatov V., Kobzeva E., Ragimov A. (ed.) *Blood reinfusion. In the book: Autodonorstvo and autohemotransfusion: a guide*. M: GEOTAR-Media, 2011;153–193.



Жибурт Е.Б.✉, Хамитов Р.Г., Похабов Д.С., Кузьмин Н.С., Мадзаев С.Р., Шалыгин Л.Д., Шестаков Е.А.

Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

36-я конференция «Новое в трансфузиологии: нормативные документы и технологии»: что меняется?

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Благодарность: авторы выражают благодарность сотрудникам Краснодарской краевой станции переливания крови – главному врачу Алексею Тихоновичу Коденеву и заведующей Сочинским филиалом Марине Владимировне Вечелковской за помощь в организации работы и консультации.

Подана: 07.05.2024

Принята: 10.06.2024

Контакты: ezhiburt@yandex.ru

Резюме

В статье обобщены материалы 36-й конференции «Новое в трансфузиологии: нормативные документы и технологии» (Сочи, 2024). Проанализированы данные по производственной и клинической трансфузиологии, иммунологической и инфекционной безопасности в службе крови, производству препаратов плазмы крови, доказательным исследованиям в трансфузиологии.

Ключевые слова: трансфузиология, донорство, заготовка крови, переливание крови, инфекции крови, иммуногематология, препараты крови



Zhiburt E., Khamitov R., Pokhabov D., Kuzmin N., Madzaev S., Shalygin L., Shestakov E.
Pirogov National Medical and Surgical Center, Moscow, Russia

36th Conference "New in Transfusiology: Regulatory Documents and Technologies": What is Changing?

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: The authors declare that their authorship meets the international ICMJE criteria. All authors equally participated in the preparation of the publication: developing the concept of the article, obtaining and analyzing factual data, writing and editing the text of the article, checking and approving the text of the article.

Gratitude: the authors express their gratitude to the staff of the Krasnodar Regional Blood Transfusion Station: chief physician Alexey Kodenev and head of the Sochi branch Marina Vechelovskaya – for their help in organizing the work and consultation.

Submitted: 07.05.2024

Accepted: 10.06.2024

Contacts: ezhiburt@yandex.ru

Abstract

The article summarizes the materials of the 36th conference "New in Transfusiology: Regulatory Documents and Technologies" (Sochi, 2024). Data on blood collection and transfusion, immunological and infectious safety in the blood service, the production of blood plasma products, and evidence-based research in transfusiology were analyzed.

Keywords: transfusiology, donation, blood collection, blood transfusion, blood infections, immunohematology, blood products

■ ВВЕДЕНИЕ

В мае 2024 г. в Сочи (Краснодарский край, Россия) Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова и Служба крови Южного федерального округа провели 36-ю конференцию «Новое в трансфузиологии: нормативные документы и технологии». Среди материалов конференции можно выделить новую информацию по основным проблемам нашей специальности.

Организация службы крови

Главный трансфузиолог Южного федерального округа (ЮФО) Алексей Коденев доложил, что в 2023 г. в федеральном округе увеличилось количество донаций цельной крови и клеток крови на 3,9% и 11,0% соответственно. Количество донаций плазмы уменьшилось на 14,3%. В клинику выдано более 70 тысяч литров эритроцитов, 37,5 тысячи литров плазмы и 4,6 тысячи литров тромбоцитов. Выполнено 401 792 трансфузии 156 050 реципиентам.

Определены перспективы развития:

1. Модернизация и поддержание технической базы, оснащение субъектов обращения донорской крови и ее компонентов регионов ЮФО современным специализированным оборудованием.
2. Совершенствование системы развития безвозмездного донорства крови и донорства костного мозга.

3. Планирование подготовки и трудоустройства медицинских работников с использованием современных технологий кадрового менеджмента, эффективных мотивационных механизмов, позволяющих обеспечить медицинские организации Службы крови регионов ЮФО квалифицированными кадрами.
4. Увеличение финансирования отрасли с целью повышения результативности функционирования учреждений Службы крови регионов ЮФО.
5. Участие в разработке нормативной документации на современные технологии по заготовке, переработке и хранению донорской крови и ее компонентов.
6. Увеличение бюджетных мест в ординатуре по специальности «трансфузиология» с целью привлечения молодых специалистов в Службу крови регионов ЮФО.

Клиническая трансфузиология

В крупнейшем трансплантационном центре Европы – Клинике НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова в 2023 г., по данным Марии Эстриной, выполнено 485 пересадок аллогенных стволовых клеток. 681 пациенту перелили 6656 доз аферезного концентрата тромбоцитов. При этом списание тромбоцитов по сроку годности составило 43 дозы (0,64%).

Иммуногематология

О подборе компонентов крови пациентам в сложных случаях иммуногематологической диагностики рассказала Анна Йовдий, руководитель группы иммуногематологии ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства».

На результат иммуногематологического исследования влияют биологические факторы:

- количество антигенных детерминант на эритроцитах;
- модификация антигенов группы крови под действием окружающей среды и метаболических процессов в организме;
- наличие в крови антиэритроцитарных антител;
- проводимая гемотрансфузионная терапия.

Причины сомнительного лабораторного результата:

- ослабление/отсутствие реакции с моноклональными антителами;
- ослабление/отсутствие реакции с тест-эритроцитами;
- несоответствие прямой и обратной реакций при определении группы крови АВО;
- двойная популяция эритроцитов;
- неспецифическая агглютинация эритроцитов.

В клинике КНИИГПК сложные случаи составляют 19,6% (417 пациентов). Среди них:

- химера по антигенам системы Rh – 9,1%;
- антиэритроцитарные антитела – 7,9%;
- несоответствие прямого и обратного определения группы крови АВО – 1,5%;
- химера по антигенам системы АВО – 0,8%;
- неинтерпретируемый фенотип АВО – 0,2%.

Среди 203 пациентов с нерегулярными антиэритроцитарными антителами установить специфичность этих антител удалось у 143, среди них полиспецифические антитела выявлены у 89 пациентов.



Врач Томского регионального центра крови Татьяна Прохоренко выявила причины затруднений при определении АВО-принадлежности у доноров крови:

- неспецифическая агглютинация эритроцитов на фоне острой вирусной инфекции;
- неспецифическая агглютинация плазмы (холодовые антитела у доноров с фенотипом А, В или АВ);
- холодовые анти-М-системы MNS, анти-P1-системы P, анти-Le(a)-системы Lewis;
- экстраагглютинины (анти-A1-антитела у доноров с фенотипом А, АВ);
- утрата естественных анти-A- и анти-B-антител.

Доля таких доноров составляет 0,03–0,05%. Сделано заключение, что нарушение принципа перекрестного определения АВО-принадлежности у доноров крови является фактором, ограничивающим последующий допуск к донациям и указывающим в ряде случаев на иммунологические отклонения. Установление причины, затрудняющей перекрестное определение группы крови, важно для прогнозирования возврата человека к донорству крови, а также персонализированной разъяснительной работы с ним.

Инфекционная безопасность

Руководитель группы иммунохимии НИИ скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Валерий Шустов отметил, что при переходе скрининга гемотрансмиссивных инфекций с иммуноферментного анализа на иммунохемилюминесцентный анализ количество аналитических ошибок сократилось в 1,4 раза, количество подтверждающих тестов – в 2,7 раза, производительность труда возросла в 3,1 раза, а цена реагентов – в 2,3 раза.

Член-корреспондент РАН Михаил Михайлов напомнил историю открытия вируса гепатита Е (ВГЕ). Заместитель директора Института полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР Михаил Суменович Балаян знал, что в детстве он перенес гепатит А, о чем свидетельствовало наличие антитела к вирусу гепатита А. 12 августа 1981 г. он заражает себя, выпив стакан с кефиром, в котором был растворен экстракт фекалий от 9 военнослужащих, у которых был зарегистрирован повторный случай гепатита. В результате этого у него развился острый гепатит. ВГЕ весьма актуален для службы крови поскольку у здоровых лиц (потенциальных доноров крови) чаще протекает бессимптомно, а у иммунокомпрометированных лиц (потенциальных реципиентов крови) вызывает тяжелый гепатит.

Результаты обнаружения РНК ВГЕ у доноров крови различных стран:

- Россия – 1 : 4844;
- Англия – 1 : 2848;
- Германия – 1 : 1200;
- Япония – 1 : 8173;
- Франция – 1 : 2218.

Заведующий отделением трансфузиологии Северо-Западного окружного научно-клинического центра имени Л.Г. Соколова ФМБА России Станислав Абрамовский отметил схожую чувствительность и специфичность современных тест-систем экспресс-выявления серологических маркеров ВИЧ, вирусных гепатитов В и С, сифилиса по сравнению с классическими диагностикумами. Также была подчеркнута необходимость работы по сокращению отводов доноров из-за ложноположительных результатов скрининга инфекций.

В результате работы, проведенной сотрудником НПО «Диагностические системы» (Нижний Новгород) Юлией Михайловой, была обнаружена перекрестная реактивность антител в сыворотках крови анти-SARS-CoV-2-позитивных пациентов в острой фазе заболевания COVID-19 в ИФА-тестах, выявляющих маркеры ВИЧ-инфекции. Частота ложноположительных результатов анализа составила 0,7%, что может быть обусловлено как острым респираторным состоянием пациентов с повышением температуры тела, так и вследствие антигенной мимикрии двух вирусов. Установлена возможность получения ложноположительных результатов на ВИЧ у лиц, обследованных в поствакцинальный период (двойная вакцинация Спутник V).

Доказательная трансфузиология

Заведующий кафедрой трансфузиологии ИУВ Национального медико-хирургического центра имени Н.И. Пирогова Евгений Жибурт отметил, что ежегодно переливание крови и ее компонентов получают около 1,4 миллиона россиян. При этом в 2023 г. зарегистрировано 11 трансфузионных реакций. В исследованиях, результаты которых опубликованы в течение года, прошедшего со дня предыдущей конференции, показаны:

- отсутствие эффективности транексамовой кислоты на внутригородском догоспитальном этапе в отношении долгосрочных результатов выживаемости взрослых пациентов с высоким риском травматической коагулопатии;
- преимущество либеральной тактики трансфузионной коррекции анемии при инфаркте миокарда;
- эффективность трансфузионной коррекции тромбоцитопении перед постановкой центрального венозного катетера;
- более половины ошибок, связанных с переливанием крови, о которых сообщалось в модуль гемонадзора США, произошли во время сбора или обработки образцов крови для лабораторных исследований;
- описан гемотрансмиссивный гранулоцитарный анаплазмоз;
- показана эффективность либеральной тактики амбулаторного переливания эритроцитов при миелодиспластическом синдроме: для поддержания гемоглобина на уровне 110–120 г/л переливайте 2 дозы, если уровень гемоглобина <105 г/л, и 1 дозу, если уровень гемоглобина 105–110 г/л;
- у реципиентов хронических трансфузий отмытые эритроциты с высокой экономической эффективностью могут быть замещены лейкодеплецированной эритроцитной взвесью;
- переливание тромбоцитов во время госпитализации в отделение интенсивной терапии может быть связано с более высоким риском смерти и неблагоприятными 2-летними последствиями развития нервной системы у недоношенных детей;
- назначение концентрата протромбинового комплекса всем пострадавшим с травмой и массивным кровотечением – неэффективно;
- назначение 3 доз пулированного криопреципитата всем пострадавшим с травмой и массивным кровотечением – неэффективно;
- лечение высокими дозами эритропоэтина у чрезвычайно недоношенных детей не приводило к снижению риска смерти или к лучшим результатам для развития нервной системы в возрасте 2 лет.



Участники конференции высоко оценили практику менеджмента крови пациента в лечебных отделениях Национального медико-хирургического центра имени Н.И. Пирогова.

Препараты крови

О создании единой системы производства препаратов из плазмы крови на территории Российской Федерации от заготовки сырья до готовой лекарственной формы рассказал заместитель генерального директора ООО «Скопинфарм» Иван Семенов.

Для создания в Российской Федерации современного производства полного цикла препаратов из плазмы крови человека компании – Скопинфарм, Фармимэкс и Октафарма-Фармимэкс – заключили специнвестконтракт по созданию производства полного цикла препаратов крови, включая получение плазмы для фракционирования по новейшим технологиям. Со стороны Российской Федерации специнвестконтракт подписан Министерством промышленности и торговли Российской Федерации и Правительством Рязанской области.

Создается промышленное производство полного цикла биофармацевтических препаратов, субстанций и препаратов плазмы крови человека, в том числе не имеющих аналогов, производимых на территории Российской Федерации с мощностью переработки более 600 тысяч литров плазмы крови в год.

Работы по капитальному строительству и проведению инженерных коммуникаций планируется завершить не позднее 4-го квартала 2027 г. Производство первых коммерческих партий будет запущено в 2029 г., а выход на полную производственную мощность запланирован на 2030 г.

Предусмотрен полный цикл производства готовых лекарственных форм 10 наименований препаратов:

- Окτανат (фактор крови VIII).
- Окτανайн Ф (фактор крови IX).
- Нувик (Симоктоког альфа (фактор крови VIII рекомбинантный)).
- Вилате (фактор крови VIII + фактор Виллебранда).
- Альбумин (альбумин человека).
- Октагам 5% (иммуноглобулин человека нормальный).
- Октагам 10% (иммуноглобулин человека нормальный).
- Октаплекс (факторы крови II, VII, IX, X).
- Резонатив (иммуноглобулин человека антирезус Rh(D)).
- Окτανорм (иммуноглобулин человека для подкожного введения).

Скопинфарм поддерживает социальный проект по развитию добровольного донорства крови и плазмы «+Я». Подробнее о социальном проекте «+Я» рассказал его креативный директор Антон Мельников.

В фокусе проекта – молодые мотивированные активные граждане, которые:

- живут в крупных городах;
- ведут активный, здоровый образ жизни;
- активно пользуются интернетом;
- зарабатывают средне или выше среднего;
- готовы участвовать в социальных активностях.

Манифест проекта:

«Быть в поколении +Я – это понимать, что все и всё в мире неразрывно связано и от здоровья окружающих зависит благополучие каждого.

Это значит ценить других, не теряя себя.

Быть в поколении +Я – это ценить простые дела, отказавшись от чрезмерного потребления, навязанного извне. Знать, что действительно важно в жизни, понимать ценность дел и поступков.

Быть в поколении +Я – это быть внутри социума, сохраняя уникальность».

Этапы реализации проекта:

1-й этап, 2024 г.: информационная медийная кампания, направленная на повышение уровня знаний внутри аудитории о донорстве.

2-й этап, 2025–2026 гг.: проведение локальных кампаний по привлечению доноров в городах присутствия плазмоцентров.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следующую, 37-ю конференцию «Стандарты и индивидуальные подходы в клинической трансфузиологии: нормативные документы и технологии» решено провести в Национальном медико-хирургическом центре имени Н.И. Пирогова 11–13 декабря 2024 г.

НАШИ ОПЫТ, ТЕХНИЧНОСТЬ, ЭСТЕТИКА –
ВАШЕ ПОПАДАНИЕ В ЦЕЛЬ!



220049, г. Минск, ул. Кнорина, 17
+375 17 3221678; +375 29 3499732
e-mail: office@recipe.by



ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ
ИЗДАНИЯ