

Российский
Журнал

ежеквартальный
научно-практический
рецензируемый



ISSN 2311-1267 (Print)
ISSN 2413-5496 (Online)

ДЕТСКОЙ ГЕМАТОЛОГИИ И ОНКОЛОГИИ

2018

Том 5
№

3

Издается с 2014 года

Онлайн-версия журнала: <http://journal.nodgo.org>

В НОМЕРЕ:

Избранные лекции

Новые технологии в детской
гематологии-онкологии

Клиническое наблюдение

Новости нашего сообщества



Фото к материалу из рубрики
«Наша история»

НОДГО

НАЦИОНАЛЬНОЕ ОБЩЕСТВО
ДЕТСКИХ ГЕМАТОЛОГОВ И ОНКОЛОГОВ



ИРВИН 2

- РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
- ДИСТРИБУЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
- ДИСТРИБУЦИЯ ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ И МЕДИЦИНСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ

Ключевые направления:

- Кардиология
- Онкология и онкогематология
- Диабет и эндокринология
- Офтальмология
- Нефрология
- Неврология и психиатрия



www.irwin2.ru



+7 (495) 800-77-87

С 2014 года «Российский журнал детской гематологии и онкологии» включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет импакт-фактор.

С 2015 года журнал зарегистрирован в CrossRef, все статьи будут проиндексированы с помощью цифрового идентификатора DOI.

С 2015 года электронная версия журнала представлена в ведущих российских и мировых электронных библиотеках, в том числе EBSCO.

С 2017 года журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, в которых публикуются основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.



ежеквартальный
научно-практический
рецензируемый

ДЕТСКОЙ ГЕМАТОЛОГИИ И ОНКОЛОГИИ

Национальное общество детских гематологов и онкологов

Ассоциированный член Национальной медицинской палаты и Союза педиатров России

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Варфоломеева Светлана Рафаэлевна, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора — директор Института управления и трансляционной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, исполнительный директор Национального общества детских гематологов и онкологов (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Киргизов Кирилл Игоревич, к.м.н., заместитель директора Института управления и трансляционной медицины, заведующий научно-методическим отделом трансляционной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, врач-гематолог отделения трансплантации костного мозга Российской детской клинической больницы ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ответственный секретарь Национального общества детских гематологов и онкологов (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Шаманская Татьяна Викторовна, к.м.н., врач-детский онколог, ученый секретарь Института онкологии, радиологии ядерной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

О С Н О В А Н В 2 0 1 4 Г .

Издатель:

ООО «Графика»,
127055, Москва, ул. Новолесная, 5.
<http://journal.nodgo.org/jour>

Руководитель проекта В.А. Клюковкин

E-mail: vak@nodgo.org

Заведующая редакцией Т.В. Клюковкина

E-mail: tvk@nodgo.org

Корректор В.Д. Морозова

Подписка на журнал

E-mail: podpiska@nodgo.org

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор) ПИ № ФС 77-57084 от 03 марта 2014 г.
© РОО НОДГО, 2018

Статьи направлять по адресу:

117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1,
с пометкой «Для НОДГО».
Тел.: +7 964-584-62-41
www.nodgo.org, nodgo.rf
E-mail: info@nodgo.org

При полной или частичной перепечатке материалов ссылка на «Российский журнал детской гематологии и онкологии» обязательна.

Редакция не несет ответственности за содержание публикуемых рекламных материалов.

В статьях представлена точка зрения авторов, которая может не совпадать с мнением редакции.

ISSN 2311-1267 (Print)
ISSN 2413-5496 (Online)

Российский журнал
детской гематологии и онкологии.
2018. Том 5. № 3. 1—132.

Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» — 93505

Отпечатано в типографии
ООО «Графика»
Тираж 3000 экз.

3 ТОМ 5
'18

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Атаудилаханов Фазил Иноятович, д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, профессор ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», заведующий отделом биофизики и системной биологии и лабораторией биофизики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Афанасьев Борис Владимирович, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, директор Научно-исследовательского института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, заведующий кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Белогорова Маргарита Борисовна, д.м.н., профессор, заведующая детским онкологическим отделением ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)», заведующая кафедрой онкологии, детской онкологии и лучевой терапии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Володин Николай Николаевич, д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий отделом неонатологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Гончарова Ирина Викторовна, врач-гематолог, врач-онколог высшей квалификационной категории, заведующая отделением онкологии и гематологии ГБУЗ «Детская областная больница Калининградской области», главный внештатный детский специалист онколог-гематолог Министерства здравоохранения Калининградской области (Калининград, Россия)

Ерега Елена Петровна, заведующая отделением детской онкологии и гематологии КГБУЗ «Детская краевая клиническая больница им. А.К. Пиотровича» Минздрава Хабаровского края (Хабаровск, Россия)

Качанов Денис Юрьевич, д.м.н., заместитель директора Института онкологии, радиологии и ядерной медицины и заведующий отделением клинической онкологии и отделом исследования эмбриональных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Литвинов Дмитрий Витальевич, к.м.н., заместитель медицинского директора — главный врач ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Масчан Алексей Александрович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заместитель генерального директора — директор Института детской гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Масчан Михаил Александрович, д.м.н., заместитель генерального директора — директор Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Минкина Людмила Михайловна, к.м.н., руководитель Краевого детского онкогематологического центра ГБУЗ «Краевая детская клиническая больница № 1» (Владивосток, Россия)

Мякова Наталья Валерьевна, д.м.н., заместитель главного врача по медицинской части ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Новичкова Галина Анатольевна, д.м.н., профессор, и.о. генерального директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Румянцев Александр Григорьевич, д.м.н., профессор, академик РАН, президент ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, главный внештатный специалист детский гематолог Минздрава России, член правления Союза педиатров, президент Национального общества детских гематологов и онкологов (Москва, Россия)

Румянцев Сергей Александрович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, проректор по стратегическому развитию ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, заведующий кафедрой трансляционной и регенеративной медицины ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)» (Москва, Россия)

Скоробогатова Елена Владимировна, д.м.н., заведующая отделением трансплантации костного мозга Российской детской клинической больницы ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

Тутельян Алексей Викторович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, заведующий отделом молекулярной иммунологии, инфектологии и фармакотерапии и лабораторией молекулярной визуализации ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, председатель проблемной комиссии «Внутрибольничные инфекции» научного совета РАН по эпидемиологии, инфекционным и паразитарным заболеваниям (Москва, Россия)

Фечина Лариса Геннадиевна, к.м.н., заслуженный врач РФ, заместитель главного врача по онкологии и гематологии ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1», руководитель Межрегионального центра детской онкологии и гематологии (Екатеринбург, Россия)

Цейтлин Григорий Янкелевич, д.м.н., профессор, заведующий отделом социально-психологической реабилитации и разработки коррекционных образовательных программ ЛРНЦ «Русское поле» ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Шамардина Анастасия Вячеславовна, к.м.н., заведующая отделением гематологии ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница» (Нижегород, Россия)

Шарапова Гузель Рафанловна, заведующая детским онкологическим отделением БУ ХМАО — Югры «Нижневартовская окружная детская клиническая больница» (Нижневартовск, Россия)

Юдина Наталья Борисовна, к.м.н., заведующая онкогематологическим отделением химиотерапии БУЗ ВО «Воронежская областная детская клиническая больница № 1» (Воронеж, Россия)

ЗАРУБЕЖНЫЕ РЕДАКТОРЫ

Вилликс Норман, профессор Университетской клиники (Мюнстер, Германия)

Хенце Гюнтер, профессор Клиники детской гематологии и онкологии госпиталя Шарите (Берлин, Германия)

Липтон Джеффри, профессор, руководитель службы детской гематологии и онкологии Университетской клиники Норт Шор (Калифорния, США)

Накагавара Акира, профессор, генеральный директор Медицинского центра KOSEIKAN в Саге, почетный президент Онкологического центра префектуры Чива, президент Азиатского отделения Международного общества детской онкологии (SIOP Asia) (Япония)

Родригез-Галиндо Карлос, исполнительный вице-президент Исследовательского Госпиталя Святого Иуды (Мемфис, США)

The Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology is member of Scientific Electronic Library and Russian Science Citation Index (RSCI) since 2014, have Impact-Factor.

Journal is registered in Cross Ref from 2015, all manuscripts will be indexed with the help of digital DOI identification.

Electronic version of Journal is represented in the leading Russian and World e-libraries including EBSCO since 2015.

Journal includes to the list of leading peer-reviewed scientific journals, which publish the main scientific results of dissertations on competition the degree of doctor and candidate of Sciences since 2017.



quarterly
scientific-and-practical
peer-reviewed journal

**The Russian
Journal**

OF PEDIATRIC HEMATOLOGY and ONCOLOGY

National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists

Associated member of the Russian National Medical House and Russian Union of Pediatricians

CHIEF EDITOR

Varfolomeeva Svetlana R., MD, PhD, Professor, Deputy General Director – Director of the Institute of Management and Translational Medicine at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, Executive Director of Regional Public Organization National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists (Moscow, Russia)

DEPUTY CHIEF EDITOR

Kirgizov Kirill I., MD, PhD, Deputy Director of the Institute of Management and Translational Medicine, Head of the Research Department of Translational Medicine at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, Physician of Bone Marrow Transplantation Department at the Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Executive Secretary of Regional Public Organization National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists (Moscow, Russia)

EXECUTIVE SECRETARY

Shamanskaya Tatyana V., MD, PhD, Physician, Children Oncologist, Academic Secretary of the Institute of Oncology, Radiology and Nuclear Medicine of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

FOUNDED IN 2014

Publisher:

JSC "Graphica",
5 Novolesnaya Str., Moscow, Russia, 127055
<http://journal.nodgo.org/jour>

Project Head V.A. Klyukovkin

E-mail: vak@nodgo.org

Managing Editor T.V. Klyukovkina

E-mail: tvk@nodgo.org

Corrector V.D. Morozova

Journal subscription

E-mail: podpiska@nodgo.org

Journal registered in the Federal Service for Supervision in the Sphere of Communication, Information Technology and Mass Communications (Roskomnadzor)
ПИ № ФС 77-57084 from 03 March 2014
© NSPHO, 2018

Manuscripts should be presented to:

1 Samory Mashela Str., Moscow, Russia,
117997, with remark "For NODGO"
Tel.: +7 964-584-62-41
www.nodgo.org, nodgo.pdf
E-mail: info@nodgo.org

In case of or partial reprint, reference to the "Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology" is mandatory.

Editorial board are not responsible for the contents of published promotional material.

The articles present a point of view of the authors and may not coincide the opinion of the publisher.

ISSN 2311-1267 (Print)
ISSN 2413-5496 (Online)

The Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology
2018. Vol. 5. № 3. 1–132.

Subscription index in the "Russian Press" catalogue – 93505

Printed in JSC "Graphica"
Circulation: 3,000 copies

3 Vol. 5
'18

EDITORIAL BOARD

- Ataullakhanov Fazoil I.**, MD, DBSci, Professor, Corresponding Members of the Russian Academy of Sciences, Scientific Director of the Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology, Professor of Moscow State University, Head of the Department of Biophysics and Systems Biology and Laboratory of Biophysics of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)
- Afanasyev Boris V.**, MD, PhD, Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Director of Raisa Gorbacheva Memorial Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Head of the Department of Haematology, Transfusion and Transplantation at I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (S.-Petersburg, Russia)
- Belogurova Margarita B.**, MD, PhD, Professor, Head of Children's Oncology Department at the Saint Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Medical Assistance (Oncological), Head of Department of Oncology, Pediatric Oncology and Radiotherapy of the Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health of Russia (S.-Petersburg, Russia)
- Volodin Nicolay N.**, MD, PhD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of Department of Neonatology of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)
- Goncharova Irina V.**, Hematologist, Oncologist of Highest Qualification Grade, Head of the Oncology and Hematology Department of the Children's Regional Hospital of the Kaliningrad Region, Senior Head Specialist at the Ministry of Health of Kaliningrad region (Kaliningrad, Russia)
- Erega Elena P.**, Head of the Department of Pediatric Oncology and Hematology at "Children's Regional Clinical Hospital named after A.K. Piotrovich" (Khabarovsk, Russia)
- Kachanov Denis Yu.**, MD, PhD, Deputy Director of the Institute of Oncology, Radiology and Nuclear Medicine & Head of the Department of Clinical Oncology and Department of Embryonic Tumor Research at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)
- Litvinov Dmitry V.**, MD, PhD, Deputy Medical Director – Senior Physician of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)
- Maschan Alexey A.**, MD, PhD, Professor, Corresponding Members of the Russian Academy of Sciences, Deputy General Director of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, Director of the Institute of Children Hematology, Immunology and Cell Technologies at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)
- Maschan Mikhail A.**, MD, PhD, Deputy General Director of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, Director of School of Molecular and Experimental Medicine of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)
- Minkina Ludmila M.**, MD, PhD, Head of the Regional Children's Oncohematological Center of the "Regional Children's Clinical Hospital № 1" (Vladivostok, Russia)
- Myakova Natalya V.**, MD, PhD, Professor, Deputy Chief Medical Officer at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)
- Novichkova Galina A.**, MD, PhD, Professor, acting General Director at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)
- Rumyantsev Alexander G.**, MD, PhD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, President of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, Senior Head Specialist Children's Hematologist Ministry of Health of Russia, a member of the Union of Pediatricians, President of the National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists (Moscow, Russia)
- Rumyantsev Sergey A.**, MD, PhD, Professor, Corresponding Members of the Russian Academy of Sciences, Vice-Rector for Strategic Development of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Head of Translational and Regenerative Medicine Department of Moscow Institute of Physics and Technology (State University), (Moscow, Russia)
- Skorobogatova Elena V.**, MD, PhD, Head of Bone Marrow Transplantation Department at the Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)
- Tutelyan Alexey V.**, MD, PhD, Professor, Corresponding Members of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Infections Associated with Health Care, Central Research Institute of Epidemiology, Head of the Department of Molecular Immunology, Infectology and Pharmacotherapy, and the Laboratory of Molecular Imaging of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, Chairman of the problem commission "Nosocomial infections" of the Scientific Council of the Russian Academy of Sciences on epidemiology, infectious and parasitic diseases (Moscow, Russia)
- Fechina Larisa G.**, Honored Doctor of the Russian Federation, Deputy Chief Physician for Oncology and Hematology of Region Children's Clinical Hospital № 1, Head of the Interregional Center for Pediatric Oncology and Hematology (Yekaterinburg, Russia)
- Tseitlin Grigory Ya.**, MD, PhD, Professor, Head of the Department of Socio-Psychological Rehabilitation and Development of Correctional Educational Programs at TRSC "Russkoe Pole" at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)
- Shamardina Anastasia V.**, MD, PhD, Head of the Department of Hematology at Nizhny Novgorod Regional Children Clinical Hospital (Nizhny Novgorod, Russia)
- Sharapova Gouzel R.**, Head of the Children's Oncology Department "Nizhnevartovsk District Children's Clinical Hospital" (Nizhnevartovsk, Russia)
- Yudina Natalia B.**, MD, PhD, Head of the Department of Oncohematology of Chemical Therapy at Voronezh Regional Children Clinical Hospital № 1 (Voronezh, Russia)

FOREIGN EDITORS

- Willich Norman**, Professor, Munster University Clinic (Germany)
- Henze Gunter**, Professor, Clinic of Children Hematology and Oncology Charité (Berlin, Germany)
- Lipton Jeffrey**, Professor, Head of the Children Hematology and Oncology Service at North Shore University Clinic (USA)
- Nakagavara Akira**, Professor, Director of KOSEIKAN Center in the Saga, Honorary President of the Cancer Center of Chiba Prefecture, President of the Asian Branch of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP Asia) (Japan)
- Rodriguez-Galindo Carlos**, Executive Vice President of St. Jude Children's Research Hospital (Memphis, USA)

INVITRO

Пять причин работать с ИНВИТРО

- 1** 9 современных и уникальных лабораторных комплексов, оснащенных оборудованием от мировых лидеров
- 2** Мировой опыт в области лабораторной диагностики, более 1 700 лабораторных исследований
- 3** Доверие более 11 500 000 пациентов и 32 000 ведущих российских и зарубежных специалистов
- 4** Работа с 4000 государственными и частными медицинскими центрами и клиниками
- 5** Совместная работа в образовательных, научных и диссертационных проектах

8 (800) 200-363-0
www.invitro.ru



ОТ РЕДАКЦИИ

Резолюция IX Межрегионального совещания Национального общества детских гематологов и онкологов «Перспективы детской гематологии-онкологии: мультидисциплинарный подход – 2018. Совещание главных внештатных детских специалистов гематологов и онкологов субъектов Российской Федерации»	10
--	----

ИЗБРАННЫЕ ЛЕКЦИИ

<i>Ф.И. Атауллаханов, А.Г. Румянцев</i> Новые представления о свертывании крови	13
<i>Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская</i> Миелодиспластический синдром у детей	23

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>А. Агульник, К.И. Киргизов, Я.А. Янгутова, Г.М. Муфтахова, С.А. Коган, Г.И. Серик, Л. Робинсон, Т.Г. Серик, С.Р. Варфоломеева, К. Родригез-Галиндо, А.Г. Румянцев</i> Ситуационный анализ проблем и перспектив в области детской гематологии-онкологии на территории стран СНГ: опыт совместной рабочей группы	36
<i>С.Е. Новикова, О.В. Тихонова, Л.К. Курбатов, И.В. Вахрушев, В.Г. Згода</i> Модельные регуляторные сети для белков, активируемых и ингибируемых в процессе индуцированной гранулоцитарной дифференцировки	43
<i>А.А. Карнюшка, Т.Н. Субботина, Р.В. Шайхутдинова, М.В. Борисова, С.М. Лобанова, Т.Г. Кадричева, Н.А. Абель, Т.И. Булава, Е.А. Караваева, Е.А. Гусейнова, Л.М. Окладникова</i> Анализ полиморфизмов в гене <i>TRMT</i> у детей с острым лейкозом на территории Красноярского края	56
<i>Т.А. Андреева, В.Ю. Зоренко, И.Л. Давыдкин, В.Н. Константинова, О.Э. Залепухина, Н.И. Климова, А.В. Ким, Г.В. Мишин, А.В. Кречетова, И.В. Куртов, М.С. Шамина, О.А. Гусякова, М.В. Курапова, А.М. Шустер, Д.А. Кудлай</i> Эффективность и безопасность препарата Октофактор при профилактическом лечении у пациентов с тяжелой гемофилией А	60

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

<i>Е.М. Кольцова, А.Н. Баландина, Е.А. Серегина, А.В. Полетаев, Т.А. Вуймо, М.А. Пантелеев, Ф.И. Атауллаханов</i> Аспекты методологии лабораторных исследований гемостаза в детской гематологии-онкологии и общие подходы в патологии гемостаза при лейкозах	74
<i>Н.И. Зозуля, А.Г. Румянцев</i> Индивидуализированный подход к профилактической терапии пациентов с тяжелой гемофилией А	89

ВОПРОСЫ ПРАКТИЧЕСКОЙ ГЕМАТОЛОГИИ-ОНКОЛОГИИ

- Г.В. Байдакова, Т.А. Иванова, Е.Ю. Захарова, О.С. Кокорина*
Роль тандемной масс-спектрометрии в диагностике наследственных болезней обмена веществ 96
- Международная конференция специалистов, занимающихся изучением и лечением пациентов с нейробластомой, — взгляд Общественной организации родителей детей с нейробластомой. 106
- Метрономная терапия по схеме винорелбин/циклофосфамид значительно улучшает показатели общей выживаемости у пациентов с рабдомиосаркомой группы высокого риска, стратифицированных по протоколу RMS-2005 107

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

- М.Е. Лохматова, И.О. Тайшихина*
Трехростковая цитопения у ребенка с врожденной кавернозной трансформацией воротной вены 108

ТЕ, КТО СИЛЬНЕЕ НАС

- От редакции 115
- Поздние эффекты противоопухолевой терапии со стороны сердечно-сосудистой системы (отсроченное влияние противоопухолевой терапии на органы сердечно-сосудистой системы). 116

НАША ИСТОРИЯ

- Н.Е. Дунаева, З.Б. Мелентьева, Т.Л. Костюрина, В.А. Хабаров, М.В. Шипичева*
Организация помощи детям Вологодской области с гематологическими и онкологическими заболеваниями 123

НАШЕ СООБЩЕСТВО – ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ НОДГО

- IV Конгресс гематологов России 127
- Форум стран Латинской Америки под эгидой Международной лиги по борьбе с раком 127
- Встреча экспертов в области детской онкологии стран СНГ 127
- IX Межрегиональное совещание НОДГО 128
- Международная конференция специалистов, занимающихся изучением и лечением пациентов с нейробластомой 128
- Научно-образовательный семинар по программе «Дальние регионы» в Архангельске 129
- Научно-образовательный семинар по программе «Дальние регионы» в Элисте 131

НЕКРОЛОГ

- Памяти А.В. Шамардиной 132

FROM EDITION

Resolution of 9 th Interregional Meeting of the National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists “Prospects of pediatric hematology-oncology: multidisciplinary approach – 2018”. Meeting of the main non-staffed children’s specialists Hematologists and Oncologists of subjects of the Russian Federation	10
--	----

SELECTED LECTURES

<i>F.I. Ataulakhanov, A.G. Rumyantsev</i> New insights into the blood clotting	13
<i>B.V. Afanasyev, L.S. Zubarovskaya</i> Pediatric myelodysplastic syndrome	23

ORIGINAL STUDIES

<i>A. Agulnik, K.I. Kirgizov, Ya.A. Yangutova, G.M. Muftakhova, S.A. Kogan, G.I. Serik, L. Robinson, T.G. Serik, S.R. Varfolomeeva, C. Rodriguez-Galindo, A.G. Rumyantsev</i> Situation analysis of problems and prospects of the pediatric hematology-oncology in the CIS countries: the experience of a joint working group	36
<i>S.E. Novikova, O.V. Tikhonova, L.K. Kurbatov, I.V. Vakhrushev, V.G. Zgoda</i> Model regulatory networks for proteins that are activated and inhibited in the process of induced granulocyte differentiation.	43
<i>A.A. Karnyushka, T.N. Subbotina, R.V. Shaikhutdinova, M.V. Borisova, S.M. Lobanova, T.G. Kadrichева, N.A. Abel, T.I. Bulava, E.A. Karavaeva, E.A. Guseynova, L.M. Okladnikova</i> Analysis of polymorphisms in the <i>TPMT</i> gene in children with acute leukemia in the Krasnoyarsk Territory	56
<i>T.A. Andreeva, V.Yu. Zorenko, I.L. Davydkin, V.N. Konstantinova, O.E. Zalepukhina, N.I. Klimova, A.V. Kim, G.V. Mishin, A.V. Krechetova, I.V. Kurtov, M.S. Shamina, O.A. Gusyakova, M.V. Kurapova, A.M. Shuster, D.A. Kudlay</i> Efficacy and safety of the drug Octofactor in prophylactic treatment in patients with severe haemophilia A	60

LITERATURE REVIEWS

<i>E.M. Koltsova, A.N. Balandina, E.A. Seregina, A.V. Poletaev, T.A. Vuymo, M.A. Panteleev, F.I. Ataulakhanov</i> Aspects of the methodology of laboratory studies of hemostasis in pediatric hematology-oncology and general approaches in the pathology of hemostasis in leukemia	74
<i>N.I. Zozulya, A.G. Rumyantsev</i> Individualized approach to profilactic treatment in patients with severe hemophilia A	89

QUESTIONS OF PRACTICAL HEMATOLOGY/ONCOLOGY

<i>G.V. Baydakova, T.A. Ivanova, E.Yu. Zakharova, O.S. Kokorina</i> The role of tandem mass spectrometry in the diagnosis of inherited metabolic diseases	96
An International conference of experts involved in the study and treatment of patients with neuroblastoma – a view of the Public Organization of Parents of Children with Neuroblastoma	106
Metronomic therapy conducted through the vinorelbine/cyclophosphamide scheme significantly improves the overall survival in patients with rhabdomyosarcoma of the high-risk group stratified by the RMS-2005 protocol	107

CLINICAL CASES

<i>M.E. Lokhmatova, I.O. Taishikhina</i> Three-stage cytopenia in a child with congenital cavernous transformation of the portal vein	108
--	-----

THOSE WHO ARE STRONGER THAN US

From edition	115
Late effects of antitumor treatment from cardiovascular system (delayed influence of antitumor treatment on the organs of the cardiovascular system)	116

OUR HISTORY

<i>N.E. Dunaeva, Z.B. Melentjeva, T.L. Kostyurina, V.A. Khabarov, M.V. Shipicheva</i> Organizing assistance for children with hematological and oncological diseases of the Vologda region	123
---	-----

OUR COMMUNITY – ACTIVITIES OF THE NATIONAL SOCIETY OF PEDIATRIC HEMATOLOGISTS AND ONCOLOGISTS

4 th Congress of Hematology in Russia	127
Forum of Latin American countries under the auspices of the International League against Cancer	127
Meeting of Experts in the field of children’s oncology of CIS countries	127
9 th Interregional Meeting of the National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists	128
International conference of experts involved in the study and treatment of patients with neuroblastoma	128
Educational seminar on the program “Remote regions” in Arkhangelsk	129
Educational seminar on the program “Remote regions” in Elista	131

NECROLOGY

In memory of A.V. Shamardina	132
--	-----



Общие усилия во благо детей!

НАЦИОНАЛЬНОЕ ОБЩЕСТВО ДЕТСКИХ ГЕМАТОЛОГОВ И ОНКОЛОГОВ
(РОО НОДГО)

ОГРН: 1107799012837, ИНН: 7718001317, КПП: 771801001

Адрес для корреспонденции: ул. Саморы Машела, д. 1, Москва, ГСП-7, 117997

Телефоны: 8-964-584-62-41, 8-495-287-65-70 (доб. 2212)

Факс: 8-495-664-70-90 с пометкой «Для Национального общества»

Электронный адрес: info@nodgo.org

www.nodgo.org

Министру здравоохранения
Российской Федерации
Скворцовой В.И.

Резолюция IX Межрегионального совещания Национального общества детских гематологов и онкологов «Перспективы детской гематологии-онкологии: мультидисциплинарный подход – 2018. Совещание главных внештатных детских специалистов гематологов и онкологов субъектов Российской Федерации»

IX Межрегиональное совещание НОДГО «Перспективы детской гематологии-онкологии: мультидисциплинарный подход – 2018. Совещание главных внештатных детских специалистов гематологов и онкологов субъектов Российской Федерации» (далее – Совещание) состоялось в Санкт-Петербурге 26–28 апреля 2018 г. при поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации (далее – Минздрав России) и Национальной медицинской палаты (далее – Нацмедпалата).

В Совещании приняли участие 667 делегатов, в составе которых главные внештатные детские специалисты гематологи и онкологи из 76 регионов Российской Федерации (далее – РФ) и представители стран ближнего и дальнего зарубежья. Среди участников Совещания зарегистрированы 35 представителей общественных и родительских организаций, деятельность которых сосредоточена в области детской гематологии-онкологии.

В рамках 44 секций Совещания было заслушано 176 устных сообщений, представлено 57 постерных докладов, отражающих современные тенденции

в диагностике и лечении детских гематологических, онкологических и иммунологических заболеваний, организационные аспекты помощи детям с данными недугами, реабилитацию и психолого-социальное сопровождение. Впервые в рамках мероприятия была организована отдельная программа для специалистов, отвечающих в регионах РФ за лечение детей с иммунологическими заболеваниями.

К Совещанию были изданы: Сборник тезисов, включающий 140 работ, Каталог детских гематологических и онкологических центров России и стран ближнего зарубежья (9-е издание), «Российский журнал детской гематологии и онкологии» № 2 за 2018 г. и блокнот НОДГО.

27 апреля 2018 г. состоялось рабочее совещание главных внештатных детских специалистов гематологов и онкологов, в котором приняли участие директор департамента медицинской помощи детям и службы родовспоможения Минздрава России Е.Н. Байбарина и представитель ведущего мирового центра детской гематологии-онкологии (Детский исследовательский госпиталь Святого Иуды, США) К. Родригес-Галиндо.

В связи с передачей основных функций Национальному медицинскому исследовательскому центру детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева (далее – НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева) на Совещании обсуждались вопросы совершенствования медицинской помощи детям с гематологическими, онкологическими и иммунологическими заболеваниями (по профилям НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева), а именно: формирование под руководством Минздрава России единого паспорта Службы, создание и внедрение программы развития помощи детям с онкологическими заболеваниями до 2030 г., проработка вопроса перехода с 2019 г. на единую специальность «детский гематолог-онколог» (профессиональный и образовательные стандарты), обсуждение единых клинических рекомендаций (по разделам «детская гематология», «детская онкология» и «детская иммунология»), подготовленных и утвержденных под эгидой НОДГО, а также программы ранней диагностики указанных выше заболеваний. Участники Совещания констатировали, что детская гематология и онкология являются частью мультидисциплинарной педиатрии, а отделения, оказывающие помощь пациентам с данными заболеваниями, должны концентрироваться в системе детских многопрофильных стационаров. Отмечено, что в 2017 г. НОДГО успешно добились, поставленной на VIII Совещании цели, а именно – решения вопроса о введении единой специальности «детский гематолог-онколог» на базе первичной подготовки врача-педиатра.

На конец апреля 2018 г. членами НОДГО являются более 1200 человек из 82 регионов РФ. Члены Общества – врачи-гематологи, детские онкологи, иммунологи, детские хирурги, лучевые терапевты, лабораторные и лучевые диагносты, онкопсихологи. В своей деятельности НОДГО опирается на тесное взаимодействие с Минздравом России, Нацмедпалатой и рядом профессиональных сообществ по смежным специальностям. НОДГО реализует научные и образовательные программы, среди которых особое место занимают образовательные семинары «Дальние регионы». С 2008 г. проведено 88 мероприятий, семинары (как и Совещание) аккредитованы в системе НМО. Регулярно издаваемым печатным органом Общества является «Российский журнал детской гематологии и онкологии», который входит в список рекомендуемых изданий ВАК, имеет импакт-фактор более 0,4 и пользуется заслуженным доверием среди врачей. В рамках организационной деятельности совместно с Нацмедпалатой НОДГО выполняет подготовку профессионального стандарта врача-гематолога и рассматривает вопрос о передаче права на подготовку стандарта врача-детского гематолога-онколога.

Международная деятельность НОДГО осуществляется в тесной кооперации с Детским исследовательским госпиталем Святого Иуды (США), лидирующими международными организациями – Международным обществом детской онкологии (SIOP), Международной лигой по борьбе с раком (UICC) и др. Так, в октябре 2017 г. НОДГО провело сессию на Конгрессе SIOP – 2017 в Вашингтоне.

НОДГО активно сотрудничает с благотворительными и международными организациями. Одной из значимых программ Общества является кампания, посвященная Международному дню детей, больных раком (15 февраля). В 2018 г. была проведена пресс-конференция и запущен ролик, который был подготовлен совместно с проектом Добро@mail.ru.

В результате обсуждения вопросов развития службы детской гематологии-онкологии РФ на Совещании главных внештатных детских специалистов гематологов и онкологов были приняты следующие решения.

1. Рассматривать детскую гематологию-онкологию частью мультидисциплинарной педиатрии, принимая во внимание, что данные заболевания должны рассматриваться как дефекты иммунной защиты (совместная работа с врачами-иммунологами).

2. Продолжить организацию и проведение кооперированных многоцентровых исследований в области диагностики и лечения гематологических и онкологических заболеваний у детей под контролем НОДГО и НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева как национального Общества и Центра.

3. Рассмотреть вопрос о скорейшем решении проблемы, связанной с недоступностью (ограниченной доступностью) ряда терапевтических технологий:

- иммунотерапия (терапия антителами, включая анти-GD2-антитела);
- клеточные технологии (терапия CAR T-клетками, клеточными вакцинами);
- трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (завершить процесс формирования трансплантационных центров, планируемых к открытию в 2019 г.);
- радиоизотопная терапия (недоступность метайодбензилгуанидина в летние месяцы).

4. Принять во внимание важность совместной работы с родительскими, пациентскими и другими общественными организациями как базы для выстраивания взаимодействия для обеспечения ранней диагностики и повышения доверия.

5. Просить Минздрав России поддержать предлагаемые изменения в организации медицинской помощи детям с гематологическими и онкологическими заболеваниями:

- введение единой специальности «детская гематология-онкология» с изменением соответствующих

порядков оказания помощи, постдипломной подготовки кадров и других нормативных документов;

- продолжение работы по паспортизации и планированию развития Службы;

- завершение процесса формирования Службы оказания специализированной медицинской помощи в многопрофильных детских стационарах;

- совершенствование трансляционных и телекоммуникационных технологий в детской гематологии-онкологии;

- развитие стационарзамещающих технологий и диспансеризации;

- организация реабилитационного процесса для пациентов, излеченных от гематологических и онкологических заболеваний.

6. Рассмотреть переименование Совещания в «Конгресс детских гематологов-онкологов».

7. Провести X юбилейное Межрегиональное совещание (Конгресс) НОДГО – 2019 в г. Сочи по согласованию с правительством Краснодарского края.

Президент НОДГО,
академик РАН

Исполнительный директор НОДГО,
профессор

Ответственный секретарь НОДГО,
доцент



А.Г. Румянцев

С.Р. Варфоломеева

К.И. Киргизов

Новые представления о свертывании крови

Ф.И. Атауллаханов¹⁻³, А.Г. Румянцев^{1, 4}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1; ²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119992, Москва, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 2;

³ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук; Россия, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4; ⁴ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Контактные данные: Фазиол Иноятович Атауллаханов ataullakhanov.fazly@gmail.com

В последние годы идет активный пересмотр представлений о механизмах свертывания крови. Традиционные представления во многом оказались неточны, что является главной причиной несостоятельности традиционной коагулограммы. Набор общепринятых методов оценки состояния гемостаза оказался малочувствителен, особенно к гиперкоагуляционным нарушениям. В данной работе рассматриваются современные представления о том, как происходит свертывание крови. Из этого рассмотрения вытекает необходимость критического пересмотра существующих методов оценки состояния гемостаза и стандартной коагулограммы. Лекция заканчивается кратким рассмотрением того, какой набор методов представляется на сегодня наиболее информативным и мог бы лечь в основу новой коагулограммы.

Ключевые слова: гемостаз, тромбоз, кровотечение, свертывание, тромбин, остановка роста тромба, прокоагулянтный тромбоцит, гиперкоагуляция, новые представления о свертывании

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-13-22

New insights into the blood clotting

F.I. Ataullakhanov¹⁻³, A.G. Romyantsev^{1, 4}

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia; ²Lomonosov Moscow State University; 1, Bldg. 2 Leninskie Gory St., Moscow, 119992, Russia; ³Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow, Russian Federation;

⁴N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russia

In recent years, an active revision of ideas about the mechanisms of blood clotting has been performed. Traditional views were largely inaccurate, which is the main reason for the inconsistency of the modern standard set of coagulation tests. This set was found to be insensitive, especially to hypercoagulable disorders. In this paper, we consider modern concepts of how blood clotting occurs. From this consideration follows the need for a critical review of existing methods for assessing the status of hemostasis and a standard set of laboratory tests. The lecture ends with a brief examination of which methods are the most informative today and could form the basis of a new informative coagulation testing set.

Key words: hemostasis, thrombosis, bleeding, clotting, thrombin, stopping of thrombus growth, procoagulant platelet, hypercoagulation, new insights into clotting

Введение

Нарушения системы кровообращения являются причиной около 60 % летальных исходов при самых различных патологиях и травмах (таблица). Более половины этих нарушений занимают тромбозы и массивные кровотечения. Таким образом, нарушения в системе гемостаза сопряжены с наиболее высокой летальностью. К сожалению, с годами не наблюдается изменений статистики, и это никак не связано с особенностями российского здравоохранения, поскольку похожие цифры отмечаются и в других развитых странах. Не в последнюю очередь такая высокая ле-

тальность вследствие тромбозов/кровотечений связана с серьезными пробелами в понимании механизмов работы системы свертывания. В последние годы наблюдается большой прогресс в исследовании этих механизмов. Это ведет к значительному пересмотру базовых представлений о том, как происходит формирование тромбов и остановка кровотечения. В данной лекции мы рассмотрим, как изменились и какими стали представления о свертывании крови.

Гемостаз — это механизм защиты нашей кровеносной системы от повреждений. Эта система не зря называется сердечно-сосудистой. Это действительно

Показатели смертности населения России по основным классам причин смерти (данные Федеральной службы государственной статистики)
Death rates of the Russian population by main classes of causes of death (data of the Federal State Statistics Service)

Показатель Parameter	Доля в общем числе умерших, % Share in total number of deceased, %				
	1995 г.	2000 г.	2005 г.	2007 г.	2013 г.
Всего умерших Total deaths	100	100	100	100	100
В том числе от: Including:					
болезней системы кровообращения diseases of the circulatory system	52,8	55,3	56,4	57,0	57,0
новообразований neoplasms	13,6	13,4	12,5	13,9	16,1
внешних причин смерти external causes of death	15,8	14,3	13,7	12,5	9,3
болезней органов дыхания respiratory diseases	4,9	4,6	4,1	3,7	4,1
болезней органов пищеварения diseases of the digestive system	3,1	2,9	4,1	4,2	5,0
некоторых инфекционных и паразитарных болезней some infectious and parasitic diseases	1,4	1,6	1,7	1,7	1,7
прочих болезней other diseases	8,4	7,9	7,5	7,0	6,8

сложный сосуд, заполненный довольно быстро текущей жидкостью, к тому же находящейся под давлением. Даже небольшое отверстие в таком сосуде могло бы стать причиной вытекания большей ее части, и, как следствие, причиной неизбежной смерти, если бы не было системы быстрого «ремонта» повреждений. Таким «ремонтом» повреждений сосудов занимается система гемостаза. В ответ на повреждение она быстро производит пробку, которая временно закрывает поврежденное место. Физиологическая задача, стоящая перед этой системой, имеет особенность, которая и делает свертывание слабым звеном в системе жизнеобеспечения нашего организма, и приводит к таким фантастическим цифрам смертности. Эта особенность – балансирование между жидким и твердым состоянием. Кровь – жидкость, которая может быстро свернуться, т. е. перейти в твердое, точнее, гелеобразное состояние. Этот переход должен происходить контролируемо и локально, чтобы ограничиться перекрытием зоны повреждения и не затронуть текучесть остального объема крови. Избыточная склонность к свертыванию – гиперкоагуляция – чревата тромбозами, недостаточная – гипокоагуляция – возникновением неконтролируемых повторяющихся кровотечений, т. е. кровоточивостью. Похоже, что такую систему, которая должна балансировать между противоположными состояниями, поддерживать в оптимальном состоянии намного сложнее, чем другие физиологические системы организма.

Сложность регуляции, видимо, лежит в основе и другой трудности, с которой сталкивается лечащий врач, имеющий дело с нарушениями гемостаза. Тесты, составляющие сегодня во всем мире основу коагулограммы, малочувствительны и зачастую не помогают врачу выявить нарушения в системе свертывания. Многие из этих тестов были разработаны более 100 лет назад. Они основаны на идее измерения времени свертывания всего исследуемого объема крови в ответ на добавление различных активаторов. Эти тесты до сих пор оставались и остаются на вооружении клиницистов потому, что прогресс в понимании механизмов свертывания был крайне медленным. Только появление новых методов исследования в последние годы привело к значительному прорыву в этой области. Стало ясно, что в прежних представлениях было неправильно и почему старые методы настолько малочувствительны. Одной из главных причин такого состояния дел было непонимание того, что в процессе свертывания крови очень важны пространственные аспекты. В организме сгусток крови формируется только в области повреждения стенки сосуда и занимает небольшой объем, тогда как в традиционных тестах гемостаза сворачивается весь объем крови либо плазмы.

Низкая чувствительность коагулограммы к нарушениям гемостаза, особенно к проявлениям разных вариантов гиперкоагуляции, привела к тому, что врачи не придают лабораторным тестам большого

значения и мало ориентируются на результаты коагулограммы в диагностике и лечении, больше полагаясь на клинические показатели и шкалы риска. Это, в свою очередь, ведет к тому, что в современных образовательных программах медицинских вузов гемостазу уделяется очень мало внимания. Плохая профессиональная подготовка врача в этом вопросе замыкает «порочный круг», усугубляя плохую диагностику и лечение нарушений гемостаза. Результатом оказывается высокая смертность. Ситуацию усложняет междисциплинарность: нарушения свертывания — это проблема врача какой специальности? Гематолога? Кардиолога? Флеболога? Невролога? Получается, что у семи нянек дитя без глаза.

Долгие годы биологам не удавалось исследовать процессы свертывания крови в условиях, близких к физиологическим. И только в последние годы появились гораздо более информативные методы, в первую очередь позволяющие регистрировать рост тромба в пространстве *in vivo* без инвазивного вмешательства. Это повлекло за собой значительный пересмотр устаревших представлений.

Как устроена система гемостаза?

Все необходимое для того, чтобы кровь быстро перешла из жидкого в твердое состояние в месте повреждения содержится в самой кровеносной системе. В формировании тромба ключевую роль играют 3 компонента.

1. Тромбоциты, которые активируются при контакте с коллагеном и образуют тромбоцитарный агрегат, закрывающий место повреждения (рис. 1).

2. Каскад плазменных реакций свертывания — сложная биохимическая система белков, растворенных в плазме крови. Схема, представленная на рис. 2, показывает основных участников процесса и взаимодействия между ними. Основная задача этой системы — быстрая конверсия фибриногена в фибрин. Полимеризация фибрина приводит к образованию геля фибрина, который затем довольно быстро превращается в твердое тело. Схема на рис. 2 не дает исчерпывающей информации. Она отражает только основные реакции, ведущие к полимеризации фибрина.

3. Эндотелий сосудов (рис. 3). Повреждение эндотелия приводит к контакту крови с активаторами свертывания. Это определяет, где и когда начнут формироваться тромбы.

Рассмотрим тромбоциты и плазменное звено несколько более подробно.

1. Тромбоциты представляют собой маленькие клетки, 2–4 мкм диаметром, циркулирующие в кровотоке в концентрации 200–400 тыс. на мкл. Тромбоциты во многих отношениях устроены просто: у них нет ядра, нет или практически нет синтеза бел-



Рис. 1. Тромбоциты. Слева — покоящиеся тромбоциты — безядерные клетки, имеющие форму небольших плоских дисков. Справа — активированные тромбоциты — амёбоциты с сильно развитой структурой длинных выростов, имеющие сильно выраженную склонность агрегировать, т. е. слипаться друг с другом. Воспроизведено из [1]

Fig. 1. Platelets. Left — resting platelets — denucleated cells that have the form of small flat discs. To the right — activated platelets — amoebocytes with a highly developed structure of long outgrowths, with a strong tendency to aggregate, that is, stick together. Reproduced from [1]

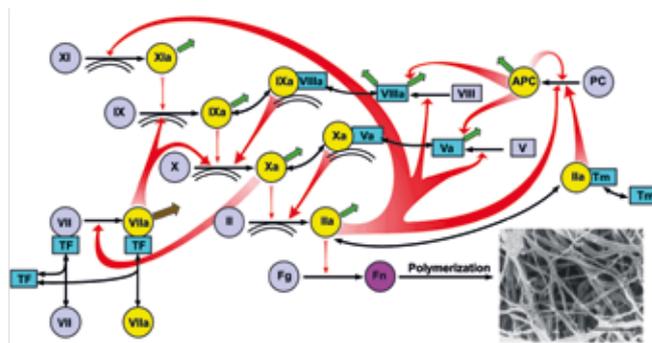


Рис. 2. Сеть реакций плазменного звена свертывания крови. Воспроизведено из [2]. Большинство белков системы свертывания крови являются избирательными протеазами — они изображены кружками, или их кофакторами — изображены прямоугольниками. Активные формы факторов и кофакторов обычно обозначаются римскими цифрами (показаны цветом): факторы — желтым, кофакторы — голубым. Серым окрашены неактивные предшественники. В активной форме к цифре добавляется индекс «а». Некоторые факторы проводят избирательный протеолиз своих субстратов, превращая предшественников в активные ферменты — показано стрелками. Например, фактор IIa — тромбин (некоторые факторы имеют собственные названия наряду с номером), превращает фибриноген в фибрин, который затем спонтанно и быстро полимеризуется. Многие реакции протекают на отрицательно заряженных фосфолипидных поверхностях (показано двойной дугой под реакцией). Кофакторы соединяются на этих поверхностях со своими факторами, что ускоряет на многие порядки реакции с участием соответствующих факторов. Некоторые факторы, такие как тромбин, имеют несколько субстратов, ускоряя разные реакции

Fig. 2. The network of reactions of the plasma link of blood coagulation. Reproduced from [2]. Most proteins of the blood clotting system are selective proteases — they are represented by circles, or their cofactors — are represented by rectangles. Active forms of factors and cofactors are usually indicated by Roman numerals (shown in color): factors — yellow, cofactors — blue. Gray colored inactive predecessors. In the active form, the index “a” is added to the figure. Some factors perform selective proteolysis of their substrates, transforming the precursors into active enzymes — shown by arrows. For example, factor IIa — thrombin (some factors have their own names along with the number), converts fibrinogen into fibrin, which then spontaneously and rapidly polymerizes. Many reactions take place on negatively charged phospholipids surfaces (shown by a double arc under the reaction). Cofactors combine on these surfaces with their own factors, which accelerates the reactions to many orders of magnitude with the participation of the relevant factors. Some factors, like thrombin, have several substrates, speeding up different reactions



Рис. 3. Гемостаз. Схематично показано, что внутренняя поверхность сосуда выстлана эндотелиальными клетками. В месте повреждения эндотелия возникает тромб – агрегат тромбоцитов, пронизанный сетью нитей фибрина. Агрегат включает в себя и другие клетки крови, в первую очередь эритроциты, которые пассивно попали в фибриновую сеть. Воспроизведено с электронного ресурса: <https://www.msmanuals.com/home/blood-disorders/blood-clotting-process/how-blood-clots#v774965>

Fig. 3. Hemostasis. Schematically it is shown that the inner surface of the vessel is lined with endothelial cells. At the site of damage to the endothelium, there is a thrombus – a platelet aggregate, penetrated by a network of fibrin filaments. The unit includes other blood cells, primarily red blood cells, which passively entered the fibrin network. Reproduced from the electronic resource: <https://www.msmanuals.com/home/blood-disorders/blood-clotting-process/how-blood-clots#v774965>

ка, они не могут расти или делиться. Задача тромбоцита – приклеиться к месту повреждения. Для выполнения своей функции они должны активироваться в процессе, который управляется десятком активаторов, действующих через многочисленные рецепторы. Сеть сигнальных путей в тромбоците, управляющих его ответом, является сложной и плохо изученной. Сам по себе ответ тромбоцита представляет собой не простое «приклеивание», а включает множество функций, начиная от первичной адгезии и заканчивая везикуляцией. В исходном, неактивированном виде тромбоциты напоминают двояковыпуклые «тарелочки» (см. рис. 1, слева). При активации форма тромбоцита меняется, становясь в большинстве случаев амебовидной (см. рис. 1, справа). Цитоплазма клетки содержит многочисленные гранулы, главными из которых являются плотные гранулы, содержащие преимущественно низкомолекулярные вещества, такие как серотонин и адезиндифосфат, и альфа-гранулы, содержащие белки, важные для свертывания крови, такие как фибриноген, фактор свертывания V, фактор фон Виллебранда и многие другие. Содержимое этих гранул секретируется при активации. Способность к активации – быстро и в большинстве случаев необратимому переходу в некое новое состояние – является главным качеством тромбоцита. Основными физиологическими активаторами тромбоцитов являются коллаген – главный белок внеклеточного матрикса (рис. 4а) и тромбин – сериновая протеиназа, центральный фермент плазменной системы свертывания (рис. 4б) [3].

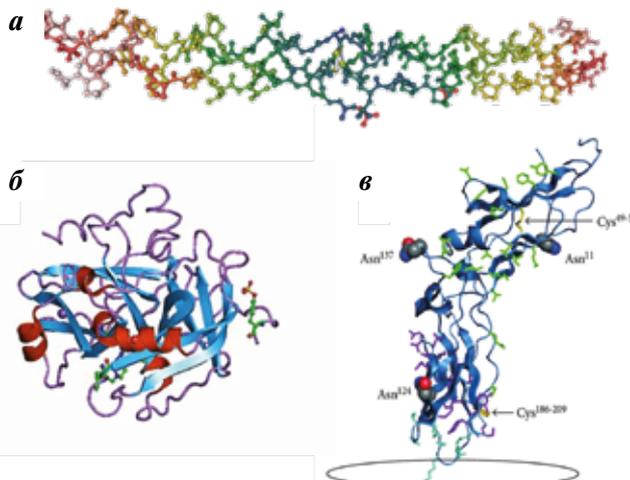


Рис. 4. Активаторы свертывания крови: а – коллаген, основной белок внеклеточного матрикса тканей; б – тромбин, один из главных активаторов тромбоцитов и основной фермент каскада реакций свертывания; в – тканевой фактор, интегральный белок мембран большинства клеток человеческого организма, не контактирующих с кровью. Мембрана клетки, в которую встроены тканевой фактор, условно показана внизу овалом. Все молекулы даны не в масштабе. Воспроизведено из [4]

Fig. 4. Activators of blood coagulation: а – collagen, the main protein of the extracellular matrix of tissues; б – thrombin, one of the main activators of platelets and the main enzyme of the cascade of clotting reactions; в – tissue factor, integral membrane protein of the majority of cells of the human body, not in contact with blood. The cell membrane, in which the tissue factor is embedded, is conditionally shown below in an oval. All molecules are not given to scale. Reproduced from [4]

Действие каждого из тромбоцитарных активаторов опосредуется через специализированные рецепторы в мембране тромбоцита. Стимуляция любого из рецепторов ведет к активации сложной сети каскадов внутриклеточной сигнализации, которые управляют ответом клетки; причем разные рецепторы в целом запускают разные пути. Активация тромбоцитов внешне проявляется многочисленными внутренними перестройками и изменениями свойств, основными среди которых считаются: а) изменение формы; б) усиление способности к прикреплению к месту повреждения; 3) появление способности к агрегации с другими тромбоцитами; 4) секреция многочисленных веществ из плотных гранул, альфа-гранул и других источников; экспонирование прокоагулянтной мембраны. Вообще говоря, активированное состояние тромбоцита может быть разным: активация тромбоцитов имеет несколько степеней, и экспрессия прокоагулянтной поверхности является одной из высших. Не все эти свойства нужны тромбоциту для формирования агрегата. Часть этих свойств используется для ускорения реакций свертывания крови. Так, экспонирование прокоагулянтной мембраны и секреция альфа-гранул необходимы для осуществления именно второй функции тромбоцитов. Только тромбин или коллаген могут вызывать такой сильный ответ [5, 6].

2. Плазменное звено. Главная биохимическая реакция этой системы – превращение фибриногена в фибрин. Фибриноген – это довольно большой фибриллярный белок плазмы крови с массой 340 тыс. дальтон (рис. 5). Это один из самых массовых белков плазмы. Его концентрация в крови составляет 5 г/л. При активации от фибриногена ферментативно отщепляются 2 небольших пептида.

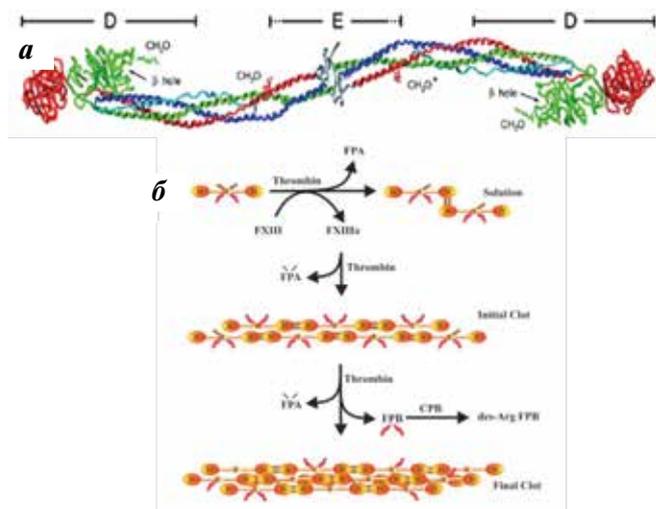


Рис. 5. Фибриноген, белок плазмы, предшественник фибрина, полимер которого вызывает свертывание крови – а; схема полимеризации фибрина – б. Фибрин образуется из фибриногена при отщеплении тромбином 2 небольших полипептидов от домена E. В результате этого открывается сайт связывания, который стабилизирует связь 2 доменов D. Этот процесс может продолжаться, приводя к образованию 2, 3 нитевых фибрилл и более. Воспроизведено из [4]

Fig. 5. Fibrinogen, a plasma protein, a precursor of fibrin, whose polymer causes coagulation – а; polymerization scheme for fibrin – б. Fibrin is formed from fibrinogen when thrombin is cleaved by 2 small polypeptides from domain E. As a result, a binding site is opened that stabilizes the bonding of the 2 domains D. This process can continue, resulting in the formation of 2, 3 or more filament fibrils. Reproduced from [4]

Фибриноген превращается в фибрин, который быстро полимеризуется, образуя длинные фибриллы, способные ветвиться. При активации фибриногена концентрация этих фибрилл быстро возрастает, что приводит к образованию сгустка – «переплетенная» фибрином кровь со всеми клетками и белками превращается в гель и течение крови останавливается. Довольно быстро вслед за этим в геле образуются поперечные шивки, которые превращают его в твердую массу, непроницаемую для жидкости. Активация фибриногена осуществляется ферментом тромбином (см. рис. 4б). Для того чтобы переход в твердое состояние не происходил без необходимости и в любом месте, обычно тромбин в крови отсутствует и появляется только при контакте крови с тканевым фактором. Появляется тромбин, в свою очередь, из неактивного предшественника – протромбина, который, как и фибриноген, является важным компонентом плазмы крови.

Активация тромбина тоже происходит ферментативно, с помощью фактора Ха (см. рис. 2). То же самое относится к фактору X. Его активация вызывается комплексом белков – фактор свертывания VIIa и тканевой фактор. Фактор VIIa присутствует в крови в небольших количествах, а тканевого фактора нет вообще [7]. Это решает проблему поддержания плазмы крови в жидком состоянии. Все необходимые факторы присутствуют в крови постоянно, но в неактивной форме. В начале этой цепочки активаций стоит тканевой фактор, который повсеместно готов активировать свертывание, однако ему это не позволяют сделать клетки эндотелия. Как видно на рис. 2, процесс образования фибрина не сводится только к перечисленным реакциям. Во-первых, многие ключевые реакции свертывания являются мембранно-зависимыми, ускоряясь на многие порядки в присутствии отрицательно заряженных фосфолипидных мембран, с которыми белки свертывания связываются посредством так называемых кальциевых мостиков. На рис. 2 это условно показано в виде двойных дуг под стрелками, изображающими мембранно-зависимые реакции. Во-вторых, на этом же рисунке мы видим большое количество других реакций, вместе с рассмотренными образующими сложную метаболическую сеть. Эта сеть пронизана большим количеством обратных связей, положительных и отрицательных, которые резко усложняют как поведение этой системы в разных ситуациях, так и понимание механизмов ее работы [2].

3. Вся сердечно-сосудистая система изнутри покрыта одним сплошным слоем особых клеток – эндотелиоцитов. Это особый слой, который изолирует все ткани и органы нашего организма от прямого контакта с кровью. Все клетки, находящиеся за этим барьером, несут на своей поверхности тканевой фактор – белок, активирующий плазменное свертывание. Кроме того, все межклеточное пространство содержит большой процент другого активатора – коллагена. Эти 2 белка и являются теми сигналами, которые запускают свертывание. Как только где-нибудь нарушается целостность эндотелия, в этом месте кровь приходит в контакт с этими веществами, обычно с обоими сразу. Активация происходит в ответ на любое повреждение: порез, любое разрушение сосудистой стенки, гибель клеток эндотелия в результате воспаления, образование атеросклеротической бляшки. Это запускает все компоненты свертывающей системы и в результате в месте повреждения образуется тромб, или гемостатическая пробка. Образующаяся структура является временной. Впоследствии она заменится нормальными клетками сосудистой стенки – новыми эндотелиоцитами, предшественники которых циркулируют в крови, поступая туда из костного мозга. Однако процесс регенерации стенки занимает несколько дней. Это слишком долго: за это время организм может погибнуть в результате

потери крови. Временная затычка – тромб – формируется на считанные минуты. Тромб должен образоваться непременно в месте повреждения и быть прочно с ним связанным. Иначе тромб может оторваться и закупорить нормальный сосуд в каком-нибудь важном органе, что нарушит кровоснабжение и приведет к гибели нормальных клеток, вызвав инсульт, инфаркт и т. д.

4. Взаимодействие тромбоцитов и плазменного звена. Тромбоцитарное и плазменное звенья сильно и многообразно связаны друг с другом в процессе свертывания. Так, главный фактор плазменного звена – тромбин – является одним из главных активаторов тромбоцитов. В свою очередь, тромбоциты участвуют в формировании отрицательно заряженных мембран. В нормальном состоянии мембрана тромбоцитов не поддерживает реакций свертывания. Отрицательно заряженные фосфолипиды, в первую очередь фосфатидилсерин, сосредоточены на внутреннем слое мембраны, а фосфатидилхолин внешнего слоя связывает факторы свертывания гораздо хуже. Но состав активированных тромбоцитов неоднороден. Есть небольшая по численности субпопуляция так называемых укутанных тромбоцитов, поверхность мембраны которых сильно обогащена фосфатидилсерином. Реакции плазменных факторов свертывания резко ускоряются на этих мембранах [8].

Все перечисленные участники процесса и реакции между ними известны очень давно. Например, за последние 20 лет ни один фактор не был добавлен к схеме каскада свертывания. Общие представления, сформированные на основе этих данных, тоже сложились давно. Вкратце эти представления можно свести к нескольким утверждениям.

1. В зоне повреждения сначала образуется тромбоцитарный сгусток: тромбоциты активируются и слипаются.

2. Фибрин образуется значительно позже в уже готовом тромбе и укрепляет его.

3. Процессы активации тромбоцитов и реакции плазменного звена, будучи запущенными, способны вызывать активацию новых и новых объемов крови, распространяясь в результате диффузии и кровотока. При этом оставалось непонятным, как этот процесс прерывается, вследствие чего рост сгустка останавливается.

Однако не существует прямых доказательств того, что процесс происходит именно так. Это связано в основном с тем, что прямые методы регистрации процессов, происходящих при росте сгустка в организме, были созданы только в последние десятилетия. В основном прогресс последних лет был обусловлен тем, что исследователи научились метить компоненты свертывающей системы флуоресцентными метками, и были созданы микроскопы, позволяющие наблю-

дать эти флуоресцентно меченые вещества, не нарушая стенку сосуда. Новые исследования показали, что сложившиеся представления во многом нужно подвергнуть критическому пересмотру.

Новые представления о свертывании крови

1. Первые стадии свертывания крови. Роль неактивированных тромбоцитов. Первым шокирующим фактом оказалось то, что процесс начинается вовсе не с активации тромбоцитов. Активация тромбоцита занимает около одной секунды, что, казалось бы, очень быстро. Но поток крови даже в самых маленьких артериолах успевает за секунду унести тромбоциты и факторы их активации на многие миллиметры дальше места повреждения. В этом случае активированные тромбоциты могли бы создать тромб только значительно ниже по течению от места активации. Стало ясно, что к месту повреждения прилипают тромбоциты в неактивированном состоянии. Почему же они не слипаются сами с собой? Похоже, что слипаются, но этот процесс быстро обратим. Обратимое прилипание неактивных тромбоцитов в месте повреждения дает время для активации, а это уже делает процесс связывания необратимым. Большую роль в торможении тромбоцитов играет фактор фон Виллебранда – большой белок, имеющий множество центров связывания для тромбоцитов, который имеет сложную структуру. Он компактно сложен, когда его несет потоком, его центры связывания закрыты. Однако, когда он зацепляется в зоне повреждения, его разворачивает потоком, что делает центры связывания доступными для тромбоцитов.

Обратимость первых стадий связывания тромбоцитов приводит к тому, что формируется слой неактивированных тромбоцитов, который может легко рассыпаться, если активации не произойдет [9]. И это так и происходит, если одновременно со связыванием не образовывается тромбин, который, собственно, и вызывает сильную активацию и необратимое слипание тромбоцитов. Это было показано в красивых опытах группы С. Брасса из университета Пенсильвании *in vivo* в сосудах мышей, которым заранее был введен гирудин – ингибитор образования тромбина [10]. На серии фотографий (рис. 6) хорошо видно, как в зоне повреждения начинает образовываться первичный агрегат тромбоцитов.

Сначала процесс идет примерно одинаково и у контрольных, и у опытных мышей. Однако спустя небольшое время у опытных мышей сгусток рассыпается и тромб не образуется. Интересно то, что и у контрольных мышей сначала образуется довольно большой агрегат, поверхностная часть которого, оболочка, потом рассыпается, оставляя ядро – необратимо склеенный агрегат тромбоцитов и других клеток, пронизанный полимерным фибрином.

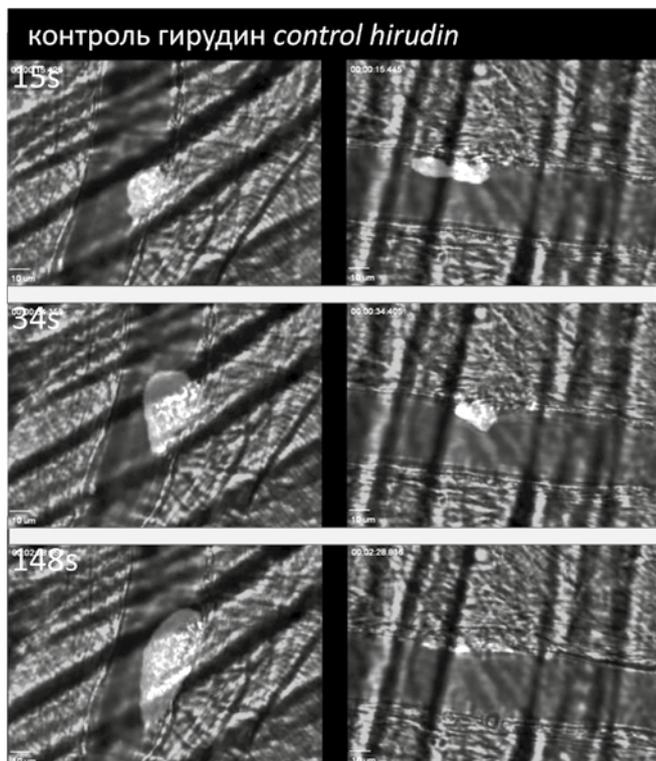


Рис. 6. Динамика роста тромба в артериоле мыши *in vivo* при повреждении стенки сосуда лазером. Тромб окрашен флуоресцентно мечеными антителами к CD41 и виден как светлое овальное пятно. Опытным мышам (правая колонка) перед опытом в кровь был введен гирудин – ингибитор плазменного звена свертывания. Воспроизведено из [10]

Fig. 6. The growth of thrombus in the arteriole of the mouse *in vivo* with damage to the vessel wall by a laser. The thrombus is stained with fluorescently labeled antibodies to CD41 and is seen as a light oval spot. Experimental mice (right column) before the experiment in the blood were injected hirudin – an inhibitor of the plasma coagulation unit. Reproduced from [10]

2. Рост фибринового сгустка и распространение тромбина. Вторая группа фактов, изменившая наши представления о свертывании, связана с открытием закономерностей роста тромба. Оказалось, что будучи активированным, процесс свертывания становится автономным. В крови присутствуют все факторы, необходимые для роста тромба, т. е. присоединения все новых слоев тромбоцитов и распространения тромбина и фибрина вглубь кровотока. Для начала процесса нужен был тканевой фактор, который присутствует в зоне повреждения. Реакции в пристеночной области вызывают образование активных форм факторов. Они могут диффундировать вглубь кровотока. Появления тромбина в наномолярных количествах в какой-то области кровотока достаточно, чтобы резко активировать факторы XI, IX, VIII. А они продолжают каскад реакций, ведущих опять к тромбину (реакции внутреннего пути свертывания). Начинается самоподдерживающееся производство тромбина и его диффузия вглубь сосуда. Возникает лавинообразное нарастание производства тромбина [11]. Это означает, что рост тромба очень похож на распространение

нервного импульса или горение пороха: будучи запущен в одном месте процесс распространяется в пространстве в виде незатухающей волны. Такие волны принято называть автоволнами. Факт распространения тромбина и фибрина в виде автоволны был впервые обнаружен в нашей группе 20 лет назад. На рис. 7 показано распространение тромбина в плазме после активации контакта с поверхностью, покрытой тканевым фактором разной плотности. Хорошо видно, что вблизи области активации количество образующегося тромбина сильно зависит от тканевого фактора. Но по мере удаления волны тромбина от активатора амплитуда этой волны становится постоянной и не зависит от времени и плотности тканевого фактора.

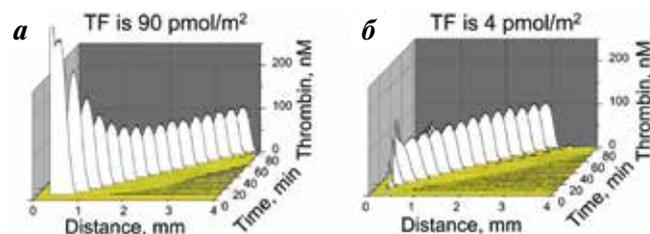


Рис. 7. Распространение тромбина в плазме при активации свертывания тканевым фактором, иммобилизованным на левой стенке камеры, заполненной плазмой, с 4 мкМ фосфолипидов. По оси X – расстояние от стенки, покрытой тканевым фактором до точки измерения. По оси Y – время от момента контакта тканевого фактора с плазмой. Плотность тканевого фактора на стенке: а – 90 нМ/м²; б – 4 нМ/м². Воспроизведено из [12]

Fig. 7. Distribution of thrombin in plasma with activation of clotting by a tissue factor immobilized on the left side of a chamber filled with plasma, with 4 μM phospholipids. The X-axis is the distance from the wall covered by the fabric factor to the measurement point. The Y-axis is the time from the moment of contact of the tissue factor to the plasma. The density of the tissue factor on the wall: a – 90 pM/m²; б – 4 pM/m². Reproduced from [12]

Сеть реакций свертывания сама поддерживает образование новых порций тромбина и его дальнейшее распространение. Это открытие привело к пониманию того, зачем в плазменной системе свертывания имеется так много реакций, в том числе большое количество реакций, прямо не вовлеченных в путь от главного сигнала активации – тканевого фактора, к тромбину и фибрину (см. рис. 2). Факторы, вовлеченные в эти петли положительной обратной связи не только нарастают во времени в том месте, где был контакт с тканевым фактором [13]. Они распространяются вглубь кровотока или агрегата неактивированных тромбоцитов. Там они активируют тромбоциты, что ведет к их необратимому связыванию. Эти исследования объяснили, какую роль играют те или иные реакции в схеме свертывания, и позволили понять, что разные части этой биохимической сети образуют отдельные метаболические блоки, выполняющие разные физиологические задачи в процессе активации и роста тромба. На рис. 8 эти блоки выделены разными цветами. Как только разные части этой сложной

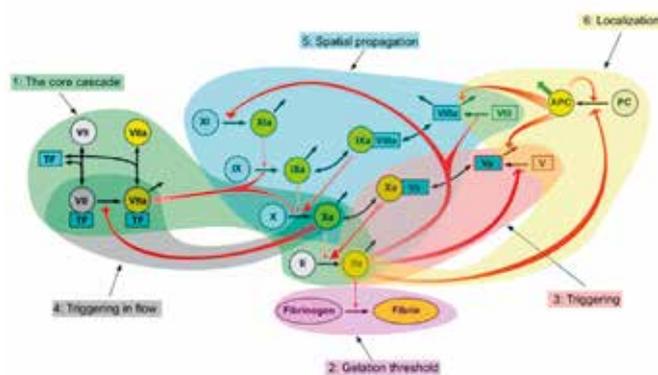


Рис. 8. Блоки реакций системы свертывания, выполняющие разные физиологические функции в процессе образования фибринового сгустка, выделены цветом. Воспроизведено из [14]

Fig. 8. Blocks of reactions of the clotting system that perform different physiological functions during the formation of the fibrin clot are highlighted in color. Reproduced from [14]

сети биохимических реакций распались на логичные физиологические блоки, немедленно разрешились многие парадоксы свертывания [14].

В частности, разрешился парадокс гемофилий. Очень давно известно, что все 3 типа гемофилий – А, В и С обусловлены генетическими дефектами факторов VIII, IX и XI соответственно. Все эти 3 фактора не участвуют в едином метаболическом пути от тканевого фактора к тромбину. Почему же тогда у людей с дефектами этих факторов наблюдаются кровотечения? Сейчас уже ясно, что у них активация свертывания проходит вполне нормально. Но последующий рост тромба сильно заторможен, поскольку эти факторы являются основой блока реакций, ответственных за распространение тромбина и рост тромба. Гемофилии оказались болезнями роста тромба [15, 16]. Стало также очевидным, как связаны между собой 2 главных звена свертывания – тромбоциты и плазменные реакции [17].

3. Остановка роста тромба. Понимание того, что растущий тромб поддерживает свой рост за счет того, что уже заранее присутствует в крови, без привлечения внешних факторов, обозначил новую важную проблему в понимании закономерностей свертывания. Остро встал вопрос о том, как происходит остановка этого роста. Что прерывает этот автоволновой процесс до того, как волна достигнет границ сосуда? Почему не происходит окклюзия сосудов всегда и везде? Почему, в конце концов, вся кровь не превращается в один сплошной тромб? Ответ на этот вопрос оказался самым трудным. Только недавно в результате работы ряда ведущих лабораторий мира начала формироваться правдоподобная картина этой стадии процесса. По-видимому, в этом процессе ключевую роль играет одна из субпопуляций тромбоцитов. В ходе активации тромбоцитов можно наблюдать возникновение 2 очень разных субпопуляций тромбоцитов [18].

Одна, достаточно большая, состоит из хорошо известных амёбовидных клеток (см. рис. 1б), которые отлично агрегируют, прочно и необратимо связываясь друг с другом. Вторая субпопуляция – это субпопуляция укутанных тромбоцитов (рис. 9) [19].

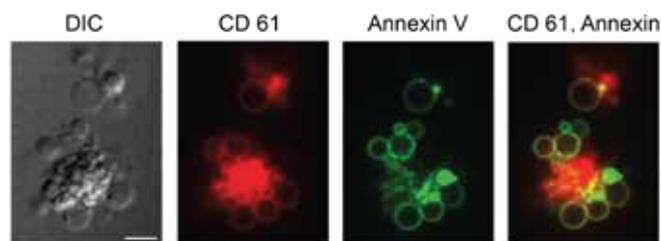


Рис. 9. Проккоагулянтные (укутанные) тромбоциты в процессе образования тромба в проточной камере. Красным помечена основная субпопуляция активированных тромбоцитов (окраска антителами на CD61). Зеленый – окраска аннексином, флуоресцентным белком, связывающимся с фосфатидилсерин. Фосфатидилсерин обнаруживается только на некоторых клетках, которые сильно отличаются от обычных активированных и неактивированных тромбоцитов. Это так называемые укутанные тромбоциты – клетки сферической формы, с гомогенной цитоплазмой, потерявшие все гранулы. Воспроизведено из [19]

Fig. 9. Procoagulant (wrapped) platelets in the process of formation of thrombus in the flow chamber. Red marked the main subpopulation of activated platelets (coloring with antibodies on CD61). Green is the color of annexin, a fluorescent protein that binds to phosphatidylserine. Phosphatidylserine is found only on some cells, which are very different from the usual activated and non-activated platelets. These are so-called wrapped platelets – cells of a spherical shape, with a homogeneous cytoplasm, which have lost all granules. Reproduced from [19]

Это раздутые в шар клетки, которые собрали в одну небольшую область на мембране большинство своих рецепторов и интегринов. Последние результаты по исследованию этих клеток указывают на то, что после активации эти тромбоциты переходят в терминальное состояние. Клетки перестают производить энергию, которая, в частности, нужна для поддержания ассиметричного распределения липидов в мембране. В терминальном состоянии в тромбоцитах активируется фермент скрамблаза, который быстро перебрасывает отрицательно заряженные фосфолипиды из одного слоя в другой, выравнивая их концентрации с обеих сторон мембраны. Благодаря фосфатидилсерину на поверхности этих тромбоцитов хорошо собираются и работают комплексы факторов свертывания [20]. Укутанные тромбоциты очень активно способствуют генерации тромбина и образованию фибрина, зато они практически не способны к агрегации. Если где-то возникает достаточно много таких клеток, в этом месте тромб становится слабо связанным и может разорваться. Кроме того, при терминальной активации тромбоцитов из них образуется довольно много фосфолипидных везикул, имеющих на своей поверхности отрицательно заряженный фосфатидилсерин [21]. Это один из главных источников отрицательно заряженных мембран для сборки активных комплексов каскада реакций свертывания [22].

Одновременно с образованием антиагрегантных тромбоцитов другая, основная субпопуляция тромбоцитов начинает процесс контракции [23, 24]. Это давно известное явление сжатия сгустка. Ранее полагали, что это второстепенный процесс увеличения плотности и твердости тромба. Сейчас мы приписываем этому процессу новую, необычную функцию в остановке роста тромба. Сжимающийся сгусток выталкивает наружу все, что слабо связано с основными его клетками. В первую очередь это прокоагулянтные тромбоциты. Выжимание их на поверхность приводит к обогащению поверхностного слоя этими клетками. Все неактивированные тромбоциты выше этого слоя оказываются слабо связаны и отрываются от основной массы. Происходит разрушение оболочки из неактивированных тромбоцитов. В то же время на поверхности, обогащенной этими прокоагулянтными тромбоцитами, идет интенсивное образование фибрина. Новым тромбоцитам все труднее закрепляться на поверхности, и рост тромба останавливается. Так, согласно современным представлениям, завершается процесс формирования тромба.

Заключение

Новые представления о механизмах свертывания крови помогли понять природу ряда парадоксов и загадок, давно существовавших в коагулологии. Также стало понятно, почему многие классические методы оценки гемостаза оказались мало чувствительны. Появляются новые более адекватные и информативные методы. Новый уровень понимания постепенно пе-

реносится в клиническую сферу. Это не может быть сделано быстро по 2 причинам: 1) нужны клинические доказательства методов, оказавшихся наиболее информативными. Специфика клинической работы не позволяет автоматически переносить методы научных лабораторий в клиническую практику; 2) нужны расширенные исследования нарушений гемостаза при разных патологиях. В силу малой информативности существовавших методов оказалось, что мы плохо понимаем природу нарушений гемостаза при большинстве заболеваний, сопровождающихся нарушениями свертывания. Охватить все области медицины, в которых важную роль играют нарушения свертывания крови, невозможно. Внедрение новых методов оценки состояния системы гемостаза, основанных на обновленных знаниях в этой области, в будущем позволит более качественно диагностировать нарушения гемостаза у пациентов, а также заложит основу для детальной персонализации антикоагулянтной и прокоагулянтной терапии.

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Работа Ф.И. Атауллаханова была поддержана грантом Российского научного фонда № 16-14-00224.

The research of F.I. Ataulakhanov was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 16-14-00224.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Willoughby S., Holmes A., Loscalzo J. Platelets and cardiovascular disease. *Eur J Cardiovasc Nurs* 2002;1(4):273–88. doi: 10.1016/S1474-51510200038-5.
2. Пантелеев М.А., Васильев С.А., Синауридзе Е.И. и др. Практическая коагулология. М.: Практическая медицина, 2011. 192 с. [Pantelev M.A., Vasilyev S.A., Sinauridze E.I. et al. Practical coagulology. M.: Prakticheskaya meditsina, 2011. 192 p. (In Russ.)].
3. Шмидт Р., Тевс Г. Физиология человека. Т. 2. М.: Мир, 2005. 314 с. [Shmidt R., Tevs G. Human physiology. Vol. 2. M.: Mir, 2005. 314 p. (In Russ.)].
4. Lim B.B., Lee E.H., Sotomayor M., Schulten K. Molecular basis of fibrin clot elasticity. *Structure* 2008;16(3):449–59. doi: 10.1016/j.str.2007.12.019.
5. Heemskerk J.W., Mattheij N.J., Cosemans J.M. Platelet-based coagulation: different populations, different functions. *J Thromb Haemost* 2013;11(1):2–16. doi: 10.1111/jth.12045.
6. Zwaal R.F., Schroit A.J. Pathophysiologic implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood* 1997;89(4):1121–32. PMID: 9028933.
7. Lawson J.H., Kalafatis M., Stram S., Mann K.G. A model for the tissue factor pathway to thrombin. I. An empirical study. *J Biol Chem* 1994;269(37): 23357–66. PMID: 8083241.
8. Rosing J., Tans G., Govers-Riemslog J.W., Zwaal R.F., Hemker H.C. The role of phospholipids and factor Va in the prothrombinase complex. *J Biol Chem* 1980;255(1):274–83. PMID: 7350159.
9. Belyaev A.V. Long ligands reinforce biological adhesion under shear flow. *Phys Rev E* 2018;97(4–1):042407. doi: 10.1103/PhysRevE.97.042407.
10. Stalker T.J., Traxler E.A., Wu J. et al. Hierarchical organization in the hemostatic response and its relationship to the platelet-signaling network. *Blood* 2013;121(10):1875–85. doi: 10.1182/blood-2012-09-457739.
11. Balandina A.N., Shibeko A.M., Kireev D.A. et al. Positive feedback loops for factor V and factor VII activation supply sensitivity to local surface tissue factor density during blood coagulation. *Biophys J* 2011;101(8):1816–24. doi: 10.1016/j.bpj.2011.08.034.
12. Dashkevich N.M., Ovanesov M.V., Balandina A.N. et al. Thrombin activity propagates in space during blood coagulation as an excitation wave. *Biophys J* 2012;103(10):2233–40. doi: 10.1016/j.bpj.2012.10.011.
13. Ovanesov M.V., Ananyeva N.M., Pantelev M.A., Ataullakhanov F.I., Saenko E.L. Initiation and propagation of coagulation from tissue factor-bearing cell monolayers to plasma: Initiator cells do not regulate spatial growth rate. *J Thromb Haemost* 2005;3(2):321–31. doi: 10.1111/j.1538-7836.2005.01128.x.
14. Pantelev M.A., Balandina A.N., Lipets E.N., Ovanesov M.V., Ataullakhanov F.I. Task-oriented modular decomposition of biological networks: trigger mechanism in blood coagulation. *Biophys J* 2010;98(9):1751–61. doi: 10.1016/j.bpj.2010.01.027.
15. Tuktamyshev R., Zhdanov R. The method of *in vivo* evaluation of hemostasis: Spatial thrombodynamics. *Hematology* 2015;20(10):584–6. doi: 10.1179/1607845415Y.0000000022.
16. Ovanesov M.V., Krasotkina J.V., Ul'yanova L.I. et al. Hemophilia A and B are associated with abnormal spatial dynamics of clot growth. *Biochim Biophys Acta* 2002;1572(1):45–57. PMID: 12204332.
17. Кольцова Е.М., Баландина А.Н., Демина И.А. и др. Использование метода пространственной генерации тромбина для оценки прокоагулянтной активности тромбоцитов после трансфузии тромбоконцентрата у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016;15(2):32–9. doi: 10.20953/1726-1708-2016-2-32-39. [Kol'tsova E.M., Balandina A.N., Demina I.A. The use of a spatial thrombin generation method for assessment of platelet procoagulant activity after platelet concentrate transfusion in children. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii* = *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2016;15(2):32–9. (In Russ.)].
18. Munnix I.C., Cosemans J.M., Auger J.M., Heemskerk J.W. Platelet response heterogeneity in thrombus formation. *Thromb Haemost* 2009;102(6):1149–56. doi: 10.1160/TH09-05-0289.
19. Abaeva A.A., Canault M., Kotova Y.N. et al. Procoagulant platelets form an α -granule protein-covered “cap” on their surface that promotes their attachment to aggregates. *J Biol Chem* 2013;288(41):29621–32. doi: 10.1074/jbc.M113.474163.
20. Podoplelova N.A., Sveshnikova A.N., Kotova Y.N. et al. Coagulation factors bound to procoagulant platelets concentrate in cap structures to promote clotting. *Blood* 2016;128(13):1745–55. doi: 10.1182/blood-2016-02-696898.
21. Siljander P.R. Platelet-derived microparticles - an updated perspective. *Thromb Res* 2011;127 Suppl 2:S30–3. doi: 10.1016/S0049-3848(10)70152-3.
22. Lipets E., Vlasova O., Urnova E. et al. Circulating contact-pathway-activating microparticles together with factors IXa and XIa induce spontaneous clotting in plasma of hematology and cardiologic patients. *PLoS One* 2014;9(1):e87692. doi: 10.1371/journal.pone.0087692.
23. Tutwiler V., Peshkova A.D., Andrianova I.A. et al. Contraction of Blood Clots Is Impaired in Acute Ischemic Stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37(2):271–9. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.308622.
24. Tutwiler V., Litvinov R.I., Lozhkin A.P. et al. Kinetics and mechanics of clot contraction are governed by the molecular and cellular composition of the blood. *Blood* 2016;127(1):149–59. doi: 10.1182/blood-2015-05-647560.

Статья поступила в редакцию: 02.05.2018. Принята в печать: 13.06.2018.
Article was received by the editorial staff: 02.05.2018. Accepted for publication: 13.06.2018.

Миелодиспластический синдром у детей

Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская

Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12

Контактные данные: Борис Владимирович Афанасьев bmt-director@Ispbgmu.ru

Миелодиспластический синдром (МДС) у детей – гетерогенная группа клональных состояний, возникающих, как правило, вследствие наследственных синдромов костномозговой недостаточности, приобретенной апластической анемии или генов предрасположенности. Среди них врожденные состояния, обусловленные мутациями *RUNX1*, *ANKRD*, *GATA2*, *ETV6*, *SRP72*, *DDX41*, являющиеся фактором развития фамильного МДС или острого миелоидного лейкоза. Ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ) также связан с наличием наследованных или соматических мутаций *PTPN11*, *KRAS*, *NRAS*, *CBL*, *NF1*. Патогенез этих состояний обеспечивается несколькими факторами – гиперметилированием, возникновением клонального гемопоэза/цитопении неопределенного значения, изменениями микроокружения костного мозга, длины теломер, иммунными механизмами. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток является основным методом лечения МДС у детей и ЮММЛ, но необходимо учитывать особые показания при рефрактерной цитопении (частые инфекции, зависимость от переливаний крови) и ЮММЛ с мутацией *CBL*.

Ключевые слова: дети, гематология, миелодиспластический синдром, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-23-35

Pediatric myelodysplastic syndrome

B.V. Afanasyev, L.S. Zubarovskaya

Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Ministry of Health of Russia; 12 Rentgena St., Saint Petersburg, 197022, Russia

Pediatric myelodysplastic syndrome (MDS) are a heterogeneous group of clonal disorders often occur in the context of inherited bone marrow failure syndromes, acquired aplastic anemia or gene predisposition. Germ line syndromes predisposing individuals to develop familial MDS or acute myeloid leukemia have recently been identified – mutations in *RUNX1*, *ANKRD*, *GATA2*, *ETV6*, *SRP72*, *DDX41*. Juvenile myelomonocytic leukemia (JMML) occurs in context of inherited and somatic mutations *PTPN11*, *KRAS*, *NRAS*, *CBL*, *NF1*. In pathogenesis of these disorders there are a several factors – hypermethylation, clonal hematopoiesis/cytopenia of undetermined significance, disturbances of bone marrow microenvironment, telomeres, immune mechanisms. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is the main method of MDS and JMML treatment but it is necessary to take into account special indications for refractory cytopenia (infections, dependence on blood transfusions) and be careful for JMML with *CBL* mutation.

Key words: children, hematology, myelodysplastic syndrome, juvenile myelomonocytic leukemia, allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells

Миелодиспластический синдром (МДС) – гетерогенная группа клональных заболеваний, в основе которой находится поражение гемопоэтической стволовой клетки, как следствие наследственной предрасположенности (особенно у детей и молодых взрослых), а также соматических мутаций различных генов и/или эпигенетической регуляции, в том числе индуцированных нарушением микроокружения, и нарушениями в иммунной системе противоопухолевого надзора.

Клинические проявления данного состояния сопровождаются длительным периодом неэффективного гемопоэза – моно-, би- и панцитопенией с при-

знаками дизгемопоэза в костном мозге (КМ) без или с относительно небольшим содержанием бластов.

Наличие особого состояния, не укладывающегося в представление об остром дебюте лейкоза, было замечено рядом исследователей на основе изучения морфологических особенностей КМ у взрослых и за редким исключением у детей [1, 2]. Однако впервые патологическое состояние с выделением определенных черт, характеризующееся как «миелодиспластический синдром», было предложено кооперативной группой соавторов [3], участвовавших в разработке критериев дифференцированных групп острых лейкозов, в последующем ставших основой FAB-класси-

фикации. Подчеркивалось, что, несмотря на то, что изменения в КМ при МДС имели признаки острого лейкоза, тем не менее не требовали немедленного назначения цитостатической терапии, поскольку могли персистировать в течение длительного периода времени. Первоначально считалось, что МДС, как правило, болезнь старшей возрастной группы (после 50 лет).

Первая публикация, стратифицирующая изменения в КМ у детей, подобные МДС у взрослых, была представлена Е. Kleihauer в 1980 г. на основе обобщения предшествующей информации из данных литературы [4]. Первое исследование в СССР было выполнено и опубликовано С.А. Тирановой и коллегами в 1982 г., где на основе выявления лейкоэмического типа роста грануломоноцитарных клеток-предшественников (КОЕ-ГМ) с помощью различных культуральных методов (пролиферации и созревания клеток в полутвердой агаровой среде) и наблюдения за 11 маленькими пациентами с неясными цитопениями была доказана возможность возникновения МДС у детей (рис. 1) [5].

В настоящее время не вызывает сомнений, что клинические проявления МДС у взрослых чрезвы-

чайно гетерогенны, их прогностическое значение не может быть оценено только на основе морфологического исследования КМ. По мере накопления данных и расширения спектра лабораторных исследований реальный статус пациента с МДС в современном представлении должен складываться на основании результатов цитогенетического, молекулярно-генетического исследований, а теперь уже и получения данных о мутациях методом секвенирования нового поколения.

Несмотря на то, что клинические проявления МДС у детей, также как и у взрослых, гетерогенны, тем не менее спектр их проявлений не укладывается в состояния, представленные в общепринятой классификации МДС (Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), 2016 г.) [6]. В дополнение к этому прогностические шкалы МДС для взрослых (IPSS, IPSS-R, WPSS, WPSS-R) при МДС у детей также не имеют прогностического значения [7] ввиду особенностей патофизиологии, связанной с различиями в частоте мутации генов, участвующих в патогенезе заболевания. Особое место среди МДС у детей занимает ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ), заболевание, не встречающееся у взрослых, ассоциированное с признаками миелопролиферативной неоплазии (МДС/МПН) (табл. 1) [8].

Патогенез

Предрасполагающие гены

МДС у детей имеет выраженные черты вторичного характера в более широком смысле по сравнению с вторичным МДС у взрослых, что подразумевает развитие на уже предшествующем фоне изменений в КМ. Среди них особое место занимает МДС у детей с синдромом Дауна, врожденной нейтропенией (синдром Костманна), синдромом Нунан (Noonan syndrome, NS), врожденным дискератозом, анемией Фанкони, нейрофиброматозом I типа, синдромом Швахмана–Даймонда, анемией Даймонда–Блекфена и др. Однако за последние годы было признано значительное число состояний с предрасположенностью к МДС и острому лейкозу, в первую очередь, острому миелобластному лейкозу (ОМЛ), называемых теперь семейным синдромом предрасположенности. Среди них представлены моногенные наследственные расстройства: семейный ОМЛ с мутированным *CEBPA*, семейный МДС и ОМЛ с мутацией *GATA2* и семейные тромбоцитопатии/тромбоцитопении, которые вызваны моноаллельными мутациями *RUNX1*. Для всех этих мутаций МДС и ОМЛ являются преобладающими при развитии злокачественного заболевания системы крови [8, 9] (табл. 2).

Многочисленные данные позволили D. Babushok et al. в 2015 г. высказать предположение, что в основе развития МДС у детей находятся 3 основных факто-

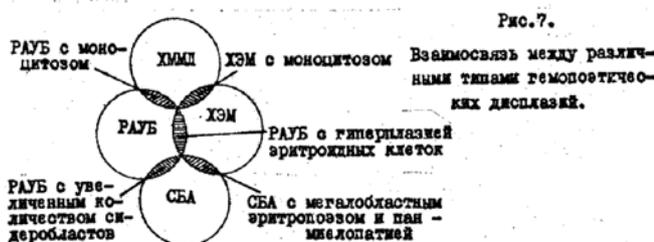


Рис. 7.

Взаимосвязь между различными типами гемопоэтических дисплазий.

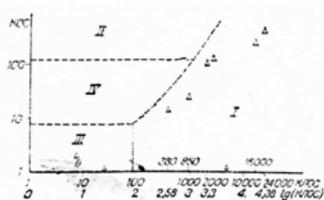


Рис. 1. Тип роста костного мозга больных с различными формами ГД в двухслойной агаровой системе. I — лейкоэмический тип роста, II — гиперпластический, III — гипопластический, IV — нормальный.

УДК 616.135.312.036.3-053.2

С. А. Тиранова, Н. А. Алексеев, Э. М. Петрова, А. Г. Пустовалова, А. Г. Бессонова, Л. С. Зубаровская, Б. В. Афанасьев

К ВОПРОСУ О СУЩЕСТВОВАНИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ ДИСПАЗИЙ (ПРЕЛЕЙКЕМИЙ) У ДЕТЕЙ

Отделение гематологии детского возраста (руководитель — проф. Н. А. Алексеев), Ленинградского НИИ гематологии и переливной крови (дир. — проф. В. Н. Шабалин), кафедры факультетской терапии (зав. — проф. В. А. Дамазов) I Ленинградского медицинского института им. И. П. Павлова

Рис. 1. Типы роста КОЕ-ГМ у детей с различными формами МДС. Воспроизведено из [5]. ГД — гемопоэтическая дисплазия (МДС); РАИБ — рефрактерная анемия с избытком бластов; СБА — сидеробластная анемия; ХММЛ — хронический миеломоноцитарный лейкоз; ХЭМ — хронический эритромиелоз

Fig. 1. Types of growth of colony-forming granulocyte-macrophage units in children with various forms of MDS. Reproduced from [5]. ГД — hemopoietic dysplasia (MDS); РАИБ — refractory anemia with an increased number of blasts; СБА — sideroblastic anemia; ХММЛ — chronic myelomonocytic leukemia; ХЭМ — chronic erythromyeloidosis

Таблица 1. Некоторые различия в клинических проявлениях МДС у детей и взрослых

Table 1. Some differences in clinical manifestations of MDS in children and adults

Характеристика <i>Characteristic</i>	Дети <i>Children</i>	Взрослые <i>Adults</i>
Встречаемость на 1,0 млн <i>The occurrence of 1.0 million</i>	1–2	40
Наследственная генетическая предрасположенность <i>Hereditary genetic predisposition</i>	1/3	< 5 %
Морфологические группы <i>Morphological groups</i> рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами <i>refractory anemia with ringed sideroblasts</i>	< 2 %	25 %
гипопластический вариант МДС <i>hypoplastic variant of MDS</i>	Часто <i>Often</i>	Редко <i>Rarely</i>
МДС/МПН <i>MDS/myeloproliferative neoplasia</i>	ЮММЛ <i>JMML</i>	ХММЛ <i>CMML</i>
Цитогенетические изменения <i>Cytogenetic changes</i>	60 %	40 %
-7/del(7q)	30–40 %	10 %
-5/del(5q)	1–2 %	20 %
Мутация в гене RAS <i>Mutation in the gene RAS</i>	Редко (кроме ЮММЛ) <i>Rarely (except JMML)</i>	Часто <i>Often</i>
Гиперметилирование <i>Hypermethylation</i>	> 50 %	> 50 %
Сплайсосомная генная абберация <i>Spliceosomal gene aberration</i>	< 2 %	Часто <i>Often</i>
Цель лечения <i>The purpose of treatment</i>	Выздоровление <i>Recovery</i>	Часто паллиативное <i>Often palliative</i>

ра: МДС, вторичный по отношению к приобретенной костномозговой недостаточности; МДС, связанный с наличием предрасполагающих генов (predisposition genes); МДС, связанный с терапией (рис. 2) [11–13]. Среди наиболее часто встречающихся генов, предрасполагающих к развитию МДС у детей, необходимо выделить следующие: *GATA2*, *RUNX1*, *CEBPA*, *ANRRD26*, *DDX41*, *ETV6*, *SRP72*, группа генов анемии Фанкони, теломеропатий *TERC*, *TERT* (см. табл. 2) [10]. Ключевыми путями нарушения регуляции при МДС у детей являются мутации в следующих генах: ответственные за сплайсинг РНК – *SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *ZRSR2*; модифицирующие эпигенетическую регуляцию – *TET2*, *DNMT3A*, *IDH1/IDH2*, *ASXL1*, *EZH2*, *SETBP1*; транскрипцию – *RUNX1*, *CEBPA*, *BCOR*, *ETV6*, *SETBP*,

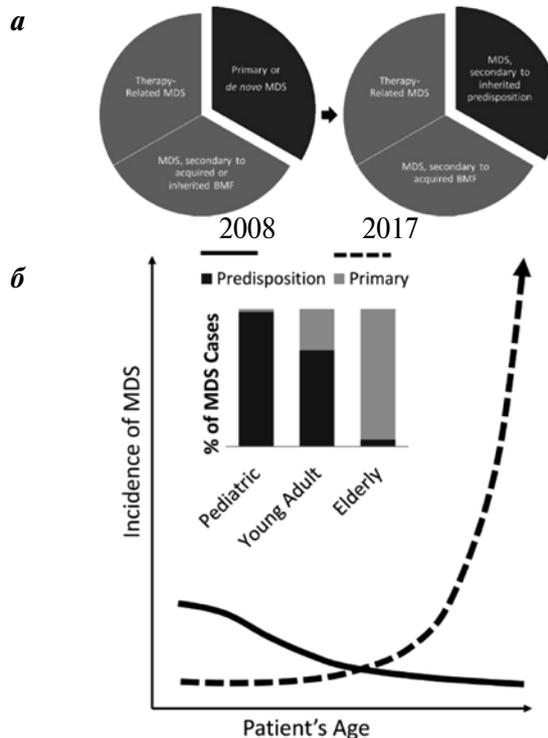


Рис. 2. Изменение представления о факторах, способствующих развитию МДС у детей (а), и различия в патогенезе МДС у детей и взрослых на основе мутаций в предрасполагающих генах (б) [11–13]. *Therapy related MDS* – МДС, связанный терапией; *MDS, secondary to acquired or inherited BMF* – МДС, вторичный к приобретенной или врожденной костномозговой недостаточности; *primary or de novo MDS* – МДС, первичный или *de novo* МДС; *MDS, secondary acquired BMF* – МДС, вторичный к приобретенной костномозговой недостаточности; *MDS, secondary to inherited predisposition* – МДС, вторичный к генетической предрасположенности; *patient's age* – возраст пациентов; *incidence of MDS* – случаи МДС; *pediatric* – дети; *young adult* – молодые взрослые; *elderly* – пожилые люди; *predisposition* – пациенты, имеющие предрасполагающие состояния (вторичные); *primary* – первичные пациенты (*de novo*)

Fig. 2. Change in the understanding of factors contributing to the development of MDS in children (a), and differences in the pathogenesis of MDS in children and adults, based on mutations in predisposing genes (b) [11–13]

GATA2; репарацию ДНК и апоптоза – *TP53*; передачи внутриклеточных сигналов – *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*, *CBL*, *JAK2*, *FLT3*, *NF1*; когезинового комплекса – *RAD21*, *SMC1A*, *SMC3*, *STAG2*.

ЮММЛ относится к состоянию, характеризующемуся как МДС/МПН, и имеет особенности в патогенезе по сравнению с МДС. Гиперчувствительность миелоидных клеток-предшественников при ЮММЛ к гранулоцитарно-макрофагальному колониестимулирующему фактору (ГМ-КСФ) и патологическая активация сигнального пути RAS–RAF–MAPK (митоген-активированной протеинкиназы) играют важную роль в патофизиологии болезни. При ЮММЛ до 90 % пациентов имеют врожденные или приобретенные мутации *PTPN11*, *KRAS*, *NRAS*, *CBL*, *NF1*, активирующие в клетке RAS/MAPK-сигнальные пути. Эти молекулярные характеристики способствовали откры-

Таблица 2. Врожденные мутации, создающие предрасположенность к семейному МДС/ОМЛ [10]

Table 2. Congenital mutations that predispose to familial MDS/AML [10]

Синдромы <i>Syndromes</i>	Ген <i>Gene</i>	Тип наследования <i>Type of inheritance</i>	Заболевание <i>Disease</i>	Другие состояния <i>Other conditions</i>
Семейная тромбоцитопатия с риском МПН <i>Family thrombocytopathy with a risk of myeloproliferative neoplasia</i>	<i>RUNX1</i>	Доминант <i>Dominant</i>	МДС/ОМЛ/острый Т-лимфобластный лейкоз <i>MDS/AML/acute T-lymphoblastic leukemia</i>	Тромбоцитопения, кровотечение <i>Thrombocytopenia, bleeding</i>
Тромбоцитопения 2 <i>Thrombocytopenia 2</i>	<i>ANKRD26</i>	Доминант <i>Dominant</i>	МДС/ОМЛ <i>MDS/AML</i>	Тромбоцитопения, кровотечение <i>Thrombocytopenia, bleeding</i>
Семейный ОМЛ с мутацией <i>DDX41</i> <i>Family AML with mutation DDX41</i>	<i>DDX41</i>	Доминант <i>Dominant</i>	МДС/ОМЛ/ХММЛ <i>MDS/AML/CMML</i>	
Тромбоцитопения 5 <i>Thrombocytopenia 5</i>	<i>ETV6</i>	Доминант <i>Dominant</i>	МДС/ОМЛ/ХММЛ/множественная миелома <i>MDS/AML/CMML/multiple myeloma</i>	Апластическая анемия (АА) <i>Aplastic anemia (AA)</i>
Семейный МДС/ОМЛ с мутацией <i>GATA2</i> <i>Family MDS/AML with mutation GATA2</i>	<i>GATA2</i>	Доминант <i>Dominant</i>	МДС/ОМЛ/ХММЛ <i>MDS/AML/CMML</i>	Нейтро-, моно-, лимфоцитопения, моноцитопения и синдром микобактериальной инфекции, лимфедема <i>Neutro-, mono-, lymphocytopenia, monocytopenia and mycobacterial infection syndrome, lymphedema</i>
Семейная АА с мутацией <i>SRP72</i> <i>Family AA with mutation SRP72</i>	<i>SRP72</i>	Доминант <i>Dominant</i>	МДС <i>MDS</i>	АА
Семейный ОМЛ с мутацией <i>CEBPA</i> <i>Family AML with mutation CEBPA</i>	<i>CEBPA</i>	Доминант <i>Dominant</i>	ОМЛ <i>ALL</i>	

тию группы генетических синдромов, возникающих в результате мутаций зародышевой линии в генах путей RAS/MAPK, которые, индуцируя активацию, обуславливают расстройства, сгруппированные как «нейро-кардио-фацио кожные синдромы» (neuro-cardio-facio cutaneous syndromes, NCFCS) или RAS-патии (RASopathies). Наиболее часто встречаются нейрофиброматоз 1-го типа (neurofibromatosis type I, NF-1) и NS, вызванные мутациями *NF1* и *RTPN-11* соответственно. Эти синдромы имеют общие клинические признаки, включая склонность к развитию злокачественных новообразований, среди которых миелопролиферативные состояния занимают особое место [14].

Гиперметилирование

Недавние исследования подчеркнули важность эпигенетических aberrаций (абerrантное метилирование ДНК) в патогенезе развития МДС/МПН и МДС. Модель метилирования ДНК играет решающую роль в эпигенетической регуляции в ходе нормального развития организма. Метилирование ДНК обеспечивается семейством ферментов ДНК-метилтрансферазы 1, 3а и 3б (DNMT). DNMT играют центральную роль в транскрипции генов, в связи с этим их роль в канцерогенезе изучалась особенно. Несмотря на то, что уровень гиперметилирования всей ДНК

в опухоли значительно возрастает, наиболее важным эпигенетическим событием является гиперметилирование промотора гена-супрессора опухолевого роста. Гиперметилированные регионы ДНК сконцентрированы в CpG-островках (последовательности с повышенным содержанием динуклеотида цитозин-гуанин). Абerrантное метилирование цитозина в генах-промоторах – основной механизм, влияющий на патологическую активацию или «молчание» генов-регуляторов. Гиперметилирование промоторов таких генов, как *p15*, *DLX4*, *p73*, *VTRNA1-3* ассоциировано с неблагоприятным прогнозом МДС, промотора *RASA4* isoform-2 – при ЮММЛ [15, 16].

Клональный гемопоэз неясной этиологии

В отличие от предрасполагающих состояний МДС у детей, у многих взрослых по мере увеличения продолжительности жизни развитию МДС предшествует период неклональных или клональных цитопений неясного значения (ICUS – idiopathic cytopenia of undetermined significance; CHIP – clonal hematopoiesis of undetermined significance; CCUS – clonal cytopenia of undetermined significance), что обусловлено появлением соматических мутаций, ассоциированных с возрастом и повышенной вероятностью развития лейкоза. Однако, несмотря на то, что в настоящее время при МДС установлено значительное число точечных

мутаций, большинство из которых связаны с нарушением сплайсинга или эпигенетической регуляции, из них только *del(5q)* и *SF3B1* (МДС с кольцевыми сидеробластами) являются патогномичными признаками МДС, остальные требуют дальнейшего изучения для идентификации их прогностического значения, поскольку могут определяться при других заболеваниях миелоидного ростка кроветворения, а также обнаруживаться у здоровых лиц [17, 18] (рис. 3).

Результатом накопления мутаций являются увеличение пролиферации, нарастание неэффективности клонального и угнетение нормального гемопоэза и на конечных этапах нарушение дифференцировки, что приводит к накоплению бластов и риску трансформации в острый лейкоз.

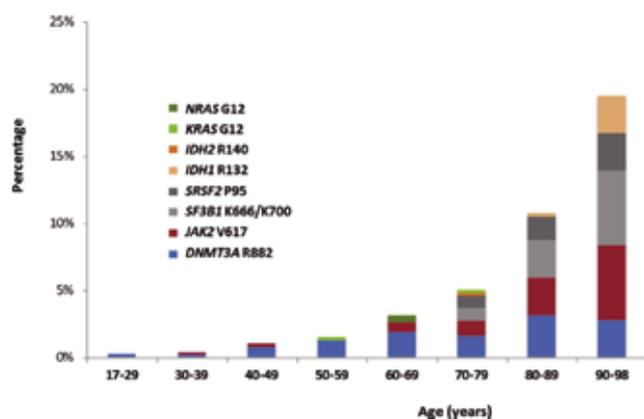


Рис. 3. Лейкоз-ассоциированные мутации, связанные с возрастом [18]
Fig. 3. Leukemia-associated mutations associated with age [18]

Апластическая анемия

Различные проявления врожденной костномозговой недостаточности у детей, как правило, имеют патогенетическую связь с МДС. Не являются исключением и приобретенные заболевания, к которым относится АА. Постановка диагноза АА наиболее сложна у детей ввиду необходимости проведения дифференциального диагноза между конституциональными формами костномозговой недостаточности и рефрактерной цитопенией (РЦ) детского возраста, как варианта МДС, а также негематологическими причинами, приводящими к аплазии КМ и панцитопении, в том числе это инфекции, нарушение метаболизма и дефицит питания. Диагноз АА может быть установлен только после исключения всех вышеперечисленных вариантов возникновения патологических изменений [19].

В патогенезе МДС установлена важная роль иммунных механизмов, о чем свидетельствует увеличение частоты развития МДС у пациентов, имевших аутоиммунные заболевания в анамнезе, например идиопатическую тромбоцитопению, миастению. Нарушение регуляции в иммунной системе может

вызывать обусловленное Т-лимфоцитами подавление гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), одним из механизмов которого является секреция провоспалительных цитокинов – фактора некроза опухоли α и интерферона- γ , воздействующих в последующем на клетки микроокружения КМ, которые в свою очередь угнетают кроветворение, индуцируют экспрессию PD-L1 (programmed cell death-ligand1) на клетках злокачественного клона, выводя их из-под контроля противоопухолевого иммунитета (рис. 4) [20, 21].

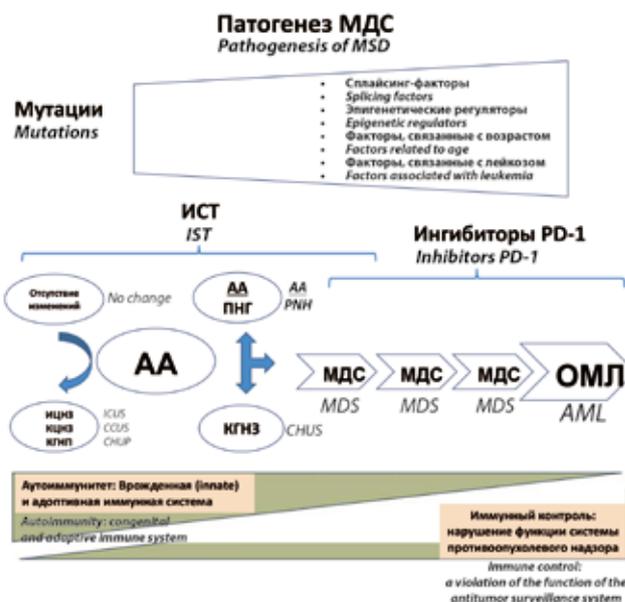


Рис. 4. Патогенез развития МДС у пациентов с АА. ИСТ – иммуносупрессивная терапия; ПНГ – пароксизмальная ночная гемоглобинурия; ИЦНЗ – идиопатическая цитопения неопределенного значения; КЦНЗ – клональная цитопения неопределенного потенциала; КГНЗ – клональный гемопоэз недостаточного потенциала; КГНЗ – клональный гемопоэз неопределенного значения
Fig. 4. Pathogenesis of MDS development in patients with AA. IST – immunosuppressive therapy; PNH – paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; ICUS – idiopathic cytopenia of undetermined significance; CCUS – clonal cytopenia of undetermined significance; CHUP – clonal hematopoiesis of undetermined potential; CHUS – clonal hematopoiesis of undetermined significance

Стромальное микроокружение

Потенциальная роль мезенхимных стволовых клеток (МСК) и их потомков в патогенезе МДС в настоящее время исследуется, полученные данные несколько противоречивы, что связано со сложностью изучения данной популяции клеток. Большинство из них свидетельствует о нарушениях в состоянии МСК у пациентов с МДС, например, обнаружены цитогенетические aberrации в клетках МСК [22], изменение иммунофенотипа МСК – снижение экспрессии CD44, CD49e, CD90, CD104, CD105, повышение экспрессии CXCL12 [23, 24], продукции цитокинов, таких как интерлейкин-1 β и фактор стволовых клеток [25]. В то же время необходимо отметить,

что по данным других исследователей, установлены нормальные цитогенетика в клетках МСК, структура, пролиферативный и дифференцировочный потенциалы МСК [22, 25, 26], способность МСК в поддержании ГСК [22, 25].

Тем не менее в настоящее время не вызывает сомнения наличие изменений при МДС в поддержании ГСК в костномозговых «нишах» [27–30]. «Ниши» – комплекс клеток в КМ, обеспечивающих микроокружение для самоподдержания ГСК в течение длительного периода (жизни), которые интегрируют и передают межклеточные сигналы для выхода в дифференцировку, а также осуществляют защиту от внешнего воздействия (стресса). Клетки, входящие в кооперацию «ниши», относятся к различным клеточным популяциям, но объединены единой функциональной организованностью. Среди них – эндостальные клетки (остеобласты), стромальные клетки КМ и периваскулярные мезенхимальные клетки, эндотелиальные клетки сосудов и синусоидов, остеокласты, макрофаги, мегакариоциты, клетки симпатической нервной системы, немиелинизирующие клетки Шванна.

Теломеры

К нарушению регуляции можно отнести состояния, приводящие к изменению длины теломерных районов ДНК, специфических структур нуклеопротеидов на концах эукариотических хромосом, которые поддерживают стабильность генома, защищая хромосомы от конечного слияния и деградации. В большинстве соматических клеток теломеры постепенно сокращаются (20–59 б.п./год) из-за проблемы конечной репликации при делении клеток. Существует механизм, препятствующий этому процессу, в результате деятельности теломеразы длина теломерных участков хромосом клетки увеличивается или сохраняется на постоянном уровне. Теломераза состоит из фермента обратной транскриптазы (TERT), РНК-матрицы (TERC) и стабилизирующих белков, включая дискерин (кодируемый DKC1) и TСАВ1. Предшествующие работы продемонстрировали, что длина теломерных участков у пациентов с МДС была значительно короче по сравнению с контрольной группой. В дополнение, кумулятивная частота развития МДС/ОМЛ у пациентов с АА выше при укорочении длины теломерных районов ДНК [31]. Новые мутации в TERC или TERT были обнаружены у пациентов с семейными МДС и ОМЛ. Не исключено, что динамика укорочения теломерных участков хромосом может быть не только диагностическим критерием, но и фактором прогноза МДС [32, 33].

Таким образом, МДС у детей является сложным по патогенезу развитием состоянием, в котором основополагающее значение имеют наследственно-обусловленные

генетические факторы – предрасполагающие мутации, врожденные и приобретенные синдромы костномозговой недостаточности. Значительную роль в прогрессии заболевания имеют иммунологические механизмы и изменения микроокружения ГСК в КМ (рис. 5).

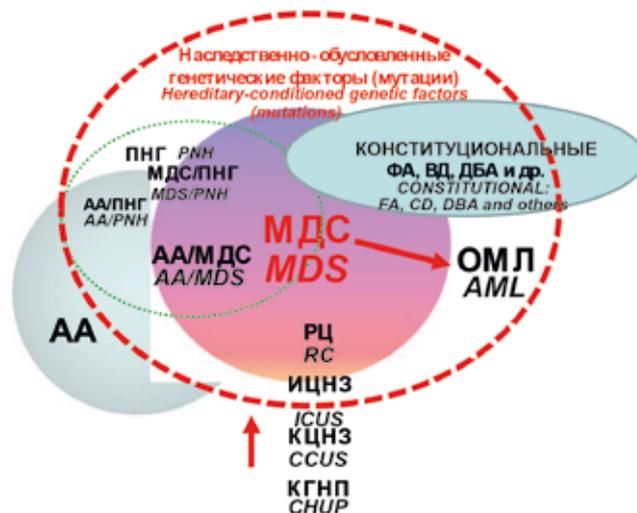


Рис. 5. Взаимосвязь МДС и синдромов костномозговой недостаточности у детей. ФА – анемия Фанкони; ВД – врожденный дискератоз; ДБА – анемия Даймонда–Блекфена

Fig. 5. Interrelation of MDS and bone marrow failure syndromes in children. FA – Fanconi anemia; CD – congenital dyskeratosis; DBA – Diamond–Blackfan anemia; RC – refractory cytopenia of childhood

Классификация МДС у детей

Понимание ограниченных возможностей классификации ВОЗ 2016 г. в применении к МДС у детей нашло отражение в рекомендациях описательной ее части, где указано «в настоящее время для МДС у детей изменения отсутствуют», подразумевая то, что необходимо опираться на предложенную ранее классификацию для МДС у детей (ВОЗ, 2008 г.), которая, в свою очередь, разработана и используется с 2003 г. (табл. 3) [12, 34, 35].

В педиатрической практике МДС является достаточно редким заболеванием и составляет 2–5 % всех злокачественных гематологических заболеваний, ежегодная заболеваемость – 1,8 на 1 млн детей в возрасте от 0 до 14 лет. Медиана возраста пациентов составляет 6,8 года. Встречаемость ЮММЛ – 1,2 на 1 млн детей, медиана возраста заболевания – 2 (0,1–11,4) года [12, 14].

Диагностика МДС основывается на данных миелограммы, кариотипировании клеток КМ с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), иммунофенотипирования при увеличении количества бластных клеток в КМ, молекулярно-генетической детекции мутаций, включая секвенирование нового поколения для выявления генов наследственной предрасположенности.

Таблица. 3. Сравнение классификации ВОЗ (2008 и 2016 гг.) МДС/МПП и МДС

Table 3. Comparison of the WHO classification (2008 and 2016) of MDS/myeloproliferative neoplasia and MDS

<p>Классификация МПП/МДС и МДС у детей (ВОЗ, 2008 г.; пересмотр 2016 г.) <i>Classification of myeloproliferative neoplasia/MDS and MDS in children (WHO, 2008; revision of 2016)</i></p>	<p>Классификация МДС/МПП и МДС (ВОЗ, 2016 г.) <i>Classification of MDS/myeloproliferative neoplasia and MDS (WHO, 2016)</i></p>
<p>МПП/МДС <i>Myeloproliferative neoplasia/MDS</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • ЮММЛ <i>JMML</i> • ХММЛ (только вторичный) <i>CMML (only secondary)</i> • хронический миелолейкоз BCR-AB⁻ <i>chronic myelogenous leukemia BCR-ABL⁻</i> 	<p>МДС/МПП <i>MDS/myeloproliferative neoplasia</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • ХММЛ <i>CMML</i> • атипичный хронический миелолейкоз BCR-ABL1⁻ <i>atypical chronic myelogenous leukemia BCR-ABL1⁻</i> • ЮММЛ <i>JMML</i> • миелодиспластические/МПП с кольцевыми сидеробластами и тромбоцитозом <i>myelodysplastic/myeloproliferative neoplasia with ring sideroblasts and thrombocytosis</i> • миелодиспластические/МПП, неклассифицируемые <i>myelodysplastic/myeloproliferative neoplasia, unclassified</i>
<p>Миелоидные пролиферации, связанные с синдромом Дауна <i>Myeloid proliferation associated with Down syndrome</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • транзиторное нарушение миелопоэза <i>transient abnormal myelopoiesis</i> • миелоидный лейкоз, ассоциированный с синдромом Дауна <i>myeloid leukemia associated with Down syndrome</i> 	<p>МДС <i>MDS</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • МДС с унилинейной дисплазией <i>MDS with unilinear dysplasia</i> • МДС с множественной дисплазией <i>MDS with multiple dysplasia</i> • МДС с 5q-синдром (рефрактерная анемия с изолированной del(5q31.1)) <i>MDS with 5q-syndrome (refractory anemia with isolated del(5q31.1))</i> • МДС с избытком бластов-1 (5–9 % бластов) <i>MDS with an excess of blasts-1 (5–9 % of blasts)</i> • МДС с избытком бластов-2 (10–19 % бластов) <i>MDS with an excess of blasts-2 (10–19 % of blasts)</i> • МДС с кольцевыми сидеробластами (рефрактерная анемия): <i>MDS with ring sideroblasts (refractory anemia):</i> <ul style="list-style-type: none"> - с унилинейной дисплазией <i>with unilinear dysplasia</i> - с мультилинейной дисплазией <i>with multilinear dysplasia</i> • неклассифицируемый МДС: <i>unclassified MDS:</i> <ul style="list-style-type: none"> - с 1 % бластов в крови <i>with 1 % blasts in the blood</i> - с унилинейной дисплазией и панцитопенией и наличием цитогенетических изменений <i>with unilinear dysplasia and pancytopenia and the presence of cytogenetic changes</i> • РЦ у детей <i>RC of childhood</i>
<p>МДС <i>MDS</i></p> <p><u>Низкий риск</u> <i>Low grade</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • РЦ детского возраста (бласты в периферической крови < 2 % и бласты в КМ < 5 %) <i>RC of childhood (blasts in peripheral blood < 2 % and blasts in the bone marrow < 5 %)</i> <p><u>Высокий риск</u> <i>High grade</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • РАИБ (МДС) <i>refractory anemia with excess blasts (MDS)</i> • РАИБ (МДС) в трансформации <i>refractory anemia with excess blasts (MDS) in transformation</i> 	
<p>Миелоидные новообразования с наследственной генетической предрасположенностью <i>Myeloid neoplasms with hereditary genetic predisposition</i></p>	
<p>Миелоидные новообразования, связанные с терапией <i>Myeloid neoplasm associated with therapy</i></p>	

Критерии постановки диагноза рефрактерная анемия с избытком бластов

Категория МДС “high grade” (высокой степени риска):

- устойчивая цитопения не уточненной этиологии;
- билинейная дисплазия > 10 % клеток КМ;
- приобретенные цитогенетические аберрации;
- 5–29 % бластных клеток в КМ.

РАИБ: в анализе бластные клетки в периферической крови – 2–19 %, в КМ – 5–19 %.

РАИБ в трансформации в ОМЛ: в анализе крови и КМ бластные клетки – 20–29 %. При этом выявление хромосомных аберраций t(8;21)(q22;q22) или

inv(16)(p13.1q22), или t(16;16)(p13.1; q22), или t(15;17)(q11;q12) должно расцениваться как ОМЛ вне зависимости от количества бластов в КМ.

Критерии постановки диагноза рефрактерная цитопения детского возраста

Категория МДС “low grade” (низкой степени риска):

- РЦ детского возраста – категория МДС, характеризуется постоянной цитопенией с количеством бластов в КМ < 5 %, в периферической крови < 2 %;
- Рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами, 5q-синдром не характерны для пациентов моложе 14 лет:

– кровь: гемоглобин < 100 г/л, анемия с макроцитозом; анизопокилоцитозом, анизохромией, тромбоциты < $150,0 \times 10^9$ /л, анизоцитоз, гигантские формы, нейтропения с псевдопельгеризацией, гипогрануляцией, бластные клетки отсутствуют или < 2 %;

– КМ: гипоклеточный у 75 % пациентов, однако возможен нормо- и гиперклеточный вариант;

– дисплазия в 2 клеточных линиях (минимум в 10 % клеток) или в 1 клеточной линии, но более чем в 10 % клеток;

– миелобласты – не более 5 %;

– мегакариоциты – отсутствуют или единичные, микромеги – диагностический признак, макромеги – очень редко;

– трепанобиоптат (обязательное исследование!);

– эритропоэз: несколько кластеров от 20 клеток, задержка созревания на ранних предшественниках, увеличение количества митозов; мегакариоцитопоэз с наличием микромегакариоцитов, выявляемых с помощью иммуногистохимии (CD41, CD61).

Критерии постановки диагноза ювенильный миелоцитарный лейкоз (подразделяются в зависимости от наличия следующих симптомов (2015 г.):

• **категория 1** (выявление всех признаков из ниже-следующих):

- моноцитоз в крови > 1000 в 1 мкл;

- бласты в крови и КМ < 20 %;

- спленомегалия;

- отсутствие t(9;22) и *BCR/ABL*-реаранжировки;

• **категория 2** (выявление, по крайней мере, 1 признака):

- соматическая мутация *PTNPN11* или *KRAS*, или *NRAS*;

- диагноз NF-1 или врожденная мутация *NF-1*;

- врожденная мутация *CBL* или потеря гетерозиготности *CBL*;

• **категория 3** (выявление, по крайней мере, 2 признаков)

- моносомия 7-й хромосомы или другие цитогенетические изменения;

- повышение возрастного уровня фетального гемоглобина;

- циркулирующие в крови предшественники миелопоэза;

- спонтанный рост или гиперчувствительность к ГМ-КСФ при культивировании;

- гиперфосфорилирование STAT5.

Несмотря на большой вклад в постановку диагноза МДС у детей цитогенетических, молекулярно-генетических методов исследования, морфологическое исследование КМ остается «золотым стандартом». Как правило, изменения выявляются в эритроидном, гранулоцитарном и мегакариоцитарном ростках кроветворения.

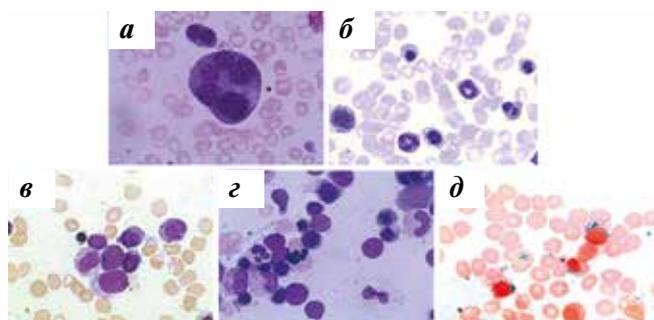


Рис. 6. Морфологические признаки дизэритропоэза: а – многоядерный полихроматофильный мегалобласт; б – неправильная конфигурация формы ядер; в – вакуолизация цитоплазмы, цитоплазматические мостики, кариорексис; г – многоядерность, межъядерный мостик; д – кольцевые сидеробласты (данные В.М. Кравцовой)

Fig. 6. Morphological signs of dyserythropoiesis: a – multi-core polychromatophilic megaloblast; б – irregular configuration of the shape of the nuclei; в – vacuolization of the cytoplasm, cytoplasmic bridges, karyorexis; г – multi-core, internuclear bridge; д – circular sideroblasts (data provided by V.M. Kravtsova)

Морфологические признаки дизэритропоэза (рис. 6): многоядерность, полиплоидия; мегалобластичность ядерного хроматина, асинхронизм созревания ядра/цитоплазмы; межклеточные, цитоплазматические и межъядерные мостики; наличие телец Жолли, базофильной пунктации, вакуолизации цитоплазмы, неправильной конфигурации ядер с почкованием, “budding”-формы, фрагментации ядер/кариорексиса, а также кольцевых сидеробластов (> 15 %) – для рефрактерной анемии с кольцевыми сидеробластами, PAS-положительных гранул в эритроидных предшественниках.

К морфологическим признакам дизгранулопоэза (рис. 7) относятся: наличие маленьких или необычно больших клеток, нарушение процесса сегментации ядер с образованием гиполобулярных форм (круглоядерные, кольцевые, бисегментированные, псевдопельгеровские) или с гиперсегментацией ядер, кламповидной структуры ядерного хроматина, нарушение гранулопоэза с гипо-/дегрануляцией цитоплазмы, гранул псевдо-Чедиака–Хигаши, палочек Ауэра в элементах гранулоцитарного ряда.

Морфологические признаки дисмегакариоцитопоэза (рис. 8) характеризуются присутствием микромегакариоцитов, гиполобулярностью ядер (моно- и диплоидные формы), множественными полиплоидными ядрами, разделением цитоплазмы на центральную часть со специфическими гранулами и периферическую стекловидную с вакуолизацией.

Патоморфологическими признаками МДС у детей при гистологическом исследовании являются наличие атипично локализованных миелоидных предшественников (abnormal localization of immature precursors, ALIP), образующих кластеры в центральных отделах лакун КМ, и исчезновение последних из паратрабекулярных зон, кластеров из микроформ мегакариоцитов, нарушение нормальной топографии клеток в КМ (рис. 9).

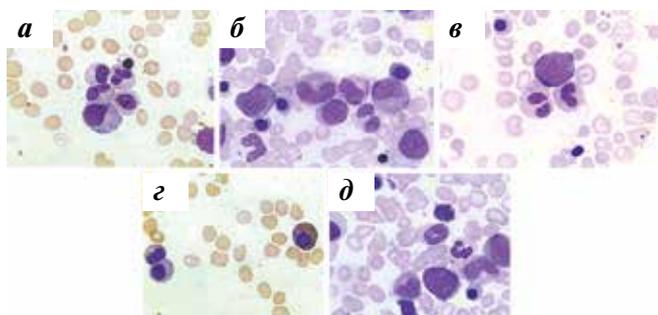


Рис. 7. Морфологические признаки дизгранулопоэза: а – псевдопельгеровские формы гранулоцитов; б – дисгранулопоэз с дегрануляцией: гигантские, псевдопельгеровские формы; в – псевдопельгеровский бисегментированный нейтрофил; г – нарушение процесса сегментообразования; д – гипогранулярность (данные В.М. Кравцовой)

Fig. 7. Morphological signs of dysgranulopoiesis: а – pseudopelgerian forms of granulocytes; б – degranulopoiesis with degranulation: giant, pseudopelgerian forms; в – pseudopelgerian bisegmented neutrophil; г – violation of the segmentation process; д – hypogranularity (data provided by V.M. Kravtsova)

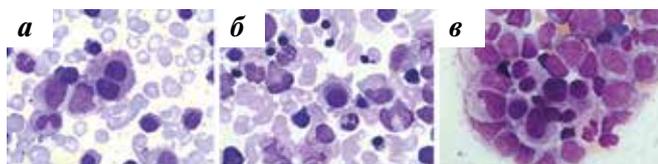


Рис. 8. Морфологические признаки дизмегакариоцитопоза: а – диплоидный микромега; б – микромегакариоцит; в – кластер микромеггов (данные В.М. Кравцовой)

Fig. 8. Morphological signs of dismegakaryocytopenia: а – diploid micromeg; б – micromegakaryocyte; в – cluster of micromegs (data provided by V.M. Kravtsova)

Трепанобиоптат **ALIP** при РАИБ
Trepanobiopstat of atypically localized myeloid progenitors with refractory anemia with excess blasts

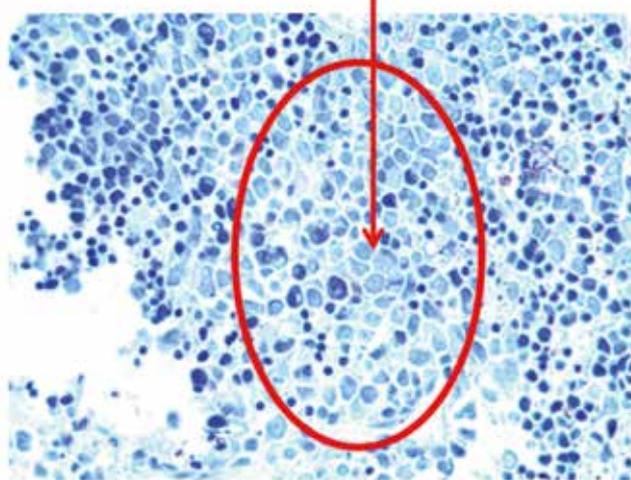


Рис. 9. Гистология КМ при МДС у детей (наличие ALIP) (данные В.В. Байкова, В.М. Кравцовой)

Fig. 9. Histology of bone marrow with MDS in children (presence of atypically localized myeloid progenitors) (data provided by V.V. Baykov, V.M. Kravtsova)

Наиболее характерным цитогенетическим изменением при МДС у детей является выявление моносомии 7-й хромосомы (рис. 10).

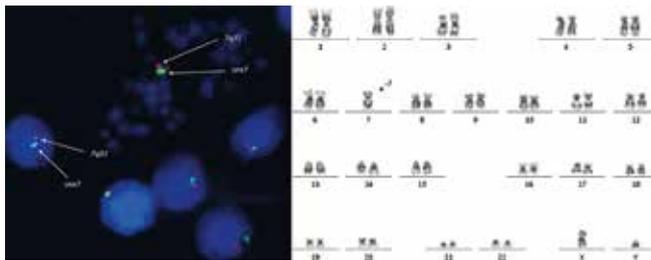


Рис. 10. Моносомия 7-й хромосомы при МДС у детей (данные Т.Л. Гиндиной)

Fig. 10. Monosomy of the 7th chromosome in children with MDS (data provided by T.L. Gindina)

Дифференциальный диагноз

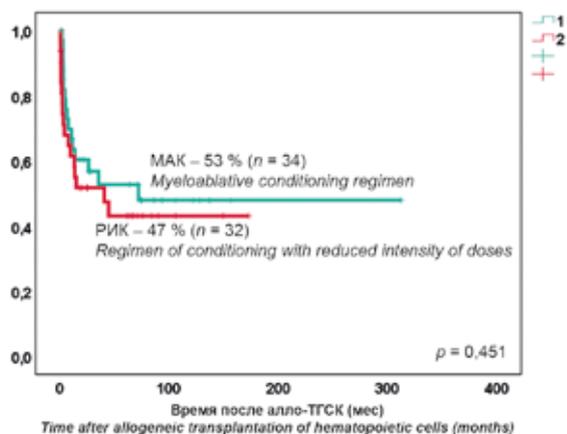
МДС у детей необходимо дифференцировать с другими заболеваниями системы крови: хронические миелопролиферативные заболевания, ОМЛ, АА, конституциональные синдромы костномозговой недостаточности, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, синдром Вискота–Олдрича, иногда ЮММЛ-подобные изменения присутствуют при остеопетрозе. Необходимо исключение миелодисплазии негематологического генеза, что может развиваться при следующих состояниях: B_{12} /фолиево-дефицитной анемии, дефиците витамина Е, приеме алкоголя/наркотиков, отравлении тяжелыми металлами (свинец, мышьяк), при вирусных инфекциях (парвовирус В19, цитомегаловирус, вирус Эпштейна–Барр, вирус герпеса 6-го типа, вирус иммунодефицита человека), хронических инфекциях; миелодисплазия может быть лекарственно-ассоциированной – цитостатики, некоторые антибиотики, противовирусные препараты.

Терапия при миелопролиферативной неоплазии/миелодиспластическом синдроме и миелодиспластическом синдроме

Несмотря на очевидность применения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) для излечения детей с МДС и МПН/МДС показания к ее выполнению должны быть дифференцированы.

При РЦ у детей в отсутствии осложнений возможен период «наблюдай и жди». Ввиду того, что иммунный компонент патогенеза присутствует, назначение ИСТ у ряда пациентов может быть оправданным, однако ее эффективность колеблется в пределах 30–70 % [8, 36]. В случае нарастания эпизодов инфекций различной локализации, зависимости от гемокомпонентов, выявления изменений кариотипа (моносомия 7-й хромосомы) алло-ТГСК должна стать методом выбора лечения.

ОВ в зависимости от режима кондиционирования
Overall survival rate depending on the air-conditioning regime



ОВ в зависимости от уровня бластов на момент алло-ТГСК
Overall survival depending on blast level at the time of allogeneic transplantation of hematopoietic cells

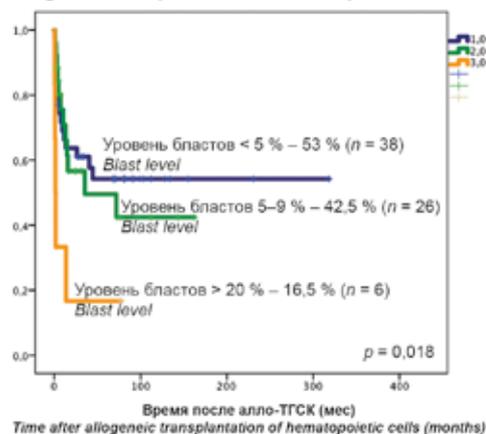


Рис. 11. ОВ детей с МДС/МПН и МДС в зависимости от режима кондиционирования и уровня бластов в КМ на момент трансплантации (данные А.А. Осиповой)

Fig. 11. Overall survival of children with MDS/myeloproliferative neoplasia and MDS, depending on the conditioning regimen and blast level in the bone marrow at the time of transplantation (data provided by A.A. Osipova)

При РАИБ и РАИБ в стадии трансформации в ОМЛ необходимо начать срочную подготовку к проведению алло-ТГСК от донора с допустимой степенью совместимости по генам HLA-системы (родственный совместимый, гаплоидентичный или неродственный). Общая выживаемость (ОВ) детей с МДС/МПН и МДС после алло-ТГСК, по данным нашей клиники, не зависит от интенсивности режима кондиционирования (миелоаблативный (МАК) против режима со сниженной интенсивностью доз (РИК)) и составляет до 50 %, при этом выявлена зависимость от уровня бластов в КМ на момент выполнения трансплантации – 58 % и 17 % при уровне бластов < 20 % и > 20 % соответственно (рис. 11) [37].

Таким образом, очевидна зависимость выживаемости детей от статуса заболевания на момент трансплантации. Тем не менее представление об оптимальном варианте подготовки к алло-ТГСК детей с МДС/МПН и МДС, сопровождающимся бластной трансформацией в КМ, не сформировано. До последнего времени при наличии признаков прогрессии заболевания химиотерапия (ХТ) являлась основным методом, однако лечение этой группы пациентов достаточно сложно, высокие дозы ХТ зачастую неэффективны, имеют высокую токсичность и в последующем могут нивелировать результаты трансплантации. Назначение цитостатических препаратов по одному из протоколов лечения ОМЛ у детей оправдано только в случае необходимости циторедукции при быстрой прогрессии заболевания [8, 14, 38]. В дальнейшем в целях подготовки к трансплантации предпочтительно назначение препаратов, обладающих невысокой органотоксичностью, но показавших свою эффек-

тивность, одними из которых являются гипометилирующие препараты (ГМП). При комбинации ГМП с алло-ТГСК у детей с РАИБ и РАИБ в стадии трансформации в ОМЛ 4-летняя ОВ и бессобытийная выживаемость (БСВ) составили 100 % в сравнении с 55–40 % без применения этих препаратов [15].

При ЮММЛ проведение алло-ТГСК является методом выбора. Однако среди пациентов с ЮММЛ при определении показаний особое внимание заслуживают дети с врожденной мутацией *CBL* ввиду возможной у них спонтанной регрессии проявлений миелопролиферативного заболевания, несмотря на длительную, иногда в течение нескольких лет, персистенцию мутации *CBL* [14]. В качестве подготовки пациентов с ЮММЛ к алло-ТГСК возможно применение низких доз ХТ – 6-меркаптопурин ± 13-цис-Ретиноевая кислота [39], цитозин-арабинозид ± 13-цис-Ретиноевая кислота [40], есть мнение, что необходимо назначение высокодозной ХТ, однако только при прогрессии заболевания в целях подготовки к алло-ТГСК [38, 41] в нашей клинике подтверждена высокая эффективность ГМП в этом случае [42].

Проводятся исследования по применению у пациентов с МДС иммунотерапии с помощью ингибиторов иммунных контрольных точек – PD-1/PD-1L check point inhibitors, комбинация которых с ГМП может быть достаточно эффективна [43].

Другой причиной, ухудшающей ОВ пациентов с МДС/МПН и МДС после алло-ТГСК, являются рецидивы, профилактика и терапия которых, в том числе превентивная, также требуют разработки новых методов на основе применения иммунотерапии и таргетных препаратов ввиду неэффективности ХТ.

Гипометилирующие препараты

Среди основных механизмов противоопухолевой активности азануклеозидов — цитотоксический за счет встраивания в ДНК (и в РНК в случае 5-азациитидина) и последующей индукции повреждения ДНК и гипометилирующий за счет ингибирования ДНК-метилтрансферазы, что позволяет восстановить нормальный клеточный рост и дифференцировку.

В настоящее время в клинической практике активно используются 2 препарата этой группы: 5-азациитидин (азациитидин) и 5-аза-2'-дезоксцитидин (децитабин), зарегистрированные к применению у пациентов с МДС Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration — FDA, США) в 2004 и 2006 гг. соответственно.

В низких дозах азациитидин и децитабин, встраиваясь в ДНК, ослабляют метилирование за счет необратимого ингибирования ДНК-метилтрансферазы (DNMT), особенно DNMT1, которая ответственна за поддержание метилирования в ходе репликации ДНК. Вследствие этого признаки метилирования утрачиваются в ходе репликации ДНК. Деметилирование ДНК приводит к реактивации «молчащих» генов-супрессоров опухоли. В дополнение к имеющейся деметилирующей активности у азациитидина была обнаружена способность индуцировать специфический иммунный ответ в опухолевых клетках.

ГМП наряду с ХТ и алло-ТГСК являются препаратами выбора в лечении МДС у взрослых. Основными показаниями к их назначению являются снижение зависимости от гемотрансфузий при рефрактерной анемии, в качестве монотерапии с циторедуктивной целью у пациентов с МДС с избытком бластов в старшей возрастной группе, имеющих противопоказания к назначению ХТ и проведению алло-ТГСК. Показана эффективность назначения ГМП при подготовке к алло-ТГСК пациентов с МДС для уменьшения опухолевой массы, оправдано применение у пациентов с МДС в целях профилактики, превентивной терапии рецидива или развернутых клинических проявлений после трансплантации [42].

Необходимость применения ХТ у детей с МДС/МПН и МДС (РАИБ, РАИБ в стадии трансформации в ОМЛ) до алло-ТГСК изучается. EWOG-MDS/EBMT JMMI опубликовала данные об отсутствии различия в БСВ (52 % vs 50 %), вероятности рецидива (35 % vs 38 %) и летальности, связанной с трансплантацией (13 % vs 13 %), при сравнении отдаленных результатов у детей с предшествующей алло-ТГСК ХТ и менее интенсивных методов терапии (дифференцировочная терапия, низкие дозы цитостатиков) [44]. Это дает основания для рассмотрения новых возможностей в подготовке пациентов к алло-ТГСК, среди которых ГМП представляются наиболее перспективными вви-

ду возможной высокой эффективности и низкой степени токсичности воздействия.

Опыт применения ГМП у детей представлен недостаточно, эти препараты в настоящее время используются только в рамках клинических исследований, но положительное влияние данной терапии установлено. Так, назначение 5-азациитидина пациентам с диагнозом МДС (РАИБ) в возрасте от 1,3 до 17,2 года до алло-ТГСК приводит к снижению содержания бластов в КМ с 15 % (9–31 %) до 5,5 % (0–12 %) ($p = 0,02$), из них 50 % больных достигли ремиссии, либо не имели признаков прогрессии заболевания. Пациенты после алло-ТГСК были с более высоким уровнем БСВ, 4-летняя предполагаемая длительность жизни составила 100 % по сравнению с 69,3 % у больных, не получавших 5-азациитидин. Терапия не имела серьезных осложнений за исключением единичных пациентов, имевших гематологическую токсичность I–IV степени, лихорадку и инфекции I–IV степени, тошноту и рвоту II–III степени, острое повреждение почек II степени, диарею II степени [15].

С учетом имеющихся данных можно предположить, что использование ГМП до проведения алло-ТГСК и терапии рецидивов в периоде после алло-ТГСК у детей с МДС/МПН и МДС может улучшить результаты ОВ и уменьшить количество осложнений. Так, в исследование С.Л. Phillips et al. были включены 8 пациентов (возраст — 2–26 лет, медиана возраста — 4 года), находившихся в рецидиве ОМЛ. Пациенты получили децитабин в дозе 20 мг/м² внутривенно в течение 1–10 дней с интервалом до 28 дней. Из них 75 % ответили на терапию, 38 % — достигли ремиссии заболевания. В последующем 4 пациента получили алло-ТГСК, из них 2 больных находятся в долгосрочной полной ремиссии. Из осложнений отмечено только развитие нейтропении IV степени [45]. В поддержку применения 5-азациитидина в качестве bridge-терапии к алло-ТГСК опубликованы данные А. Cseh et al., где установлено, что низкие дозы препарата хорошо переносятся пациентами с ЮММЛ, способны индуцировать клинический, цитогенетический и молекулярно-биологический ответы, что не было документировано у данной категории больных на фоне лечения химиопрепаратами [46].

Стандартная доза 5-азациитидина составляет 75 мг/м² в течение 7 дней с интервалом 21 день. Наиболее частыми нежелательными явлениями (НЯ) при лечении азациитидином являлись гематологические реакции (71,4 %), включая тромбоцитопению, нейтропению и лейкопению (обычно III–IV степени тяжести); желудочно-кишечные осложнения (60,6 %), включая тошноту и рвоту (обычно I–II степени тяжести), или локальные реакции в месте введения (77,1 %; I–II степень тяжести). К наиболее частым (> 2 %) серьезным НЯ также относятся фебрильная нейтропения (8,0 %) и анемия (2,3 %). Среди

менее частых (< 2 %) серьезных НЯ отмечались сепсис на фоне нейтропении, пневмония, тромбоцитопения и кровотечения, ни одно из них не стало непосредственной причиной летального исхода.

Заключение

1. МДС — гетерогенное клональное заболевание, в основе которого на фоне множественных случайных соматических мутаций в стволовой клетке, увеличивающихся с возрастом, возникает одна (или несколько), являющаяся ключевой в развитии процесса. У детей решающее значение имеет наследственная предрасположенность.

2. До развития МДС (особенно у взрослых), отвечающего критериям диагностики, существует длительный период (иногда несколько лет) клональных и неклональных цитопений (РЦ, ИЦНЗ, КЦНЗ, КГНЗ) (аналогия — моноклональная гаммапатия неопределенного значения—множественная миелома).

3. Цитогенетические клональные aberrации не являются патогенетическим фактором развития МДС, их можно рассматривать как вторичное явление на фоне нестабильности генома за исключением хромосомной поломки при 5q-синдроме и мутации гена *SF3B1* при рефрактерной анемии с кольцевыми сидеробластами.

4. Соматические мутации необходимо учитывать при разработке новых классификаций и новых моделей прогноза МДС.

5. Вероятность трансформации АА в МДС повышается при наличии соматических лейкоз- и возраст-ассоциированных мутаций.

6. Иммунный патогенез АА и эффективность ИСТ не свидетельствуют против решающей роли мутаций и опухолевой прогрессии АА.

7. ТГСК от аллогенного донора является единственным методом лечения МДС/МПП и МДС у детей, однако требует дифференцированного подхода при рассмотрении показаний при РЦ у детей и ЮММЛ с мутацией *CBL*.

8. При подготовке к алло-ТГСК необходимо внедрение новых протоколов с высокой эффективностью и наименьшей органотоксичностью, среди которых наиболее перспективны таргетные препараты и иммунотерапия (ГМП, ингибиторы иммунных контрольных точек).

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

The study was performed without external funding.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Fisher W.B., Armentrout S.A., Weisman R. Jr, Graham R.C. Jr. "Preleukemia". A myelodysplastic syndrome often terminating in acute leukemia. Arch Intern Med 1973;132(2):226–32. PMID: 4515834.
- Randall D.L., Reiquam C.W., Githens J.H., Robinson A. Familial myeloproliferative disease. A new syndrome closely simulating myelogenous leukemia in childhood. Am J Dis Child 1965;110(5):479–500. PMID: 5215211.
- Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T. et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. Br J Haematol 1982;51(2):189–99. PMID: 6952920.
- Kleihauer E. The preleukemic syndromes (hematopoietic dysplasia) in childhood. Eur J Pediatr 1980;133(1):5–10. PMID: 6986269.
- Тиранова С.А., Алексеев Н.А., Петрова Э.М. и др. К вопросу о существовании гемопоэтических дисплазий (прелейкемий) у детей. Терапевтический архив 1982;8:1–16. [Tiranova S.A., Alekseev N.A., Petrova E.M. et al. On the question of the existence of hematopoietic dysplasia (preleukemia) in children. Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic archive 1982;8:1–16. (In Russ.)].
- Arber D., Orazi A., Hasserjian R. et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood 2016;127(20):2391–405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.
- Hasle H., Baumann I., Bergsträsser E. et al.; European Working Group on childhood MDS. The International Prognostic Scoring System (IPSS) for childhood myelodysplastic syndrome (MDS) and juvenile myelomonocytic leukemia (JMML). Leukemia 2004;18(12):2008–14. doi: 10.1038/sj.leu.2403489.
- Hasle H. Myelodysplastic and myeloproliferative disorders of childhood. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2016;2016(1):598–604. doi: 10.1182/asheducation-2016.1.598.
- West A., Godley L., Churpek J.E. Familial myelodysplastic syndrome/acute leukemia syndromes: a review and utility for translational investigations. Ann N Y Acad Sci 2014;1310:111–8. doi: 10.1111/nyas.12346.
- Bannon A., DiNardo C. Hereditary predisposition to myelodysplastic syndrome. Int J Mol Sci 2016;17(6). pii: E838. doi: 10.3390/ijms17060838.
- Babushok D.V., Bessler M., Olson T.S. Genetic predisposition to myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in children and young adults. Leuk Lymphoma 2016;57(3):520–36. doi: 10.3109/10428194.2015.1115041.
- Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. et al. WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC Press, 2008.
- Babushok D.V., Bessler M. Genetic predisposition syndromes: when should they be considered in the work-up of MDS? Best Pract Res Clin Haematol 2015;28(1):55–68. doi: 10.1016/j.beha.2014.11.004.
- Locatelli F., Niemeyer C.M. How I treat juvenile myelomonocytic leukemia. Blood 2015;125(7):1083–90. doi: 10.1182/blood-2014-08-550483.
- Waespe N., Van Den Akker M., Klaassen R.J. et al. Response to treatment with azacitidine in children with advanced myelodysplastic syndrome prior to hematopoietic stem cell transplantation. Haematologica 2016;101(12):1508–15. doi: 10.3324/haematol.2016.145821.
- Poetsch A.R., Lipka D.B., Witte T. et al. *RAS44* undergoes DNA hypermethylation in resistant juvenile myelomonocytic leukemia. Epigenetics 2014;9(9):1252–60. doi: 10.4161/epi.29941.
- Malcovati L., Karimi M., Papaemmanuil E. et al. *SF3B1* mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sidero-

- blasts. *Blood* 2015;126(2):233–41. doi: 10.1182/blood-2015-03-633537.
18. McKerrell T., Park N., Moreno T. et al. Leukemia-associated somatic mutations drive distinct patterns of age-related clonal hemopoiesis. *Cell Rep* 2015;10(8):1239–45. doi: 10.1016/j.celrep.2015.02.005.
19. Niemeyer C., Baumann I. Classification of childhood aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011;2011:84–9. doi: 10.1182/asheducation-2011.1.84.
20. Kristinsson S.Y., Björkholm M., Hultcrantz M. et al. Chronic immune stimulation might act as a trigger for the development of acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2011;29(21):2897–903. doi: 10.1200/JCO.2011.34.8540.
21. Glenthoj A., Ørskov A.D., Hansen J.W. et al. Immune mechanisms in myelodysplastic syndrome. *Int J Mol Sci*. 2016 Jun 15;17(6). pii: E944. doi: 10.3390/ijms17060944.
22. Flores-Figueroa E., Arana-Trejo R.M., Gutiérrez-Espíndola G. et al. Mesenchymal stem cells in myelodysplastic syndromes: phenotypic and cytogenetic characterization. *Leuk Res* 2005;29(2):215–24. doi: 10.1016/j.leukres.2004.06.011.
23. Aanei C., Flandrin P., Eloae F.Z. et al. Intrinsic growth deficiencies of mesenchymal stromal cells in myelodysplastic syndromes. *Stem Cells Dev* 2012;21(10):1604–15. doi: 10.1089/scd.2011.0390.
24. Flores-Figueroa E., Varma S., Montgomery K. et al. Distinctive contact between CD34+ hematopoietic progenitors and CXCL12+ CD271+ mesenchymal stromal cells in benign and myelodysplastic bone marrow. *Lab Invest* 2012;92(9):1330–41. doi: 10.1038/labinvest.2012.93.
25. Flores-Figueroa E., Montesinos J., Flores-Guzmán P. et al. Functional analysis of myelodysplastic syndromes-derived mesenchymal stem cells. *Leuk Res* 2008;32(9):1407–16. doi: 10.1016/j.leukres.2008.02.013.
26. Soenen-Cornu V., Tourino C., Bonnet M. et al. Mesenchymal cells generated from patients with myelodysplastic syndromes are devoid of chromosomal clonal markers and support short- and long-term hematopoiesis *in vitro*. *Oncogene* 2005;24(15):2441–8. doi: 10.1038/sj.onc.1208405.
27. Medyouf H., Mossner M., Jann J. et al. Myelodysplastic cells in patients reprogram mesenchymal stromal cells to establish a transplantable stem cell niche disease unit. *Cell Stem Cell* 2014;14(6):824–37. doi: 10.1016/j.stem.2014.02.014.
28. Kastrinaki M., Pontikoglou C., Klaus M. et al. Biologic characteristics of bone marrow mesenchymal stem cells in myelodysplastic syndromes. *Curr Stem Cell Res Ther* 2011;6(2):122–30. PMID: 20528751.
29. Bulycheva E., Rauner M., Medyouf H. et al. Myelodysplasia is in the niche: novel concepts and emerging therapies. *Leukemia* 2015;29(2):259–68. doi: 10.1038/leu.2014.325.
30. Abbas S., Kini A., Srivastava V. et al. Coexistence of aberrant hematopoietic and stromal elements in myelodysplastic syndromes. *Blood Cells Mol Dis* 2017;66:37–46. doi: 10.1016/j.bcmd.2017.08.004.
31. Кулагин А.Д. Клинико-гематологические и иммунологические критерии долгосрочного прогноза приобретенной апластической анемии. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. СПб., 2015. 60 с. [Kulagin A.D. Clinico-hematologic and immunological criteria for the long-term prognosis of acquired aplastic anemia. Dissert. PhD. SPb, 2015. 60 p. (In Russ.)].
32. Allegra A., Innao V., Penna G. et al. Telomerase and telomere biology in hematological diseases: A new therapeutic target. *Leuk Res* 2017;56:60–74. doi: 10.1016/j.leukres.2017.02.002.
33. Wang L., Xiao H., Zhang X. et al. The role of telomeres and telomerase in hematologic malignancies and hematopoietic stem cell transplantation. *J Hematol Oncol* 2014;7:61. doi: 10.1186/s13045-014-0061-9.
34. Hasle H., Niemeyer C.M., Chessells J.M. et al. A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. *Leukemia* 2003;17(2):277–82. doi: 10.1038/sj.leu.2402765.
35. Vardiman J., Thiele J., Arber D. et al. The 2008 revision of the WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009;114(5):937–51. doi: 10.1182/blood-2009-03-209262.
36. Hasegawa D. The current perspective of low-grade myelodysplastic syndrome in children. *Int J Hematol* 2016;103(4):360–4. doi: 10.1007/s12185-016-1965-7.
37. Осипова А.А., Семенова Е.В., Морозова Е.В. и др. Эффективность трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с различными по интенсивности режимам кондиционирования у детей и подростков с миелодиспластическим синдромом. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2017;4(2):70–7. [Osipova A.A., Semenova E.V., Morozova E.V. et al. Efficacy allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with different conditioning regimens in pediatric myelodysplastic syndrome. Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2017;4(2):70–7. (In Russ.)]. doi: 10.17650/2311-1267-2017-4-2-70-77.
38. Масчан М.А., Хачатрян Л.А., Скворцова Ю.В. и др. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при ювенильном миеломоноцитарном лейкозе: анализ опыта одного центра и обзор литературы. Онкогематология 2011;(1):45–55. [Maschan M.A., Khachatryan L.A., Skvortsova Yu.V. et al. Hematopoietic stem cell transplantation in juvenile myelomonocytic leukemia: analyse one centre experience and literature review. Onkogematologiya = Oncohematology 2011;(1):45–55. (In Russ.)].
39. Castleberry R., Emanuel P., Zuckerman K. et al. A pilot study of isotretinoin in the treatment of juvenile chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1994;331(25):1680–4. doi: 10.1056/NEJM199412223312503.
40. Хачатрян Л.А., Масчан М.А., Самочатова Е.В. и др. Дифференцировочная терапия с использованием 13-цис-Ретиноевой кислоты и низких доз цитозин-арабинозида у детей с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом. Онкогематология 2008;(1–2):34–8. [Khachatryan L.A., Maschan M.A., Samochatova E.V. et al. Differentiation therapy using 13-cis-retinoic acid and low doses of cytosine-arabidose in children with juvenile myelomonocytic leukemia. Onkogematologiya = Oncohematology 2008;(1–2):34–8. (In Russ.)].
41. Bergstraesser E., Hasle H., Rogge T. et al. Non-hematopoietic stem cell transplantation treatment of juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis and definition of response criteria. *Pediatr Blood Cancer* 2007;49(5):629–33. doi: 10.1002/pbc.21038.
42. Овечкина В.Н., Бондаренко С.Н., Морозова Е.В. и др. Острый миелобластный лейкоз и миелодиспластический синдром: применение азациитидина с профилактической и превентивной целью после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Клиническая онкогематология 2017;10(1):45–55. [Ovechkina V.N., Bondarenko S.N., Morozova E.V. et al. Acute myeloblastic leukemia and myelodysplastic syndrome: the use of azacitidine with a prophylactic and preventive purpose after allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells. Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology 2017;10(1):45–55. (In Russ.)].
43. Yang H., Bueso-Ramos C., DiNardo C. et al. Expression of PD-L1, PD-L2, PD-1 and CTLA4 in myelodysplastic syndromes is enhanced by treatment with hypomethylating agents. *Leukemia* 2014;28(6):1280–8. doi: 10.1038/leu.2013.355.
44. Locatelli F., Nöllke P., Zecca M. et al.; European Working Group on Childhood MDS; European Blood and Marrow Transplantation Group. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in children with juvenile myelomonocytic leukemia (JMML): results of the EWOG-MDS/EBMT trial. *Blood* 2005;105(1):410–9. doi: 10.1182/blood-2004-05-1944.
45. Phillips C.L., Davies S.M., McMasters R. et al. Low dose decitabine in very high risk relapsed or refractory acute myeloid leukaemia in children and young adults. *Br J Haematol* 2013;161(3):406–10. doi: 10.1111/bjh.12268.
46. Cseh A., Niemeyer C.M., Yoshimi A. et al. Bridging to transplant with azacitidine in juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis of the EWOG-MDS study group. *Blood* 2015;125(14):2311–3. doi: 10.1182/blood-2015-01-619734.

Статья поступила в редакцию: 01.08.2018. Принята в печать: 15.08.2018.
Article was received by the editorial staff: 01.08.2018. Accepted for publication: 15.08.2018.

Ситуационный анализ проблем и перспектив в области детской гематологии-онкологии на территории стран СНГ: опыт совместной рабочей группы

А. Агульник¹, К.И. Киргизов², Я.А. Янгутова², Г.М. Муфтахова², С.А. Коган², Г.И. Серик²,
Л. Робинсон¹, Т.Г. Серик², С.Р. Варфоломеева², К. Родригез-Галиндо¹, А.Г. Румянцев²

¹Детский исследовательский госпиталь Святого Иуды; США, 38105-2794, Теннесси, Мемфис, ул. Дэнни Томаса, 262;

²ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

Контактные данные: Кирилл Игоревич Киргизов kirill.kirgizov@fnkc.ru

Актуальность. Непрерывная работа в области оптимизации подходов к диагностике и лечению злокачественных новообразований (ЗНО) у детей способствовала росту общей выживаемости (ОВ) до 80 % и выше в развитых странах. В свою очередь в странах с ограниченными ресурсами имеются затруднения, связанные с доступностью медицинской помощи, что обуславливает гораздо более низкую ОВ. Ключевыми параметрами в увеличении ОВ являются улучшение доступности диагностики и лечения, применение передовых протоколов терапии, ранняя диагностика и другие аспекты. Все эти вопросы возможно решить в рамках рабочей группы с привлечением поддержки руководства стран.

В статье отражены результаты работы группы экспертов по вопросам детской онкологии за первое полугодие 2018 г. по анализу ситуации в области детской гематологии и онкологии стран Содружества Независимых Государств (СНГ).

Целью анализа явилось определение проблем и перспектив развития в области детской гематологии-онкологии на территории стран СНГ.

Материалы и методы. Анализ проводился в 2 этапа: 1. Онлайн-встречи в феврале–апреле 2018 г. 2. Мастер-класс в Москве на площадке Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева (НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева) 23–25 апреля 2018 г. Инициаторами формирования рабочей группы выступили Всемирная организация здравоохранения, Детский исследовательский госпиталь Святого Иуды, НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и Национальное общество детских гематологов и онкологов. Анализ проводился с использованием технологии SWOT (*S* – сильные стороны (*strengths*), *W* – слабые стороны (*weaknesses*), *O* – возможности (*opportunities*) и *T* – угрозы (*threats*)), с помощью которой были определены сильные и слабые стороны, потенциальные угрозы и перспективы развития для каждой из стран-участниц анализа и для СНГ в целом. Кроме того, были получены данные по заболеваемости ЗНО у детей в странах-участницах и намечены перспективные направления для развития. На мастер-классе в Москве были сформированы 4 рабочие группы по следующим направлениям: научная работа, организация здравоохранения, развитие образовательных технологий и внедрение технологий, направленных на улучшение практической помощи пациентам.

Результаты. Проведена оценка ситуационных анализов 11 стран СНГ, которые показали различный уровень развития детской гематологии-онкологии, связанный с различиями в организации системы детского здравоохранения. Тем не менее определены ключевые пути развития службы детской гематологии и онкологии в регионе: развитие ранней диагностики и формирование онкологической настороженности, формирование единых подходов к диагностике и лечению на базе мультицентровых протоколов, проработка единых подходов к регистрации и учету детей со ЗНО, создание единых образовательных программ для среднего и врачебного персонала, дальнейшая проработка шагов по оптимизации системы детского здравоохранения.

Заключение. Было показано, что, несмотря на различия в организации службы детской гематологии-онкологии, в рамках рабочей группы удалось определить общие проблемы и перспективы развития. Были сформированы конкретные предложения, отраженные в резолюции мастер-класса и определены дальнейшие этапы работы совместной рабочей группы.

Ключевые слова: дети, онкология, гематология, страны с ограниченными ресурсами, развитие здравоохранения

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-36-42

Situation analysis of problems and prospects of the pediatric hematology-oncology in the CIS countries: the experience of a joint working group

A. Agulnik¹, K.I. Kirgizov², Ya.A. Yangutova², G.M. Muftakhova², S.A. Kogan², G.I. Serik²,
L. Robinson¹, T.G. Serik², S.R. Varfolomeeva², C. Rodriguez-Galindo¹, A.G. Rumyantsev²

¹St. Jude Children's Research Hospital; 262 Danny Thomas Place, Memphis, Tennessee, 38105-2794, USA;

²Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia;
1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia

Relevance. Continuous work in the field of optimization of approaches to the diagnosis and treatment of malignant neoplasms (MNP) in children has contributed to increase in overall survival (OS) to 80 % and higher in developed countries. Whereas in resource-limited countries

there are some difficulties in access to the medical care leading to significantly lower OS. The key parameters in the improvement of the OS are improving the accessibility of diagnosis and treatment, application of advanced protocols of therapy, early diagnosis and other aspects. All these issues can be solved within the working group with the assistance of the leadership of the countries.

The article reflects the results of the work of the expert group on children's oncology for the first half of 2018 on the analysis of the situation in the field of pediatric hematology and oncology of the Commonwealth of Independent countries (CIS).

The view to analyzing has been the identification of the problems of the pediatric hematology-oncology in the CIS countries.

Materials and methods. It was a two steps analysis: 1. There has been an online meeting in February–April, 2018. 2. There has been a master class in Moscow at the venue of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology on April, 23–25, 2018. The initiators of the formation of the working group were World Health Organization, Children's research hospital of St. Jude, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology and National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists. The analysis has been carried out with the use of SWOT technology (S – strengths, W – weaknesses, O – opportunities and T – threats) by which have been identified strengths and weaknesses, potential threats and development prospects for each of the participating countries of the analysis and for the CIS in general. What is more, data on the incidence of MNP in children among the member States were received and outlined the promising avenues for the development. On the master class in Moscow there have been formed 4 working groups in the following areas: scientific work, health organization, developing of the educational technologies and introducing technologies aimed at improving the practical support for the patients.

Results. Situation analyses of 11 CIS countries have been reviewed and it showed a different level of the development of pediatric hematology-oncology related to differences in the organization of the children's health care system. Nevertheless, the key ways of the development of the service of pediatric hematology and oncology in the region have been determined: the development of early diagnosis and formation of oncological alertness, the development of uniform approaches to diagnosis and treatment based on the multicentre protocols, elaboration of the unified approaches to registering and recording children with MNP, creation of the unified educational programs for secondary and medical personnel, further elaboration of steps to optimize the children's health care system.

Conclusion. It has been shown that despite the difference in the organization of the pediatric hematology-oncology service the joint working group had succeed in determining the common problems and development prospects. There have been set out the specific proposals reflected in the master class resolution and have been identified subsequent stages of the work for the joint working group.

Ключевые слова: children, oncology, hematology, countries with limited resources, health development

Актуальность

Сегодня более 200 000 детей по всему миру ежегодно заболевают злокачественными новообразованиями (ЗНО) [1]. Оптимизация подходов к ранней диагностике и лечению детей с гематологическими и онкологическими заболеваниями позволила добиться значительных успехов за последние десятилетия – сегодня в развитых странах выздоравливают более 80 % детей со ЗНО, эти результаты были достигнуты благодаря внедрению мультицентровых исследований, оптимизации сопроводительной терапии, ранней диагностике ЗНО и развитию иммунотерапии рака [2]. На сегодняшний день 84 % ЗНО у детей в возрасте от 0 до 14 лет приходится на страны с низким и средним уровнем дохода населения, где проживает почти 90 % детей [3]. Согласно данным литературы, около 91 000 смертей от ЗНО среди детей приходится на развивающиеся страны, что составляет 94 % общего уровня смертности от ЗНО среди маленьких пациентов [3]. Это означает, что именно в странах с ограниченными ресурсами сегодня проживает основная доля детей, страдающих ЗНО. Относительный рост числа случаев ЗНО в этих странах связан с сокращением смертности от инфекционных заболеваний в развивающихся странах и со старением населения в развитых странах. Кроме того, имеются данные о более высоком уровне заболеваемости ЗНО у недоношенных детей [4]. Так, в 1970 г. лишь 15 % вновь зарегистрированных случаев онкологических заболеваний у детей и взрослых

в мире были зарегистрированы в развивающихся странах, в 2008 г. доля возросла до 56 %, а к 2030 г. по прогнозам она составит 70 % [5].

Оценка затрат на лечение ЗНО у детей и взрослых показывает, что 95 % из них на диагностику и лечение тратится развитыми странами, тогда как на развивающиеся страны приходится лишь 5 % мировых затрат – это значит, что 80 % детей с онкологическими заболеваниями фактически лишены возможности получить качественную медицинскую помощь [6]. Подобное распределение связано не только с различием в доходах стран, но и с проблемами организации детского здравоохранения.

Несмотря на то, что число детей со ЗНО несравнимо меньше числа взрослых, страдающих онкологическими заболеваниями, положительный экономический потенциал, связанный с успешным лечением маленьких пациентов со ЗНО, гораздо выше – излечившийся ребенок способен к активному труду на протяжении всей жизни, может иметь здоровое потомство [7].

Сегодня сформировалась тенденция, когда для улучшения результатов лечения ЗНО у детей ряд стран объединяются в регионы, связанные общими закономерностями развития, например Европа, Северная Америка, страны Азии и другие. Одним из значимых регионов является Содружество Независимых Государств (СНГ). В него входят страны, которые объединены общей историей и единым языком межгосу-

дарственного общения. В различном статусе членами и наблюдателями в СНГ являются: Азербайджан, Армения, Беларусь, Грузия, Казахстан, Киргизия, Молдавия, Монголия, Россия, Таджикистан, Туркменистан, Узбекистан и Украина.

Одним из продвинутых форматов ситуационного анализа является так называемый метод SWOT, который заключается в выявлении внутренних и внешних факторов, определяющих проблемы и перспективы развития. SWOT – аббревиатура, которая включает следующие компоненты: сильные стороны (S – strengths), слабые стороны (W – weaknesses), возможности (O – opportunities) и угрозы (T – threats) [8]. SWOT был впервые использован для стратегического управления и бизнес-анализа в 1960-х годах, его универсальность позволяет эффективно применять его в здравоохранении для сбора и оценки ключевых параметров [9]. Работа в рамках SWOT строится на определении указанных выше параметров с последующим анализом и принятием дальнейших решений, данный подход показал свою эффективность и в здравоохранении [10, 11].

Целью данного исследования было описание текущей ситуации в области детской гематологии-онкологии стран СНГ с описанием проблем, перспектив и определение совместных проектов, направленных на устранение выявленных проблем в целях улучшения исходов лечения у детей со ЗНО.

Материалы и методы

Исследование заключалось в осуществлении анализа текущего состояния оказания помощи детям с гематологическими и онкологическими заболеваниями в странах СНГ. Аналитическая работа была разделена на 2 этапа:

1. Заполнение данных в едином формате для ситуационного анализа по странам (в формате SWOT) и их обсуждение в рамках онлайн-конференций (февраль–апрель 2018 г.).

2. Повторное обсуждение ситуационного анализа и определение единых для региона параметров SWOT на очном мастер-классе (23–25 апреля 2018 г. в Москве на площадке Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева (НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева)), формирование совместных проектов (инициатив) на основе объединенного SWOT-анализа.

Инициаторами формирования рабочей группы и выполнения SWOT-анализа явились Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), Детский исследовательский госпиталь Святого Иуды, НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и Национальное общество детских гематологов и онкологов (НОДГО).

Данные, полученные в рамках SWOT-анализа, были объединены и проанализированы для определения закономерностей и получения ориентировочных данных по заболеваемости и особенностям оказания помощи детям, страдающим ЗНО, на территории стран СНГ. Для формирования совместных проектов (инициатив) на мастер-классе в Москве были определены 4 рабочие группы по следующим направлениям: научная работа, организация здравоохранения, развитие образовательных технологий и внедрение технологий, направленных на практическую помощь пациентам. В рамках рабочих групп проводилось определение ключевых направлений развития детской онкологии в регионе. С данной целью состоялся ряд сессий, которые включали обсуждение результатов SWOT-анализа по темам рабочих групп, последующее формирование предложений по определению списка предлагаемых проектов, определению наиболее приоритетных из них и последующих их проработок. Каждый из указанных выше шагов обсуждался всеми участниками встречи.

Результаты

Всего на этапе онлайн-конференций было организовано 9 встреч, на которых были представлены SWOT-анализы 11 стран СНГ. В мероприятии, проходившем в Москве, приняли участие более 60 делегатов (в том числе 21 делегат из 11 стран СНГ).

Анализ базовых показателей стран СНГ определил, что детское население стран-участниц (в возрасте до 18 лет) на текущий момент составляет около 70 млн человек. Ежегодно в 11 странах, принимавших участие во встрече, ЗНО заболевают ориентировочно 7000 человек (табл. 1). Принимая во внимание заболеваемость тяжелыми незлокачественными гематологическими недугами и потенциальное участие в работе Грузии и Украины, число детей, которые вовлечены в оказание помощи врачами-детскими гематологами-онкологами, достигает 12 000 в год.

Проанализированы особенности оказания помощи детям со ЗНО с учетом формата организации службы детской гематологии и онкологии стран СНГ (табл. 2). Общее число специалистов, оказывающих помощь детям с гематологическими и онкологическими заболеваниями, составляет 1366 человек, они оказывают помощь детям на 5378 койках. Отмечено, что в ряде стран отмечается недостаток врачей смежных специальностей – радиологов, хирургов, специалистов паллиативной помощи. Кроме того, обращает на себя внимание небольшое число специализированных коек для реабилитации детей, излеченных от ЗНО.

В рамках анализа оценен показатель заболеваемости, который варьировал от 3,0 до 16,0 на 100 000

Таблица 1. Базовые показатели в странах СНГ, принявших участие в исследовании

Table 1. Baseline indicators in the CIS countries that participated in the research

Показатель Parameter	Страна Country	АРМ AM	АЗЕ AZ	БЕЛ BY	КАЗ KZ	КИР KG	МОЛ MD	МОН MN	РФ RU	ТАД TJ	ТУР TM	УЗБ UZ	Итого Total sum
Население (млн человек) Population (million people)		2986	9,809	9,498	18,000	6,216	3,5	3,119	146	9,014	5,563	32,5	246,205
Детское население (млн человек) Child population (million people)		6958	2548	2,0	5,5	2,263	0,68	1,179	30	3,954	1,777	12	68,859
Случаи ЗНО у детей в год (средний показатель) Cases of MNP in children in the year (average index)		75	400	300	550	230	95	122	4100	200	212	775	7059

Таблица 2. Организационные аспекты работы службы детской гематологии и онкологии стран СНГ

Table 2. Organizational aspects of pediatric hematology and oncology service of CIS countries

Показатель Parameter	Страна Country	АРМ AM	АЗЕ AZ	БЕЛ BY	КАЗ KZ	КИР KG	МОЛ MD	МОН MN	РФ RU	ТАД TJ	ТУР TM	УЗБ UZ	Итого Total sum
Количество детских специалистов гематологов и онкологов Number of children's specialists in hematology and oncology		12	20	52	84	13	9	10	1050	11	15	90	1366
Число детских коек в области гематологии- онкологии (всего) Number of children's beds in the field of hematology- oncology (total amount)		48	120	253	422	65	45	35	3700	80	75	535	5378

детского населения. Это говорит о большом различии в уровне выявляемости ЗНО у детей с учетом должного уровня, составляющего 13–14 случаев на 100 000 детей. Кроме того, можно говорить о недостатках в регистрации пациентов за счет отсутствия детских канцер-регистров в большинстве стран СНГ.

Необходимо отметить, что ориентировочные цифры заболеваемости (в %) по группам ЗНО соотносятся с таковыми по данным международных регистров [12]. Тем не менее отмечается высокая заболеваемость опухолями щитовидной железы в Республике Беларусь, связанная с аварией на Чернобыльской АЭС, и другие особенности.

Отдельно специалисты оценили общую выживаемость (ОВ) для всех ЗНО и острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) как наиболее показательного заболевания. Было показано, что ОВ варьировала от 40 до 80 %, а ОВ при ОЛЛ – от 70 до 88 % в сравнении с 80 % и 85–90 % соответственно в развитых странах [13].

Отдельного упоминания заслуживают отказы от лечения – в целом показатель был около 2–3 %, но

в одной из стран отказы составили 46 % (основные причины – боязнь ЗНО и финансовые проблемы).

Специалисты отметили, что не во всех странах доступны необходимые ресурсы для диагностики и лечения. Так, в ряде стран СНГ недоступны проточная цитометрия; иммуногистохимия; позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией; трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) и лучевая терапия для детей. В странах СНГ в основном используются протоколы лечения, ориентированные на немецкие группы. Среди протоколов, применяемых сразу в нескольких странах, отмечены ALL-MB-2015 [14], B-NHL-2010M [15], NB-2004M [16] и ряд других.

В целях выявления принципиальных участников проектов по оптимизации помощи детям с гематологическими и онкологическими заболеваниями специалисты определили объем финансирования в зависимости от его источника. Отмечено, что в некоторых странах государство берет на себя полное обеспечение, а в ряде стран активное участие играют благо-

творительные фонды и другие источники (например, гранты, финансирование от лечения пациентов из иных стран и др.).

Нами были проанализированы все представленные SWOT-анализы по странам СНГ и определены общие закономерности, характерные для всего региона (табл. 3).

На основании проведенного SWOT-анализа были выявлены основные проблемы в области детской гематологии-онкологии в странах СНГ:

- в ряде случаев отсутствие данных о заболеваемости и результатах лечения ЗНО у детей;
- недостаток в финансировании диагностики и лечения детей с гематологическими и онкологическими заболеваниями;
- различный уровень доступности основных препаратов, высокотехнологичных методов лечения, сопроводительной терапии, реабилитации и паллиативной помощи;
- отсутствие единых стандартов лечения и клинических рекомендаций для многих заболеваний;
- низкий уровень онкологической настороженности в профессиональном сообществе и связанная с этим поздняя диагностика ЗНО у детей;
- отсутствие единых подходов в образовании врачей и медицинских сестер.

По результатам анализа выявленных проблем был обсужден ряд проектов, из них было выделено 4 ключевых (по указанным выше направлениям):

1. Научные исследования: создание единой системы учета ЗНО у детей (детский канцер-регистр) для стран СНГ.

2. Аспекты медицинской помощи: организация и развитие паллиативной помощи в странах СНГ.

3. Образование: единая образовательная программа для медицинских сестер в области детской гематологии-онкологии в странах СНГ (с последующим ее расширением для врачей).

4. Организация детского здравоохранения: формирование единых подходов к организации помощи детям со ЗНО на территории СНГ.

Указанные выше предложения были оформлены в качестве проектов для последующего обсуждения в рамках онлайн-конференций и второго мастер-класса. По завершению данного аналитического этапа были приняты следующие документы: официальная резолюция для министерств здравоохранения стран Содружества, план деятельности совместной рабочей группы по детской гематологии-онкологии стран СНГ.

Обсуждение

Детская гематология-онкология является одной из значимых причин смертей в детской популяции, в особенности в странах с ограниченными ресурсами.

Для них характерна более высокая смертность в сравнении с развитыми странами. Наш анализ показал, что в странах СНГ проживает около 3 % детского населения земного шара и часть из них лишена полного доступа к передовым достижениям в борьбе с гематологическими и онкологическими заболеваниями.

Несмотря на различие в подходах и доступности помощи детям со ЗНО, нами были выделены основные проблемы в диагностике и лечении детских гематологических и онкологических заболеваний в странах Содружества, к которым относятся отсутствие онкологической настороженности, современных методов диагностики и лечения, единых терапевтических подходов и клинических рекомендаций, затруднения в получении паллиативной помощи и в организации образования врачей и медицинских сестер.

Уникальность региона заключается в возможности объединения стран для борьбы со ЗНО у детей на базе общих подходов к организации системы здравоохранения и общей истории, возможности передачи опыта ряда стран в формировании единых подходов к организации мультицентровых исследований, подготовке клинических рекомендаций и организации образовательных программ.

Это становится крайне важным, так как выполненный анализ показал значимые различия в странах СНГ по ряду ключевых параметров. Так, в ряде стран отсутствуют базовые диагностические технологии (иммуногистохимические исследования, цитогенетика и др.), что делает невозможным выполнение на текущий момент единых протоколов. Этот вопрос может быть решен в рамках налаживания кооперации в регионе. Решение проблем невозможно без участия руководства стран СНГ и развития системы детского здравоохранения.

Требуется урегулирование и других вопросов, связанных с необходимостью создания единых программ, направленных на раннюю диагностику ЗНО у детей, так как многие специалисты отметили эту проблему как одну из ведущих в регионе. С вопросом онкологической настороженности тесно связан и другой вопрос – отсутствие знаний о ЗНО у детей и их родителей и соответственно страх перед онкологическим заболеванием у ребенка и связанные с этим отказы от лечения. Эта проблема характерна для многих стран с ограниченными ресурсами, что показано в ряде работ [17].

Требуется наладить учет и регистрацию детей со ЗНО в странах СНГ для определения потребностей и фиксации результатов терапии – этот вопрос связан не только с необходимостью статистической обработки и представления данных, но и с планированием затрат. Это ясно демонстрирует наше исследование, так как представленные популяционные данные в нем являются усредненными и требуют уточнения в рамках реализации проекта детского канцер-регистра стран СНГ.

Таблица 3. Объединенный SWOT-анализ по странам СНГ (общие закономерности)

Table 3. Combined SWOT-analysis for CIS countries (common patterns)

Сильные стороны <i>Strengths</i>	Возможности <i>Capabilities</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Единые подходы к организации детского здравоохранения <i>Unified approaches to the organization of the children's health care</i> • Схожие подходы к диагностике и лечению ЗНО у детей (в ряде стран — единые национальные рекомендации) <i>Similar approaches to the diagnosis and treatment of the children's MNP (in a number of countries — unified national recommendations)</i> • Поддержка и финансирование со стороны государства <i>Support and funding from the government</i> • Высокомотивированные специалисты <i>Highly motivated specialists</i> • Возможность использовать единый язык общения <i>Ability to use the common language for communication</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Создание совместных программ в области развития системы детского здравоохранения <i>Establishment of joint programs in the development of the children's health care system</i> • Создание единой системы учета детей со ЗНО (детский канцер-регистр) <i>Establishment of a single recording system of the children with MNP (children's cancer register)</i> • Развитие ТГСК и других высокотехнологичных методов лечения <i>Development of the hematopoietic stem cell transplantation and other hi-tech treatment methods</i> • Увеличение числа мультицентровых клинических исследований с включением в них всех стран СНГ <i>Increase in the number of the multicentre clinical researches with the inclusion of all CIS countries</i> • Создание совместных образовательных программ <i>Creation of joint educational programs</i>
Слабые стороны <i>Weak sides</i>	Угрозы <i>Threats</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Не всегда должное финансирование службы детской гематологии-онкологии <i>The financing of the pediatric hematology-oncology is not always properly</i> • Нехватка доступа к высокотехнологичным методам диагностики и лечения, ряду лекарственных препаратов <i>There is lack of access to hi-tech diagnosis and treatment methods and to a number of medicines</i> • Отсутствие единых стандартов лечения для многих заболеваний <i>There are no common treatment standards for many diseases</i> • Низкая академическая активность <i>Low academic activity</i> • Нехватка специалистов <i>Shortage of specialists</i> • Отсутствие центров реабилитации и паллиативной помощи детям, в ряде стран — низкий уровень сопроводительной терапии <i>There are no reconditioning centers and children's palliative care centers, and in a number of countries there is a low level of the accompanying therapy</i> • Поздняя диагностика онкологических заболеваний у детей <i>Late diagnosis of the oncological diseases in children</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Финансовые трудности (снижение зарплат, нехватка медикаментов и расходных материалов) <i>Financial difficulties (wage reduction, lack of medicines and consumables)</i> • Уменьшение государственной поддержки <i>Reduced government support</i> • Усиление государственного контроля (судебное преследование) <i>Strengthening of state control (prosecution)</i>

Остро стоит вопрос объединения специалистов в единое сообщество с научной и образовательной целью. Требуется организация единого образовательного пространства для врачей, медицинских сестер и специалистов смежных профилей (паллиативная помощь, хирургия и радиология), что также подтверждается международным опытом [18].

Наш опыт показал, что в рамках рабочей группы Содружества по детской онкологии возможна трансляция опыта в достижении успеха стран, показатели которых близки к таковым в развитых государствах, на страны, требующие улучшения ситуации в лечении ЗНО у детей. Наша цель — продолжить совместную работу всех стран региона для победы над детскими гематологическими и онкологическими заболеваниями.

Заключение

В рамках анализа ситуации в оказании помощи детям с гематологическими и онкологическими заболеваниями в странах СНГ было показано, что, несмотря на различия в организации службы детской гематологии-онкологии, были определены общие проблемы и перспективы развития в регионах.

Анализ позволил выделить ключевые проекты в сфере организации здравоохранения, образования, научной работы и медицинской помощи детям.

Были сформированы конкретные предложения, отраженные в резолюции мастер-класса для министерств здравоохранения стран СНГ, и определены дальнейшие этапы работы совместной рабочей группы.

Перспективами дальнейшего сотрудничества являются создание совместных программ в области

развития системы детского здравоохранения, создание единой системы учета детей со ЗНО (детский канцер-регистр), развитие высокотехнологичных методов диагностики и лечения, организация мультицентровых клинических исследований (равно как и клинических рекомендаций и стандартов), включение в них всех стран СНГ и формирование единого образовательного межгосударственного пространства.

Международное партнерство, которое ставит своей задачей снижение детской смертности от гематологических и онкологических заболеваний в странах

СНГ, является залогом дальнейшей эффективной работы.

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

The study was performed without external funding.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Hudson M.M., Link M.P., Simone J.V. Milestones in the curability of pediatric cancers. *J Clin Oncol* 2014;32(23):2391–7. doi: 10.1200/JCO.2014.55.6571.
- Rodriguez-Galindo C., Friedrich F., Alcasabas P. et al. Toward the Cure of All Children With Cancer Through Collaborative Efforts: Pediatric Oncology As a Global Challenge. *J Clin Oncol* 2015;33(27):3065–73. doi: 10.1200/JCO.2014.60.6376.
- Pritchard-Jones K., Pieters R., Reaman G.H. et al. Sustaining innovation and improvement in the treatment of childhood cancer: lessons from high-income countries. *Lancet Oncology* 2013;14(3):e95–e103. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70010-X.
- Agha M.M., Williams J.I., Marrett L. et al. Congenital abnormalities and childhood cancer. *Cancer* 2005;103(9):1939–48. doi: 10.1002/cncr.20985.
- Ferlay J., Shin H.R., Bray F. et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;127(12):2893–917. doi: 10.1002/ijc.25516.
- Farmer P., Frenk J., Knaul F.M. et al. Expansion of cancer care and control in countries of low and middle income: a call to action. *Lancet* 2010;376(9747):1186–93. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61152-X.
- Howard S.C., Metzger M.L., Wilimas J.A. et al. Childhood cancer epidemiology in low-income countries. *Cancer* 2008;112(3):461–72. doi: 10.1002/cncr.23205.
- Christian O., Idoko O., Nzekwe J. Organization's stability and productivity: the role of SWOT analysis an acronym for strength, weakness, opportunities and threat. *Int J Innovat Appl Res* 2014;2–9:23–32.
- van Wijngaarden J.D., Scholten G.R., van Wijk K.P. Strategic analysis for health care organizations: the suitability of the SWOT-analysis. *Int J Health Plann Manage* 2012;27(1):34–49. doi: 10.1002/hpm.1032.
- Buttigieg S.C., Schuetz M., Bezzina F. Value Chains of Public and Private Healthcare Services in a Small EU Island State: A SWOT Analysis. *Front Public Health* 2016;4:201. doi: 10.3389/fpubh.2016.00201.
- Niederwieser D., Baldomero H., Szer J. et al. Hematopoietic stem cell transplantation activity worldwide in 2012 and a SWOT analysis of the Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation Group including the global survey. *Bone Marrow Transplant* 2016;51(6):778–85. doi: 10.1038/bmt.2016.18.
- Ferlay J., Soerjomataram I., Ervik M. et al. GLOBOCAN 2012 v.1.0. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013.
- Pui C.H., Evans W.E. A 50-year journey to cure childhood acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol* 2013;50(3):185–96. doi: 10.1053/j.seminhematol.2013.06.007.
- Румянцев А.Г., Варфоломеева С.Р., Грачёв Н.С. и др. Принципы и инструменты доказательной медицины в детской гематологии/онкологии. *Доктор.ру* 2015;10(111):6–13. [Rumyantsev A.G., Varfolomeeva S.R., Grachev N.S. et al. Principles and tools of evidence-based medicine in pediatric hematology/oncology. *Doctor.ru* 2015;10(111):6–13. (In Russ.)].
- Смирнова Н.В., Мякова Н.В., Белогурова М.Б. и др. Лечение зрелоклеточных В-клеточных неходжкинских лимфом с использованием комбинированной иммунохимиотерапии: возможности оптимизации терапевтической стратегии. *Онкогематология* 2015;(4):15–24. [Smirnova N.V., Myakova N.V., Belogurova M.B. et al. Treatment of B-cells non-Hodgkin lymphomas with combined immunochemotherapy: ability to treatment optimization. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2015;(4):15–24. (In Russ.)]. doi: 10.17650/1818-8346-2015-10-4-15-24.
- Kachanov D., Muftakhova G., OIshanskaya Y. et al. Neuroblastoma in infants < 12 month: single center experience in Russia. *Pediatric Blood Cancer* 2013;60(Issue S3):114–5.
- Mostert S., Arora R.S., Arreola M. et al. Abandonment of treatment for childhood cancer: position statement of a SIOP PODC Working Group. *Lancet Oncol* 2011;12(8):719–20. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70128-0.
- Rodriguez-Galindo C., Friedrich P., Morrissey L., Frazier L. Global challenges in pediatric oncology. *Curr Opin Pediatr* 2013;25(1):3–15. doi: 10.1097/MOP.0b013e32835c1cbe.

Статья поступила в редакцию: 02.08.2018. Принята в печать: 20.08.2018.
Article was received by the editorial staff: 02.08.2018. Accepted for publication: 20.08.2018.

Модельные регуляторные сети для белков, активируемых и ингибируемых в процессе индуцированной гранулоцитарной дифференцировки

С.Е. Новикова, О.В. Тихонова, Л.К. Курбатов, И.В. Вахрушев, В.Г. Згода
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»;
Россия, 119121, Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 8

Контактные данные: Светлана Евгеньевна Новикова novikova.s.e3101@gmail.com

Дифференцирующая терапия с использованием полностью транс-ретиноевой кислоты (ATRA) с успехом применяется для лечения острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ). В то же время развитие резистентности и синдрома дифференцировки в качестве побочного эффекта является основанием для более глубокого исследования молекулярной основы дифференцирующей терапии и поиска альтернативных подходов к лечению. Используя обработанные ATRA-клетки линии HL-60 в качестве модельного объекта, мы определили 76 активируемых и 101 ингибируемый белок с помощью масс-спектрометрического профилирования без использования стабильных изотопных меток. Применив биоинформатический подход, мы получили модельные схемы регуляции ингибируемых и активируемых белков, ключевыми молекулами которых оказались деацетилаза гистонов 1 (HDAC1) и транскрипционный корепрессор RNF96 соответственно. Обе предсказанные ключевые молекулы были зарегистрированы в клетках линии HL-60 на уровне белка наряду с молекулами Cdk2, DNA-PKcs, Ubc9 и HMG1Y в модельной схеме, регулирующей активируемый кластер белков, и протеинкиназой p38 альфа, вовлеченной в схему регуляции ингибируемых белков. Целевое фармакологическое воздействие на эти молекулы может иметь антипролиферативный эффект и представлять альтернативный терапевтический подход для борьбы с ОПЛ.

Ключевые слова: ATRA, клетки линии HL-60, гранулоцитарная дифференцировка, масс-спектрометрия, поиск ключевых регуляторов, транскрипционные факторы

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-43-55

Model regulatory networks for proteins that are activated and inhibited in the process of induced granulocyte differentiation

S.E. Novikova, O.V. Tikhonova, L.K. Kurbatov, I.V. Vakhrushev, V.G. Zgoda

V.N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry; 10, Bldg. 8 Pogodinskaya St., Moscow, 119121, Russia

Differentiation therapy with all trans retinoic acid (ATRA) is successfully used for the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL). At the same time, the development of the resistance and the differentiation syndrome as a side effect is a reason to explore and examine in greater depth the molecular basis of the differentiation therapy and to search the alternative paradigm of the treatment. By the use of ATRA-treated HL-60 cell line as a model object, we have estimated 76 activated and 101 inhibited proteins by the label-free mass-spectrometric profiling. By applying the bioinformatic approach we have obtained model schemes of regulation of the inhibited and activated proteins whose key molecules turn out to be the histone deacetylase 1 (HDAC1) and the transcriptional corepressor (RNF96) respectively. Both of predicted key molecules have been detected in HL-60 cell line at the proteome level in conjunction with Cdk2, DNA-PKcs, Ubc9 and HMG1Y molecules in the model scheme regulating the activated protein cluster and the protein kinase p38 alpha involved in the regulating scheme of the inhibited proteins. The pharmacological targeting of these molecules may have an anti-proliferative effect and provide the alternative approach to APL treatment.

Key words: ATRA, HL-60 cells, granulocyte differentiation, mass spectrometry, key regulators search, transcription factors

Введение

Полностью транс-ретиноевая кислота (ATRA) индуцирует дифференцировку промиелоцитарных клеток в функциональные гранулоциты, что лежит в основе терапии острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ). Одной из основных проблем дифференцирующей терапии является развитие резистентности к пре-

паратам ATRA и возникновение опасного для жизни осложнения — синдрома дифференцировки. В связи с этим разработка альтернативных ATRA-препаратов является актуальной задачей. В то же время поиск потенциальных мишеней, воздействуя на которые можно было бы достигать противоопухолевого эффекта, является трудоемким и дорогостоящим процессом.

Омиксные технологии, позволяющие анализировать молекулярный состав биологических объектов с высокой производительностью, являются привлекательными для пилотной стадии поиска биомаркеров и выявления потенциальных терапевтических мишеней [1, 2]. Масс-спектрометрический метод за счет высокого разрешения, чувствительности и точности измерений обеспечивает ревизию белкового состава биологических образцов, в том числе и очень сложных по составу, таких как лизаты клеток или плазма крови [3, 4]. Кроме того, количественное профилирование с использованием масс-спектрометрии позволяет выявить белки, изменение содержания которых отражает биологический ответ на действие фармакологических препаратов, в том числе ATRA [5].

Поскольку большая часть фармакологических веществ активирует или ингибирует молекулы-мишени в клетке, целью данного исследования было выделить кластеры белков, экспрессия которых снижается или повышается в процессе ATRA-индуцированной дифференцировки клеток линии HL-60, и с помощью биоинформатических методов найти для активируемых и ингибируемых дифференциально экспрессирующихся белков регуляторы, которые можно рассматривать в качестве потенциальных терапевтических мишеней.

Клеточная линия HL-60 многие десятилетия используется в качестве модели для исследования молекулярной природы ATRA-индуцированной гранулоцитарной дифференцировки, начиная со времени открытия самого феномена, когда данную линию клеток еще относили к ОПЛ (М3 по классификации FAB) [6]. Стоит отметить, что и после пересмотра классификации клеток линии HL-60 с присвоением типа М2 по классификации FAB (острый миелобластный лейкоз с признаками созревания) [7] данную клеточную модель продолжают использовать для исследования ATRA-индуцированной гранулоцитарной дифференцировки, и в том числе феномена резистентности к ATRA [8, 9].

В данном исследовании мы применили масс-спектрометрическое профилирование с последующим относительным количественным анализом без использования стабильных изотопных меток и поиск ключевых регуляторов в программном обеспечении geneXplain platform для образцов клеток линии HL-60, полученных через 0, 3, 24, 48 и 96 ч после обработки ATRA. Поскольку детекция предсказанных молекул в биологическом объекте на уровне белка отражает адекватность моделирования и служит простейшим способом валидации полученных модельных схем, результаты моделирования были сопоставлены с дополнительными данными масс-спектрометрического анализа цитозольной и ядерной фракции клеток линии HL-60.

Материалы и методы

Культуры клеток

Культура клеток линии HL-60 была получена из криобанка Научно-исследовательского института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича. После размораживания клетки культивировали в ростовой среде (RPMI-1640 с добавлением 10 % фетальной сыворотки крупного рогатого скота, содержащей 100 ед/мл пенициллина, 100 ед/мл стрептомицина и 2 мМ L-глутамин (все реактивы – Gibco), в CO₂-инкубаторе в стандартных условиях (37 °С, 5 % CO₂, 80 % влажности). При достижении концентрации 1 млн кл/мл культуры рассеивали в соотношении 1:3. Подсчет клеток осуществляли в камере Горяева.

Для индукции дифференцировки клетки HL-60 в ростовой среде помещали в культуральные флаконы с площадью дна 75 см² (концентрация клеток – 10 млн кл/мл, 10 мл среды). Затем во флаконы вносили по 5 мл ростовой среды, содержащей ATRA в концентрации 150 мМ/л (конечная концентрация – 50 мМ/л). После этого клетки помещали в CO₂-инкубатор и инкубировали в стандартных условиях в течение 3, 24, 48 либо 96 ч. По окончании клетки трижды отмывали путем центрифугирования с последующим ресуспендированием в 10 мл 0,1 М фосфатно-солевого буфера, после чего замораживали пробирки с осадком в жидком азоте. В качестве контроля, соответствовавшего нулевому сроку инкубации, были использованы клетки, культивированные обычным образом (без добавления ATRA). Эффективность прохождения дифференцировки оценивали по экспрессии поверхностных маркеров CD11b и CD38 методом проточной цитофлуориметрии.

Получение цельного лизата, ядерной и цитозольной фракции клеток HL-60 и пробоподготовка к масс-спектрометрическому анализу

Для протеомного профилирования клетки HL-60, собранные во временных точках 0, 3, 24, 48 и 96 ч после добавления ATRA в 3 биологических повторах, лизировали в буфере, содержащем 3 % дезоксихолат натрия, 100 мМ Tris-HCl, pH = 8,5, таким образом получали цельный лизат. Преимуществом проведенного нами исследования явилось мониторингирование молекулярных изменений в различные временные точки (0, 3, 24, 48 и 96 ч), позволяющее рассматривать процесс ATRA-индуцированной дифференцировки в динамике. В качестве контроля использовались клетки линии HL-60 без обработки ATRA (0 h) на основании протоколов индукции гранулоцитарной дифференцировки для последующего протеомного анализа, описанных ранее в литературе [10–12].

Для получения белков ядерной и цитозольной фракции применяли химическую экстракцию [13].

В полученных образцах цельного клеточного лизата, а также цитозольной и ядерных фракций определяли концентрацию общего белка колориметрическим методом с бидинхониновой кислотой с помощью коммерческого набора Pierce™ BCA Protein Assay Kit (Pierce) в соответствии с рекомендациями производителя.

Гидролитическое расщепление белков осуществляли согласно протоколу FASP (Filter Aided Sample Preparation) [14]. К каждой пробе добавляли раствор трипсина в соотношении: общая масса фермента/общая масса белка 1/100 и инкубировали в течение ночи при температуре 37 °С. По окончании добавляли трипсин в соотношении: общая масса фермента/общая масса белка 1/100 и инкубировали 2 ч при температуре 37 °С. Полученные образцы подвергали масс-спектрометрическому анализу.

Хромато-масс-спектрометрический анализ

Хромато-масс-спектрометрический анализ осуществляли для каждой пробы в 5 технических повторах. Пептидную смесь загружали на обогащающую колонку Zorbax 300SB-C18 (диаметр частиц 5 мкм, 5 × 0,3 мм) (Agilent Technologies) и промывали подвижной фазой С для загрузки и промывки обогащающей колонки, представлявшей собой 5 % раствор ацетонитрила в 0,1 % муравьиной кислоте и 0,05 % трифторуксусной кислоте при скорости потока 3 мкл/мин в течение 5 мин. Пептиды разделяли на аналитической колонке Zorbax 300SB-C18 (диаметр частиц 3,5 мкм, 150 × 75 мкм) (Agilent Technologies) в градиенте подвижной фазы В, представлявшей собой 80 % раствор ацетонитрила в 0,1 % муравьиной кислоты при скорости потока 0,3 мкл/мин. Использовали следующие параметры градиента ацетонитрила: аналитическую колонку промывали подвижной 5 % фазой В в течение 5 мин, после чего линейно увеличивали концентрацию подвижной фазы В до 60 % в течение 80 мин, в течение 5 мин увеличивали концентрацию подвижной фазы В до 100 %, в течение 10 мин промывали аналитическую колонку 100 % подвижной фазой В, в течение 5 мин уменьшали концентрацию подвижной фазы В до 5 %, в течение 15 мин аналитическую колонку уравнивали 5 % подвижной фазой В.

Масс-спектрометрический анализ проводили на гибридном масс-спектрометре Orbitrap Velos (Thermo Scientific), используя масс-анализатор типа орбитрап. Максимальное время накопления 10^6 ионов для получения MS-скана с разрешением 30 000 (для $m/z = 400$) в диапазоне величин $m/z = 300-2000$ в режиме положительной ионизации составляло 50 мс. Пять наиболее интенсивных ионов, зарегистрированных в MS-скане, выбирали для последующей фрагментации, если их абсолютная интенсивность

превышала 5000 относительных единиц. Использовали HCD-тип фрагментации с нормализованной энергией соударения 35 %. Применяли динамическое исключение из тандемного анализа: длительность исключения составляла 90 с после того, как ион хотя бы 1 раз был фрагментирован с получением MS/MS-спектра в течение 30 с. Размер списка исключения составлял 500 ионов. Максимальное время накопления 5×10^4 ионов для получения MS/MS-скана с разрешением 7500 (при $m/z = 400$) в диапазоне величин $m/z = 300-2000$, в режиме положительной ионизации составляло 100 мс.

Идентификация белков и относительный количественный анализ

Для идентификации белков использовали поисковый алгоритм Andromeda, встроенный в программное обеспечение MaxQuant 1.5.5.0 (Max Planck Institute of Biochemistry). В качестве фиксированной модификации аминокислотных остатков использовали карбамидометилирование цистеина, в качестве варибельной модификации – окисление метионина. Толерантность для родительских и дочерних ионов составляла 20 ppm. Для белков и пептидов пороговое значение частоты встречаемости ложноположительных идентификаций (FDR) составило 0,01.

Количественный анализ осуществлялся на основании площади под пиком родительского иона с использованием вычисленной величины LFQ (Label-free Quantification Intensity) с помощью встроенного в MaxQuant алгоритма. Статистический анализ выполнялся в программном обеспечении Perseus 1.6.0.7 (Max Planck Institute of Biochemistry). Сравнивались данные масс-спектрометрического анализа для всех экспериментальных точек (0, 3, 24, 48 и 96 ч). Результаты относительной количественной оценки без использования стабильных изотопных меток на основании площади под пиком прекурсорного иона (LFQ intensity) визуализировали в программном обеспечении Perseus. Для определения белков, содержание которых значимо меняется на протяжении ATRA-индуцированной дифференцировки (временные точки – 0, 3, 24, 48 и 96 ч), проводили многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA p -value $< 10^{-7}$). Для дифференциально экспрессируемых (FDR $< 10^{-7}$) в течение всего периода дифференцировки белков была построена тепловая карта, отражающая количественные изменения белков.

Построение модельных схем в программном обеспечении geneXplain platform

Входными данными для анализа в программном обеспечении geneXplain platform 4.0 служили тестовые (белки активируемого и ингибируемого кластеров) и контрольные (белки, содержание которых не изме-

нялось в процессе ATRA-индуцированной дифференцировки) выборки.

Поиск предпредставленных сайтов связывания транскрипционных факторов (ТФ) в промоторных регионах генов, соответствующих белкам тестовой выборки, был осуществлен с использованием модуля “Site search on gene set” и базы данных TRANSFAC®.

Область поиска в промоторном регионе лежала в диапазоне от +1000 до +100 п. н. от сайта начала транскрипции, при этом для анализа использовались только наиболее подтвержденные промоторы. Суть анализа заключалась в сравнении частоты встречаемости матриц базы TRANSFAC®, соответствующих участкам связывания ТФ в промоторах генов, кодирующих белки тестовой выборки, по сравнению с генами, кодирующими белки контрольных выборок. При выборе матриц для дальнейшего анализа был установлен порог статистической значимости предпредставленности участков связывания ТФ в тестовой выборке $p\text{-value} < 0,01$. Матрицы были конвертированы в набор ТФ, которые могли быть ответственны за изменения содержания белков, наблюдаемые экспериментально.

Для набора ТФ, полученных на предыдущем этапе, проводили поиск общего регулятора при помощи модуля “Regulator search” платформы geneXplain (<http://platform.genexplain.com>) со следующими ниже установками: используемая база данных TRANSPATH®, длина пути $R = 10$, отсечение результатов по $FDR = 0,05$. Для каждого возможного регулятора помимо FDR рассчитываются оценки Score, Z-score и Ranks sum. Результаты поиска ключевых молекул сравнивались со списком белков, идентифицированных в ядерной и цитозольной фракции клеток линии HL-60. Ключевую молекулу, экспрессирующуюся в клетках линии HL-60 на уровне белка и демонстрирующую наибольшую статистическую значимость (минимальная величина для показателя ранговой суммы (rank sum)), использовали для построения модельной схемы.

Результаты

По результатам протеомного профилирования клеток линии HL-60 во временных точках 0, 3, 24, 48 и 96 ч после добавления ATRA были идентифицированы 1713 белков как минимум по 2 протеотипическим пептидам.

Как видно из тепловой диаграммы, представленной на рис. 1, среди дифференциально экспрессирующихся белков можно выделить 2 кластера – кластер 1 и кластер 2 – белки, содержание которых увеличивается и уменьшается к 96 ч после добавления ATRA соответственно. В дальнейшем мы будем называть их активируемый (76 белков, кластер 1) и ингибируемый (101 белок, кластер 2) кластеры. Кластеризация в программном обеспечении Perseus

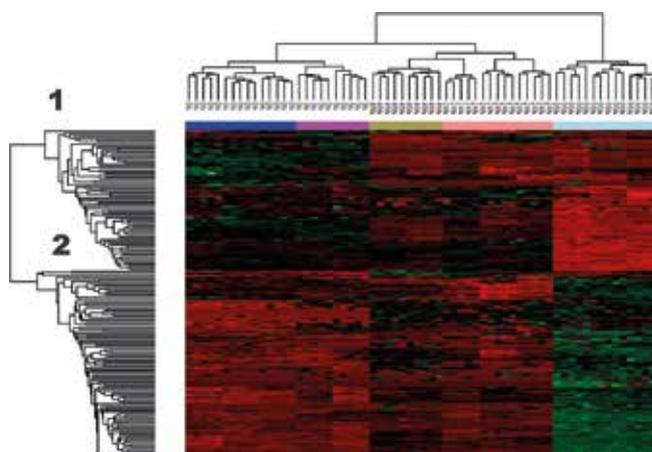


Рис. 1. Тепловая диаграмма, отражающая разницу в экспрессии белков клеток линии HL-60 в процессе ATRA-индуцированной дифференцировки по результатам протеомного профилирования через 0, 3, 24, 48 и 96 ч после добавления индуктора (показаны 177 белков со статистически значимыми различиями в экспрессии (ANOVA $p\text{-value} < 10^{-7}$), образующих кластеры 1 и 2)

Fig. 1. The heatmap representing the expression level difference for proteins of HL-60 cell line in process of ATRA-induced differentiation in accordance with proteomic profiling results at 0, 3, 24, 48 and 96 hours after adding the inductor (there are shown 177 proteins with a statistically significant differences in expression (ANOVA $p\text{-value} < 10^{-7}$), which shape a clusters 1 and 2)

осуществляется на основании математического алгоритма, принимающего во внимание сходство профиля экспрессии белков и направление изменения их содержания (увеличение или уменьшение). Данный алгоритм определяет в том числе порядок следования кластеров временных точек 24 и 48 ч, отражающий высокую степень сходства профилей экспрессии белков в данных точках.

Функциональная аннотация этих дифференциально экспрессирующихся белков по категориям базы данных GeneOntology позволила определить белки, участвующие в функционировании иммунной системы (ИС), регуляции клеточной гибели (КГ), пролиферации (Пф), адгезии (Адг) и клеточном цикле (КЦ) (таблица).

Данные, представленные в таблице, демонстрируют, что 42 дифференциально экспрессирующихся белка активируемого кластера вовлечены в реализацию функций ИС и КГ, в то время как 29 белков ингибируемого кластера задействованы в реализации Пф, КЦ и Адг.

Анализ белков активируемого и ингибируемого кластеров в программном обеспечении geneXplain platform позволил определить потенциальные ТФ и ключевые молекулы, регулирующие дифференциально экспрессирующиеся белки. Для определения молекул, экспрессирующихся в клетках линии HL-60 на белковом уровне, модельные схемы были сопоставлены с результатами масс-спектрометрического анализа цитозольной и ядерной фракций клеток линии HL-60. Схемы регуляции представлены на рис. 2 и 3.

Дифференциально экспрессирующиеся под действием ATRA белки клеток линии HL-60, задействованные в функционировании ИС, регуляции КГ, Пф и КЦ (начало)

Идентификационный номер в базе данных UniProt	Имя гена	Название белка в базе данных UniProt	Биологический процесс	FC
<i>Дифференциально экспрессирующиеся белки активируемого кластера ↑</i>				
P35579	<i>MYH9</i>	Миозин 9	ИС	6,1
P14618	<i>PKM</i>	Пируваткиназа PKM	ИС	4,5
P14598	<i>NCF1</i>	Цитозольный фактор нейтрофилов 1	ИС	2,6
P30740	<i>SERPINB1</i>	Ингибитор эластазы нейтрофилов	ИС	3,4
P05107	<i>CD18</i>	Интегрин бета 2	ИС	3,7
Q9BS26	<i>ERP44</i>	Белок эндоплазматического ретикулума 44	ИС	2,7
Q06323	<i>PSME1</i>	Субъединица 1 комплекса активатора протеасом	ИС	2,4
Q9Y3Z3	<i>SAMHD1</i>	Дезоксинуклеозидтрифосфат трифосфогидролаза SAMHD1	ИС	3,0
P18669	<i>PGAM1</i>	Фосфоглицератмутаза 1	ИС	3,5
P61158	<i>ACTR3</i>	Родственный актину белок 3	ИС	4,2
P07339	<i>CTSD</i>	Катепсин D	ИС	4,8
P52907	<i>CAPZA1</i>	Субъединица альфа 1 F-актин кэпирующего белка	ИС	5,2
P63261	<i>ACTG1</i>	Актин цитоплазматический 2	ИС	4,2
Q14019	<i>COTL1</i>	Коаостозин-подобный белок	ИС	5,2
P04839	<i>CYBB</i>	Тяжелая цепь цитохрома b-245	ИС	2,8
P27824	<i>CANX</i>	Кальнексин	ИС	4,3
Q01518	<i>CAP1</i>	Аденилатциклаза-ассоциированный белок 1	ИС	3,8
Q99536	<i>VAT1</i>	Гомолог белка мембраны синаптических везикул VAT-1	ИС	4,6
P39656	<i>DDOST</i>	Субъединица 48кДа комплекса N-олигосахарид-трансферазы	ИС	3,2
P13796	<i>LCP1</i>	Пластин 2	ИС	5,8
P08575	<i>CD45</i>	Белковая тирозинфосфатаза рецепторного типа C	ИС	3,0
P30101	<i>PDIA3</i>	Белковая дисульфидизомераза A3	ИС + КГ	5,3
P26583	<i>HMGB2</i>	Белок B2 группы высокой подвижности	ИС + КГ	3,9
P14625	<i>HSP90B1</i>	Эндоплазмин	ИС + КГ	4,8
P09211	<i>GSTP1</i>	Глутатион-S-трансфераза P	ИС + КГ	3,6
P04406	<i>GAPDH</i>	Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа	ИС + КГ	2,6
P04040	<i>CAT</i>	Каталаза	ИС + КГ	3,8
P10809	<i>HSPD1</i>	Белок теплового шока 60 кДа митохондриальный	ИС + КГ	6,2
P31146	<i>CORO1A</i>	Коронин 1A	ИС + КГ	1,6
P04083	<i>ANXA1</i>	Аннексин A1	ИС + КГ	5,1
Q13501	<i>SQSTM1</i>	Секвестосома 1	КГ	3,8
P63104	<i>YWHAZ</i>	14-3-3 белок зета/дельта	КГ	3,3
P68032	<i>ACTC1</i>	Актин	КГ	3,0
P23528	<i>CFL1</i>	Кофилин-1	КГ	2,6
O14745	<i>SLC9A3R1</i>	Кофактор регуляции обмена Na(+)/H(+)-NHE-RF1	КГ	2,5

Дифференциально экспрессирующиеся под действием ATRA белки клеток линии HL-60, задействованные в функционировании ИС, регуляции КГ, Пф и КЦ (продолжение)

Идентификационный номер в базе данных UniProt	Имя гена	Название белка в базе данных UniProt	Биологический процесс	FC
Q9Y4L1	<i>HYOU1</i>	Активируемый при гипоксии белок 1	КГ	4,9
P30040	<i>ERP29</i>	Белок эндоплазматического ретикулума 29	КГ	4,2
P06733	<i>ENO1</i>	Енолаза альфа	КГ	2,3
P35232	<i>PHB</i>	Прохибитин	КГ	3,7
P11021	<i>HSPA5</i>	Белок-шаперон эндоплазматического ретикулума BiP	КГ	5,8
P61604	<i>HSPE1</i>	Белок теплового шока 10 кДа митохондриальный	КГ	4,2
P07237	<i>P4HB</i>	Белковая дисульфидизомераза PDI	КГ	3,9
<i>Дифференциально экспрессирующиеся белки ингибируемого кластера ↓</i>				
Q9UQ80	<i>PA2G4</i>	Ассоциированный с Пф белок 2G4	Пф	0,2
P33993	<i>MCM7</i>	Фактор, разрешающий репликацию ДНК MCM7	Пф	0,1
Q9NZ18	<i>IGF2BP1</i>	Связывающий мРНК инсулиноподобного фактора роста-2 белок 1	Пф	0,2
P12268	<i>IMPDH2</i>	Инозин-5-монофосфатдегидрогеназа 2	Пф	0,2
P13639	<i>EEF2</i>	Фактор элонгации 2	Пф	0,2
Q6PKG0	<i>LARP1</i>	La-родственный белок 1	Пф	0,3
P13010	<i>XRCC5</i>	Белок репарации ДНК XRCC5	Пф	0,3
P12004	<i>PCNA</i>	Ядерный антиген пролиферирующих клеток	Пф	0,4
Q9BQG0	<i>MYBBP1A</i>	Муб-связывающий белок 1A	КЦ	0,2
P06748	<i>NPM1</i>	Нуклеофосмин	КЦ	0,2
Q09028	<i>RBBP4</i>	Гистон-связывающий белок RBBP4	КЦ	0,2
P11142	<i>HSPA8</i>	Белок теплового шока 70кДа 8	КЦ	0,6
Q00839	<i>HNRNPU</i>	Гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин U	КЦ	0,2
O00410	<i>IPO5</i>	Импортин-5	КЦ	0,3
P39748	<i>FEN1</i>	Флеп-эндонуклеаза 1	КЦ	0,3
Q04637	<i>EIF4G1</i>	Эукариотический фактор инициации трансляции 4, субъединица гамма 1	КЦ	0,3
P08238	<i>HSP90AB1</i>	Белок теплового шока HSP-90 бета	КЦ	0,2
O15355	<i>PPM1G</i>	Белковая фосфатаза 1G	КЦ	0,4
P78527	<i>PRKDC</i>	Каталитическая субъединица ДНК-зависимой протеинкиназы	КЦ	0,3
P23246	<i>SFPQ</i>	Богатый пролином и глутамином фактор сплайсинга	КЦ	0,2
Q16543	<i>CDC37</i>	Hsp90 ко-шаперон Cdc37	КЦ	0,2
P07437	<i>TUBB</i>	Тубулин, бета цепь	КЦ	0,2
Q13148	<i>TARDBP</i>	TAR ДНК-связывающий белок 43	КЦ	0,2
P68371	<i>TUBB4B</i>	Тубулин, бета-4В цепь	КЦ	0,3
P09429	<i>HMGB1</i>	Белок В1 группы высокой подвижности	Адг	0,2
P21333	<i>FLNA</i>	Филамин-А	Адг	0,2

Дифференциально экспрессирующиеся под действием АТРА белки клеток линии HL-60, задействованные в функционировании ИС, регуляции КГ, Пф и КЦ (окончание)

Идентификационный номер в базе данных UniProt	Имя гена	Название белка в базе данных UniProt	Биологический процесс	FC
P02786	<i>TFRC</i>	Рецептор к трансферину 1	Адг	0,2
Q13177	<i>PAK2</i>	Серин-треониновая протеинкиназа PAK 2	Адг	0,2
P29350	<i>PTPN6</i>	Белковая тирозинфосфатаза нерецепторного типа 6	Адг	0,4

Примечание. UniProt – открытая база данных последовательностей белков; FC (fold change) – изменение экспрессии во временной точке 96 ч по сравнению с контролем (0 ч).

Proteins of HL-60 cell line differentially expressed under ATRA treatment involved in the functioning of the immune system (IS), regulation of cell death (CD), proliferation (PF) and cell cycle (CC) (beginning)

Identity numbers in the UniProt	Gene title	The name of the protein in the database (UniProt)	Biological process	FC
<i>Differently expressed proteins of the activated cluster</i> ↑				
P35579	<i>MYH9</i>	Myosin 9	IS	6.1
P14618	<i>PKM</i>	Pyruvate kinase PKM	IS	4.5
P14598	<i>NCF1</i>	Neutrophil cytosol factor 1	IS	2.6
P30740	<i>SERPINB1</i>	Leukocyte elastase inhibitor	IS	3.4
P05107	<i>CD18</i>	Integrin beta-2	IS	3.7
Q9BS26	<i>ERP44</i>	Endoplasmic reticulum resident protein 44	IS	2.7
Q06323	<i>PSME1</i>	Proteasome activator complex subunit 1	IS	2.4
Q9Y3Z3	<i>SAMHD1</i>	Deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase SAMHD1	IS	3.0
P18669	<i>PGAM1</i>	Phosphoglycerate mutase	IS	3.5
P61158	<i>ACTR3</i>	Actin-related protein 3	IS	4.2
P07339	<i>CTSD</i>	Cathepsin D	IS	4.8
P52907	<i>CAPZA1</i>	F-actin-capping protein subunit alpha-1	IS	5.2
P63261	<i>ACTG1</i>	Actin, cytoplasmic 2	IS	4.2
Q14019	<i>COTL1</i>	Coactosin-like protein	IS	5.2
P04839	<i>CYBB</i>	Cytochrome b-245 heavy chain	IS	2.8
P27824	<i>CANX</i>	Calnexin	IS	4.3
Q01518	<i>CAP1</i>	Adenylyl cyclase-associated protein 1	IS	3.8
Q99536	<i>VAT1</i>	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog	IS	4.6
P39656	<i>DDOST</i>	Dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase 48 kDa subunit	IS	3.2
P13796	<i>LCPI</i>	Plastin-2	IS	5.8
P08575	<i>CD45</i>	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase C	IS	3.0
P30101	<i>PDIA3</i>	Protein disulfide-isomerase A3	IS + CD	5.3
P26583	<i>HMGB2</i>	High mobility group protein B2	IS + CD	3.9
P14625	<i>HSP90B1</i>	Endoplasmic	IS + CD	4.8
P09211	<i>GSTP1</i>	Glutathione S-transferase P	IS + CD	3.6

Proteins of HL-60 cell line differentially expressed under ATRA treatment involved in the functioning of the immune system (IS), regulation of cell death (CD), proliferation (PF) and cell cycle (CC) (continuation)

Identity numbers in the UniProt	Gene title	The name of the protein in the database (UniProt)	Biological process	FC
P04406	<i>GAPDH</i>	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	IS + CD	2.6
P04040	<i>CAT</i>	Catalase	IS + CD	3.8
P10809	<i>HSPD1</i>	60 kDa heat shock protein, mitochondrial	IS + CD	6.2
P31146	<i>CORO1A</i>	Coronin-1A	IS + CD	1.6
P04083	<i>ANXA1</i>	Annexin A1	IS + CD	5.1
Q13501	<i>SQSTM1</i>	Sequestosome-1	CD	3.8
P63104	<i>YWHAZ</i>	14-3-3 protein zeta/delta	CD	3.3
P68032	<i>ACTC1</i>	Actin	CD	3.0
P23528	<i>CFL1</i>	Cofilin-1	CD	2.6
O14745	<i>SLC9A3R1</i>	Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF1	CD	2.5
Q9Y4L1	<i>HYOU1</i>	Hypoxia up-regulated protein 1	CD	4.9
P30040	<i>ERP29</i>	Endoplasmic reticulum resident protein 29	CD	4.2
P06733	<i>ENO1</i>	Alpha-enolase	CD	2.3
P35232	<i>PHB</i>	Prohibitin	CD	3.7
P11021	<i>HSPA5</i>	Endoplasmic reticulum chaperone BiP	CD	5.8
P61604	<i>HSPE1</i>	10 kDa heat shock protein, mitochondrial	CD	4.2
P61604	<i>HSPE1</i>	10 kDa heat shock protein, mitochondrial	CD	4.2
P07237	<i>P4HB</i>	Protein disulfide-isomerase PDI	CD	3.9
Differently expressed proteins of the inhibited cluster ↓				
Q9UQ80	<i>PA2G4</i>	Proliferation-associated protein 2G4	PF	0.2
P33993	<i>MCM7</i>	DNA replication licensing factor MCM7	PF	0.1
Q9NZ18	<i>IGF2BP1</i>	Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1	PF	0.2
P12268	<i>IMPDH2</i>	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase 2	PF	0.2
P13639	<i>EEF2</i>	Elongation factor 2	PF	0.2
Q6PKG0	<i>LARP1</i>	La-related protein 1	PF	0.3
P13010	<i>XRCC5</i>	X-ray repair cross-complementing protein 5	PF	0.3
P12004	<i>PCNA</i>	Proliferating cell nuclear antigen	PF	0.4
Q9BQG0	<i>MYBBP1A</i>	Myb-binding protein 1A	CC	0.2
P06748	<i>NPM1</i>	Nucleophosmin	CC	0.2
Q09028	<i>RBBP4</i>	Histone-binding protein RBBP4	CC	0.2
P11142	<i>HSPA8</i>	Heat shock cognate 71 kDa protein	CC	0.6
Q00839	<i>HNRNPU</i>	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U	CC	0.2
O00410	<i>IPO5</i>	Importin-5	CC	0.3
P39748	<i>FEN1</i>	Flap endonuclease 1	CC	0.3
Q04637	<i>EIF4G1</i>	Eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 1	CC	0.3
P08238	<i>HSP90AB1</i>	Heat shock protein HSP 90-beta	CC	0.2
O15355	<i>PPM1G</i>	Protein phosphatase 1G	CC	0.4

Proteins of HL-60 cell line differentially expressed under ATRA treatment involved in the functioning of the immune system (IS), regulation of cell death (CD), proliferation (PF) and cell cycle (CC) (end)

Identity numbers in the UniProt	Gene title	The name of the protein in the database (UniProt)	Biological process	FC
P78527	PRKDC	DNA-dependent protein kinase catalytic subunit	CC	0.3
P23246	SFPQ	Splicing factor, proline- and glutamine-rich	CC	0.2
Q16543	CDC37	Hsp90 co-chaperone Cdc37	CC	0.2
P07437	TUBB	Tubulin beta chain	CC	0.2
Q13148	TARDBP	TAR DNA-binding protein 43	CC	0.2
P68371	TUBB4B	Tubulin beta-4B chain	CC	0.3
P09429	HMGB1	High mobility group protein B1	Adh	0.2
P21333	FLNA	Filamin-A	Adh	0.2
P02786	TFRC	Transferrin receptor protein 1	Adh	0.2
Q13177	PAK2	Serine/threonine-protein kinase PAK 2	Adh	0.2
P29350	PTPN6	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 6	Adh	0.4

Note. UniProt – is a open database of protein sequence; FC (fold change) – is changes in gene expression in time point 96 h compared with the control (0 h); Adh – adhesion.

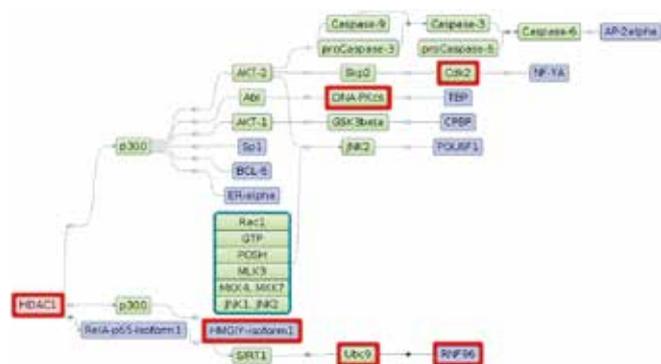


Рис. 2. Схема регуляции белков активируемого кластера. Фиолетовым цветом показаны ТФ, зеленым – промежуточные молекулы, розовым – ключевая молекула (HDAC1). Красным цветом выделены молекулы модельной схемы, регистрируемые на белковом уровне масс-спектрометрическим методом в цитозольной или ядерной фракции клеток линии HL-60. Компоненты модельных схем соединены линиями с узлами, обозначающими межмолекулярное взаимодействие, обнаруженное в программном обеспечении geneXplain platform по базе данных TRANSPATH®, тип взаимодействия обозначен по кодировке geneXplain platform: незаштрихованные квадраты – фосфорилирование или ацетилирование; незаштрихованный круг – расщепление молекулы или деацетилирование, или дефосфорилирование; заштрихованный круг – сумоилирование или убиквитинилирование; линия со стрелкой после узла направлена в сторону конечного продукта реакции

Fig. 2. The scheme of protein regulation of the activated cluster. Purple color shows the transcription factors, green – intermediate molecules, pink – key molecule (HDAC1). The molecules of the model scheme registered on the protein level by the mass spectrometric method in the cytosolic or nuclear fraction of HL-60 cells are marked in red. The components of the model scheme are connected by lines to nodes denoting the intermolecular interaction detected in the geneXplain platform software using the TRANSPATH® database, type of interaction is indicated by the geneXplain platform legend: unshaded squares – phosphorylation or acetylation; unshaded circle – cleavage of the molecule or deacetylation or dephosphorylation; shaded circle sumoylation or ubiquitinylation; the line with the arrow after the node is directed toward the final product of the reaction

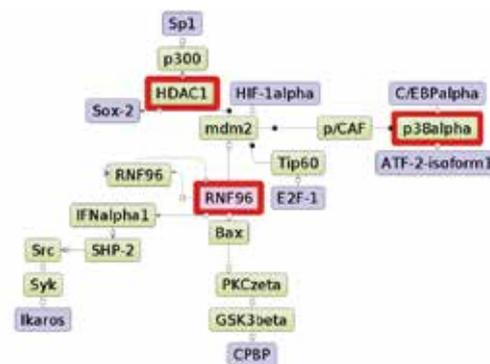


Рис. 3. Схема регуляции белков ингибируемого кластера. Фиолетовым цветом показаны ТФ, зеленым – промежуточные молекулы, розовым – ключевая молекула (RNF96). Красным цветом выделены молекулы модельной схемы, регистрируемые на белковом уровне масс-спектрометрическим методом в цитозольной или ядерной фракции клеток линии HL-60. Компоненты модельных схем соединены линиями с узлами, обозначающими межмолекулярное взаимодействие, обнаруженное в программном обеспечении geneXplain platform по базе данных TRANSPATH®, тип взаимодействия обозначен по кодировке geneXplain platform: незаштрихованные квадраты – фосфорилирование или ацетилирование; незаштрихованный круг – расщепление молекулы или деацетилирование, или дефосфорилирование; заштрихованный круг – сумоилирование или убиквитинилирование; линия со стрелкой после узла направлена в сторону конечного продукта реакции

Fig. 3. The scheme of protein regulation of the inhibited cluster. Purple color shows the transcription factors, green - intermediate molecules, pink – key molecule (RNF96). The molecules of the model scheme registered on the protein level by the mass spectrometric method in the cytosolic or nuclear fraction of HL-60 cells are marked in red. The components of the model scheme are connected by lines to nodes denoting the intermolecular interaction detected in the geneXplain platform software using the TRANSPATH® database, type of interaction is indicated by the geneXplain platform legend: unshaded squares – phosphorylation or acetylation; unshaded circle – cleavage of the molecule or deacetylation or dephosphorylation; shaded circle – sumoylation or ubiquitinylation; the line with the arrow after the node is directed toward the final product of the reaction

Ключевыми молекулами схем, регулирующих активируемый и ингибируемый кластеры, оказались деацетилаза гистонов 1 (HDAC1) и ядерный корепрессор RNF96 (TRIM28) соответственно.

Среди предсказанных ТФ схемы активируемого кластера оказались: AP-2 альфа (AP-2alpha), NF-YA, POU6F1, RelA-p65, RNF96, HMG1Y, TATA-бокс-связывающий белок (TBP), транскрипционный репрессор Bcl-6 и ядерный рецептор к эстрогену альфа (ER alpha).

ТФ в схеме регуляции ингибируемого кластера: Sox2, HIF-1, C/EBP альфа, ATF2, E2F-1 и Ikaros.

ТФ CPBP (онкосупрессор *KLF6*) и Sp1 оказались представленными в обеих схемах.

Среди молекул модельных схем CDK2, DNA-PKcs, HDAC1, HMG1Y, Ubc9, RNF96, p38 альфа идентифицировали в ядерной и/или цитозольной фракции клеток линии HL-60 на белковом уровне.

Ряд молекул, такие как HDAC1, RNF96, Sp1 и CPBP (онкосупрессор *KLF6*), пересекаются между схемами. В том числе ключевая молекула ингибируемого кластера RNF96 оказывается ТФ на схеме активируемого кластера. В свою очередь, ключевая молекула активируемого кластера – HDAC1 участвует в передаче сигнала от RNF96 к ТФ Sp1 на схеме регуляции ингибируемого кластера.

Обсуждение

Применение масс-спектрометрического профилирования к клеткам линии HL-60 через 0, 3, 24, 48 и 96 ч после обработки ATRA позволило определить дифференциально экспрессирующиеся по мере прохождения дифференцировки белки. Они функционально ассоциированы с выполнением иммунных функций, а также развитием апоптоза, что отражает приобретение клетками линии HL-60 фенотипа зрелых гранулоцитов. Выявленные в настоящей работе белки можно рассматривать как панель маркеров дифференцировки наряду с поверхностными молекулами CD38 и CD11b, оцениваемыми с помощью точной цитофлуориметрии.

Используя компьютерное моделирование, основанное на поиске ключевых регуляторов, можно сделать попытку реконструировать молекулярную сигнальную сеть, ответственную за изменение экспрессии белков, и представить ее в виде модельной схемы. Ключевые молекулы модельных схем – HDAC1 и RNF96 (TRIM28) – являются главными регуляторами, приводящими к изменению экспрессии белков, наблюдаемому в нашем эксперименте, следовательно, можно предположить, что именно они будут наиболее чувствительны к фармакологическому воздействию или будут представлять собой потенциальные терапевтические мишени «1-й линии».

В качестве ключевой молекулы на схеме регуляции активируемого кластера выступает HDAC1, играющая

важную роль в эпигенетической регуляции транскрипции и КЦ. Деацетилирование гистонов по аминокислотным остаткам лизина ведет к конденсации хроматина и репрессии транскрипции. Для клеток различных опухолей, в том числе лейкозов, была показана повышенная экспрессия HDAC1 [15]. Целевое фармакологическое воздействие на деацетилазы гистонов может представлять собой альтернативный подход к терапии ОПЛ. К настоящему моменту ингибиторы HDACs, такие как вальпроевая кислота, использовали в комбинации с ATRA или ингибитором ДНК-метилтрансферазы азациитидином для лечения пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), для которых не применим стандартный терапевтический подход [16, 17]. Примечательно, что HDAC1 является ключевым регулятором именно активируемого кластера, на основании чего можно предположить, что транскрипция генов, соответствующих белкам с увеличенной экспрессией, регулируется за счет эпигенетических механизмов.

Модельную схему, регулирующую ингибируемый кластер, возглавляет транскрипционный корепрессор RNF96 (TRIM28), влияющий на такие важные для регуляции баланса Пф/дифференцировки молекулы, как CDKN1A/p21 и p53 [18, 19]. Транскрипционный репрессор RNF96 (TRIM28) мало исследован в контексте ОПЛ или ОМЛ и представляет собой потенциальную мишень для терапевтического воздействия.

HDAC1 и транскрипционный корепрессор RNF96 (TRIM28) присутствуют на обеих модельных схемах, выполняя в одном случае роль ключевой молекулы, а в другом – роль ТФ (RNF96 для схемы активируемого кластера) или молекулы, передающей сигнал (HDAC1 для схемы ингибируемого кластера), что, вероятно, отражает тесную взаимосвязь между активацией и ингибированием в клетке.

ТФ, с наибольшей вероятностью ответственные за изменение экспрессии активируемых и ингибируемых белков и регулируемые ключевыми молекулами, можно рассматривать как потенциальные терапевтические мишени «2-й линии».

В целом все предсказанные ТФ можно разделить на благоприятствующие Пф и клеточному росту, или наоборот – содействующие дифференцировке и апоптозу.

Некоторые ТФ модельных схем, такие как Bcl-6, ER альфа и SOX2 вовлечены в Пф, рост опухолей, ингибирование онкосупрессоров, таких как p53, и ранее рассматривались в качестве потенциальных терапевтических мишеней.

Например, Bcl-6 играет важную роль в развитии лейкозов. В клетках хронического миелоидного лейкоза, прежде всего в популяции стволовых клеток или лейкоз-иницирующих клеток, Bcl-6 супрессирует ген *p53*, предотвращая развитие апоптоза, в то время

как фармакологическое ингибирующее воздействие на Vcl-6 ведет к эрадикации популяции лейкозных стволовых клеток [20]. ER альфа, как и многие стероидные гормоны и их лиганды, вовлечен в регуляцию Пф и дифференцировки клеток. Рецепторы к эстрогену уже рассматривались как потенциальные мишени для терапии лейкозов: на основании биоинформатического предсказания и последующего нокдауна гена рецептор к эстрогену бета был выявлен как потенциальная клеточная мишень для изофлавоноида диосметина, вызывающего апоптоз в клетках ОМЛ [21]. В то же время в другом исследовании было показано, что селективный модулятор эстрогеновых рецепторов тамоксифен активирует ER альфа, что индуцирует апоптоз в гемопоэтических стволовых клетках и плюрипотентных прогениторных клетках, оказывая противолейкозный эффект [22]. Среди молекул схемы, регулирующей ингибируемый кластер дифференциально экспрессирующихся белков, представлен ТФ SOX2, являющийся одним из основных регуляторов раковых стволовых клеток. Ранее было показано, что экспрессия SOX2 была повышена в клетках ОМЛ [23]. Целевое воздействие на SOX2 уже рассматривалось в качестве подхода для лечения глиобластом [24]. Возможно, ингибирование SOX2 будет иметь антипролиферативный эффект и в случае ОПЛ.

Другая группа ТФ, включающая Sp1, C/EBP альфа и CPBP (онкосупрессор *KLF6*), способствует прохождению дифференцировки или задействована в ингибировании онкогенов, таких как *c-MYC*, и подавлении опухолевого роста.

ТФ Sp1 задействован в развитии миелоидных клеток, активируя транскрипцию киназы гемопоэтических клеток человека и поверхностного гранулоцитарного маркера CD11b [25, 26]. ТФ C/EBP альфа контролирует остановку Пф и необходим для гранулоцитарной дифференцировки миелоидных клеток-предшественников. Мутации в гене *C/EBP альфа* приводят к блоку дифференцировки [27]. Роль *KLF6* как онкосупрессора больше изучена на примере солидных опухолей, например колоректального рака [28], но также было показано снижение экспрессии *KLF6* в клетках, полученных от больных ОМЛ [29].

ТФ AP-2 альфа негативно регулирует протоонкоген *c-MYC* и *C/EBP альфа*, что было показано на примере солидных опухолей [30, 31]. Супрессия *c-MYC*, многократно амплифицированного в клетках линии HL-60, ведет к торможению Пф и опухолевого роста, в то время как ингибирование *C/EBP альфа*, как было упомянуто выше, препятствует прохождению дифференцировки в контексте ОПЛ, что может указывать на сложную роль AP-2 альфа в биологии лейкозов и определяет терапевтический потенциал данного ТФ с точки зрения как ингибирования, так и активации.

Наконец, среди молекул модельных схем, идентифицированных в ядерной и/или цитозольной фракции клеток линии HL-60 на белковом уровне, оказались ключевые молекулы – HDAC1 и RNF96, что усиливает их значимость в качестве потенциальных терапевтических мишеней. Также масс-спектрометрическим методом удалось зарегистрировать ряд промежуточных молекул, участвующих в передаче сигнала от ключевых молекул к ТФ модельных схем, и задействованных в регуляции КЦ (CDK2), репарации ДНК (DNA-PKcs), убиквитинилирования (Ubc9) и апоптоза (p38 альфа).

Заключение

Применение комбинации методов высокопроизводительного протеомного анализа и биоинформатического моделирования в исследовании ATRA-индуцированной дифференцировки клеток линии HL-60 позволило выявить ключевые молекулы – HDAC1 и RNF96 (TRIM28), с наибольшей вероятностью регулирующие дифференциально экспрессирующиеся белки активируемого и ингибируемого кластеров соответственно, которые можно рассматривать как потенциальные терапевтические мишени «1-й линии». Потенциальными терапевтическими мишенями «2-й линии» являются ТФ, присутствующие в модельных схемах регуляции белков активируемого и ингибируемого кластеров, такие как Vcl-6, ER альфа, SOX2, Sp1, C/EBP альфа и CPBP (онкосупрессор *KLF6*). К настоящему моменту были осуществлены попытки целевого фармакологического воздействия на ряд молекул модельных схем, в то же время такие функционально важные молекулы, как RNF96 (TRIM28), CPBP (онкосупрессор *KLF6*) ранее не рассматривались в контексте ОПЛ и представляют большой интерес с точки зрения терапевтического воздействия.

В данном исследовании мы провели моделирование молекулярного каскада в направлении «снизу вверх», начиная от белков с измененным содержанием через ТФ их регулирующие, до ключевых молекул, с наибольшей вероятностью регулирующих дифференциально экспрессирующиеся белки. Предложенный подход к моделированию подразумевает предсказание более ранних молекулярных событий по отношению к временной точке, в которой белки дифференциально экспрессировались (96 ч), поэтому для предсказанных ключевых молекул и ТФ мы предполагаем наиболее выраженный регуляторный эффект и терапевтический потенциал. В то же время сама концепция построения модельных сигнальных сетей не подразумевала выбор одной молекулы как мишени для фармакологического воздействия. Начальный этап поиска, представленный в работе, направлен на определение панели потенциальных терапевтических мишеней на основании их регуляторных свойств,

которые мы оценивали с помощью биоинформатического предсказания, и факта изменений в экспрессии в выбранной модельной клеточной линии на уровне белка, определяемых масс-спектрометрическим методом.

Разработанная платформа, сочетающая высокопроизводительное масс-спектрометрическое профилирование и биоинформатическое предсказание ключевых регуляторов, была опробована на стабильной клеточной линии HL-60, представляющей удобный объект для пилотного исследования. При этом следует учитывать, что экстраполяция результатов, получаемых для стабильной клеточной линии, на биологические процессы *in vivo* ограничена, прежде всего, в связи с изменениями характеристик клеток, происходящими при многих пассажах культивирования. Для валидации полученных в данном исследовании моделей требуются дополнительные эксперименты с внедрением экспрессионных конструкций или нокдауном генов, соответствующих потенциальным терапевтическим мишеням. Сильной стороной представленной платформы является ее применимость к моделям, более точно отражающим свойства биологического объекта *in vivo*, например к первичным культурам клеток. Применимость разработанной платформы не зависит от используемого ингибитора или индуктора, что об-

условливает хороший потенциал для исследований в области персонализированной медицины.

Конфликт интересов/Conflict of interest

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг. с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Протеом человека» (ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»), поддержанного Минобрнауки России (уникальный идентификатор проекта RFMEFI62117X0017).

The research was carried out within the framework of the Program of Fundamental Scientific Research of the State Academies of Sciences for 2013–2020 using the equipment of the Center for Collective Use “Human Proteome” (V.N. Orekhovich Scientific Research Institute of Biomedical Chemistry), supported by the Ministry of Education and Science of Russia (unique identifier of the project RFMEFI62117X0017).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Di Girolamo F, Lante I., Muraca M., Putignani L. The Role of Mass Spectrometry in the "Omics" Era. *Curr Org Chem* 2013;17(23):2891–905. doi: 10.2174/1385272817888131118162725.
2. Wu H.Y., Goan Y.G., Chang Y.H. et al. Qualification and Verification of Serological Biomarker Candidates for Lung Adenocarcinoma by Targeted Mass Spectrometry. *J Proteome Res* 2015;14(8):3039–50. doi: 10.1021/pr501195t.
3. Naryzhny S.N., Zgoda V.G., Maynskova M.A. et al. Combination of virtual and experimental 2DE together with ESI LC-MS/MS gives a clearer view about proteomes of human cells and plasma. *Electrophoresis* 2016;37(2):302–9. doi: 10.1002/elps.201500382.
4. Kopylov A.T., Ilgisonis E.V., Moysa A.A. et al. Targeted Quantitative Screening of Chromosome 18 Encoded Proteome in Plasma Samples of Astronaut Candidates. *J Proteome Res* 2016;15(11):4039–46. doi: 10.1021/acs.jproteome.6b00384.
5. Novikova S.E., Tikhonova O.V., Kurbatov L.K. et al. Application of selected reaction monitoring and parallel reaction monitoring for investigation of HL-60 cell line differentiation. *Eur J Mass Spectrom (Chichester)* 2017;23(4):202–8. doi: 10.1177/1469066717719848.
6. Breitman T.R., Selonick S.E., Collins S.J. Induction of differentiation of the human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) by retinoic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980;77(5):2936–40. PMID: 6930676.
7. Dalton W.T., Ahearn M.J., McCredie K.B. et al. HL-60 cell line was derived from a patient with FAB-M2 and not FAB-M3. *Blood* 1988;71(1):242–7. PMID: 3422031.
8. Liu S.M., Chen W., Wang J. Distinguishing between cancer cell differentiation and resistance induced by all-trans retinoic acid using transcriptional profiles and functional pathway analysis. *Sci Rep* 2014;4:5577. doi: 10.1038/srep05577.
9. Tasseff R., Jensen H.A., Congleton J. et al. An Effective Model of the Retinoic Acid Induced HL-60 Differentiation Program. *Sci Rep* 2017;7(1):14327. doi: 10.1038/s41598-017-14523-5.
10. Zheng P.Z., Wang K.K., Zhang Q.Y. et al. Systems analysis of transcriptome and proteome in retinoic acid/arsenic trioxide-induced cell differentiation/apoptosis of promyelocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102(21):7653–8. doi: 10.1073/pnas.0502825102.
11. Bertagnolo V., Grassilli S., Bavelloni A. et al. Vav1 modulates protein expression during AT-RA-induced maturation of APL-derived promyelocytes: a proteomic-based analysis. *J Proteome Res* 2008;7(9):3729–36. doi: 10.1021/pr7008719.
12. Valiulienė G., Stirblyte I., Cicenaitė D. et al. Belinostat, a potent HDACi, exerts antileukemic effect in human acute promyelocytic leukemia cells via chromatin remodeling. *J Cell Mol Med* 2015;19(7):1742–55. doi: 10.1111/jcmm.12550.
13. Simicevic J., Schmid A.W., Gilardoni P.A. et al. Absolute quantification of transcription factors during cellular differentiation using multiplexed targeted proteomics. *Nat Methods* 2013;10(6):570–6. doi: 10.1038/nmeth.2441.
14. Wiśniewski J.R., Zougman A., Nagaraj N., Mann M. Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nat Methods* 2009;6(5):359–62. doi: 10.1038/nmeth.1322.
15. Tickenbrock L., Klein H.U., Trento C. et al.; Study Alliance Leukemia Group. Increased HDAC1 deposition at hematopoietic promoters in AML and its association with patient survival. *Leuk Res* 2011;35(5):620–5. doi: 10.1016/j.leukres.2010.11.006.
16. Fredly H., Gjertsen B.T., Bruslerud O. Histone deacetylase inhibition in the treatment of acute myeloid leukemia: the effects of valproic acid on leukemic cells, and the clinical and experimental evidence for combining valproic acid with other antileukemic agents. *Clin Epigenetics* 2013;5(1):12. doi: 10.1186/1868-7083-5-12.
17. Min C., Moore N., Shearstone J.R. et al. Selective Inhibitors of Histone Deacetylases 1 and 2 Synergize with Azacitidine in Acute Myeloid Leukemia. *PLoS One* 2017;12(1):e0169128. doi: 10.1371/journal.pone.0169128.
18. Wang C., Ivanov A., Chen L. et al. MDM2 interaction with nuclear corepressor KAP1 contributes to p53 inactivation. *EMBO J* 2005;24(18):3279–90. doi: 10.1038/sj.emboj.7600791.
19. Lee Y.K., Thomas S.N., Yang A.J., Ann D.K. Doxorubicin down-regulates Kruppel-associated box domain-associated protein 1 sumoylation that relieves its transcription repression on p21WAF1/CIP1 in breast cancer MCF-7 cells. *J Biol Chem* 2007;282(3):1595–606. doi: 10.1074/jbc.M606306200.
20. Hurtz C., Hatzi K., Cerchiatti L. et al. BCL6-mediated repression of p53 is critical for leukemia stem cell survival in chronic myeloid leukemia. *J Exp Med* 2011;208(11):2163–74. doi: 10.1084/jem.20110304.
21. Rota S.G., Roma A., Dude I. et al. Estrogen Receptor β Is a Novel Target in Acute Myeloid Leukemia. *Mol Cancer Ther* 2017;16(11):2618–26. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0292.
22. Sánchez-Aguilera A., Arranz L., Martín-Pérez D. et al. Estrogen signaling selectively induces apoptosis of hematopoietic progenitors and myeloid neoplasms without harming steady-state hematopoiesis. *Cell Stem Cell* 2014;15(6):791–804. doi: 10.1016/j.stem.2014.11.002.
23. Picot T., Aanei C.M., Fayard A. et al. Expression of embryonic stem cell markers in acute myeloid leukemia. *Tumour Biol* 2017;39(7):1010428317716629. doi: 10.1177/1010428317716629.
24. Garros-Regulez L., Garcia I., Carrasco-Garcia E. et al. Targeting SOX2 as a Therapeutic Strategy in Glioblastoma. *Front Oncol* 2016;6:222. doi: 10.3389/fonc.2016.00222.
25. Hauses M., Tönjes R.R., Grez M. The transcription factor Sp1 regulates the myeloid-specific expression of the human hematopoietic cell kinase (HCK) gene through binding to two adjacent GC boxes within the HCK promoter-proximal region. *J Biol Chem* 1998;273(48):31844–52. PMID: 9822652.
26. Chen H.M., Pahl H.L., Scheibe R.J. et al. The Sp1 transcription factor binds the CD11b promoter specifically in myeloid cells *in vivo* and is essential for myeloid-specific promoter activity. *J Biol Chem* 1993;268(11):8230–9. PMID: 8096519.
27. Pabst T., Mueller B.U., Zhang P. et al. Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-alpha (C/EBPalpha), in acute myeloid leukemia. *Nat Genet* 2001;27(3):263–70. doi: 10.1038/85820.
28. Reeves H.L., Narla G., Ogunbiyi O. et al. Kruppel-like factor 6 (KLF6) is a tumor-suppressor gene frequently inactivated in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2004;126(4):1090–103. PMID: 15057748.
29. Humbert M., Halter V., Shan D. et al. Deregulated expression of Kruppel-like factors in acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2011;35(7):909–13. doi: 10.1016/j.leukres.2011.03.010.
30. Yu L., Hitchler M.J., Sun W. et al. AP-2alpha Inhibits c-MYC Induced Oxidative Stress and Apoptosis in HaCaT Human Keratinocytes. *J Oncol* 2009;2009:780874. doi: 10.1155/2009/780874.
31. Bennett K.L., Romigh T., Arab K. et al. Activator protein 2 alpha (AP2alpha) suppresses 42 kDa C/CAAT enhancer binding protein alpha (p42/C/EBPalpha) in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2009;124(6):1285–92. doi: 10.1002/ijc.24087.

Статья поступила в редакцию: 25.05.2018. Принята в печать: 06.07.2018.
Article was received by the editorial staff: 25.05.2018. Accepted for publication: 06.07.2018.

Анализ полиморфизмов в гене *TPMT* у детей с острым лейкозом на территории Красноярского края

А.А. Карнюшка¹, Т.Н. Субботина^{1,2}, Р.В. Шайхутдинова¹, М.В. Борисова², С.М. Лобанова², Т.Г. Кадричева²,
Н.А. Абель², Т.И. Булава², Е.А. Караваева², Е.А. Гусейнова², Л.М. Окладникова²

¹ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»; Россия, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79; ²КГБУЗ «Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства»; Россия, 660074, Красноярск, ул. Академика Киренского, 2А

Контактные данные: Анастасия Александровна Карнюшка miss.anastasia-box@yandex.ru

Введение. Лейкозы у детей составляют 40 % всех злокачественных новообразований в возрасте до 15 лет. Определение генетического портрета пациентов с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) помогает выявить полиморфизмы в генах, ответственных за метаболизм лекарственных препаратов, входящих в стандартные протоколы лечения.

Материалы и методы. В анализ частоты встречаемости полиморфизма гена *TPMT* включен 51 ребенок с подтвержденным диагнозом ОЛЛ. Выявление полиморфизмов *TPMT*2*, *TPMT*3A* и *TPMT*3* проводили с использованием набора реагентов «АмплиСенс® Пироскрин» и «ФАРМА-скрин-2б».

Результаты. Из 51 пациента полиморфизмы в гене *TPMT* обнаружены у 6 (11,8 %) детей. Из них 4 пациента имеют варианты аллели *TPMT*3A* и *TPMT*3C* и 2 пациента только *TPMT*3C*. Из 6 пациентов с полиморфизмом гена *TPMT* у 2 имеется транслокация *t(12;21)*.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, тиопуринометилтрансфераза, транслокации, острый лимфобластный лейкоз, меркаптопурин, дети

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-56-59

Analysis of polymorphisms in the *TPMT* gene in children with acute leukemia in the Krasnoyarsk Territory

A.A. Karnyushka¹, T.N. Subbotina^{1,2}, R.V. Shaikhutdinova¹, M.V. Borisova², S.M. Lobanova²,
T.G. Kadricheva², N.A. AbeP, T.I. Bulava², E.A. Karavaeva², E.A. Guseynova², L.M. Okladnikova²

¹Siberian Federal University; 79 Svobodny pr., 660041, Krasnoyarsk, Russia; ²Krasnoyarsk Regional Clinical Center of the Protection of the Maternal and Childhood; 2A Akademika Kirenskogo St., 660074, Krasnoyarsk, Russia

Introduction. Leukemia accounts for 40 % of all malignant neoplasms under the age of 15 years in children. Determination of the genetic portrait of patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) helps to identify polymorphisms in the genes responsible for the metabolism of drugs included in standard treatment protocols.

Materials and methods. 51 children with confirmed diagnosis of acute lymphoid leukemia (ALL) were included in the analysis of the frequency of polymorphism of *TPMT* gene. The detection of polymorphisms *TPMT*2*, *TPMT*3A* and *TPMT*3* was performed using a set of reagents "AmpliSens® Pyroskrin" & "FARMA-screen-2b".

Results. Polymorphisms in the *TPMT* gene of 51 patients were found in 6 (11.8 %) children. Of these, 4 patients have variant alleles *TPMT*3A* and *TPMT*3C* and 2 patients have only *TPMT*3C*. Of the 6 patients with *TPMT* polymorphism, two have a translocation *t(12;21)*.

Key words: genetic polymorphism, thiopurine S-methyltransferase, translocations, acute lymphoblastic leukemia, mercaptopurine, children

Введение

Лейкоз у детей — злокачественное заболевание кроветворной системы, характеризующееся опухолевой пролиферацией незрелых клеток — предшественников лейкоцитов. В структуре онкологических заболеваний у детей лейкозы занимают ведущее место и составляют 40 % всех злокачественных новообразований в возрасте до 15 лет. На острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) приходится 80 % случаев заболевания [1, 2].

Стандартные протоколы лечения детей с ОЛЛ включают различные цитотоксические препараты. Сила токсических реакций у детей с ОЛЛ зачастую

зависит от генетического портрета, т. е. комбинации генных полиморфизмов, опосредующих метаболизм лекарственных средств [3]. Наиболее клинически значимым и изученным препаратом при лечении ОЛЛ является 6-меркаптопурин. Меркаптопурин принадлежит к семейству тиопуриновых антиметаболитов, которые инактивируются ферментом тиопуринометилтрансферазой (*TPMT*) [4, 5].

Активность *TPMT* характеризуется огромной популяционной вариабельностью: у 90 % людей наблюдается нормальный уровень активности фермента, в то время как примерно у 10 % (в среднем у 1 из

300 человек) выражена недостаточность ферментативной активности *TPMT*. Низкая активность *TPMT* приводит к увеличению концентрации тиогуаниновых нуклеотидов в гемопоэтических клетках, которые, встраиваясь в молекулу ДНК, угнетают кроветворение, вызывая миелосупрессию при лечении стандартными дозами тиопуринов [6, 7]. Известно, что у детей с ОЛЛ при химиотерапии недостаточность *TPMT* вызывала угрожающее жизни угнетение кроветворения, вследствие чего гомозиготам по вариантным аллелям требовалось снижение дозы в 10 раз, гетерозиготам – в 2 раза. Кроме того, возрастал риск развития вторичных опухолей [8–10]. На сегодняшний день идентифицировано более 25 вариантов аллелей, которые кодируют фермент с пониженным уровнем активности белка [5]. Наиболее интенсивно изучаемыми в отношении не только молекулярных механизмов, но и клинических проявлений являются варианты аллели *TPMT*2* (Ala80Pro), *TPMT*3A* (Ala154Thr и Tyr240Cys) и *TPMT*3C* (Tyr240Cys) [8, 11].

Отмечается выраженная вариабельность встречаемости дефицита *TPMT* в зависимости от этнической принадлежности, в европейской популяции [9]. В российской популяции в центральных регионах частоты распределения данных аллелей составляют 0,2 % (*TPMT*2*); 4,5 % (*TPMT*3A*); 0,8 % (*TPMT*3C*) [6, 7]. В Красноярском крае подобные исследования не проводились. Таким образом, определение частотных характеристик носительства гена *TPMT* у детей с ОЛЛ на территории Красноярского края является актуальным для изучения влияния генетического полиморфизма *TPMT* на переносимость проводимой терапии и ее исходы.

Целью настоящей работы явилось выявление полиморфизмов в гене *TPMT* у детей с острым лейкозом в Красноярском крае.

Материалы и методы

В анализ частоты встречаемости полиморфных аллелей гена *TPMT* включен 51 ребенок с подтвержденным диагнозом ОЛЛ. Пациенты находились на стационарном лечении в отделении онкологии и гематологии КГБУЗ «Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства» в разные периоды с 09.2012 по 12.2017 и получали лечение по протоколам ALL-BFM-2002, ALL-MB-2008 и ALL-MB-2015. Средний возраст пациентов составил 10 ± 5 лет (медиана возраста – 10 лет). Выявление полиморфизмов *TPMT*2* (rs1800462), *TPMT*3A* (rs1800460) и *TPMT*3C* (rs1142345) проводили с использованием набора реагентов «АмплиСенс® Пироскрин» и «ФАРМА-скрин-26». Методика детекции генетических полиморфизмов включает следующие этапы: выделение ДНК из клинического материала; амплификация фрагмента, содержащего полиморфный

генетический locus, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР); пробоподготовка ПЦР-продукта; иммобилизация ПЦР-продукта на твердой поверхности и отжиг секвенирующего праймера в области анализируемого генетического локуса; секвенирование ПЦР-продукта – проведение реакции пиросеквенирования и анализ полученных результатов. Анализ продуктов амплификации проводили автоматически на приборе RyoMark Q24 (версия программного обеспечения – 2.0.6).

Результаты и обсуждение

Среди 51 ребенка, обследованного на наличие генетического полиморфизма *TPMT*, 6 имели полиморфные аллели гена *TPMT* (таблица), что согласуется с литературными данными [6, 7]. Из них 4 пациента имеют полиморфизм *TPMT*3A* и 2 – *TPMT*3C*. Нужно отметить, что у 12 больных, включенных в анализ на наличие полиморфизма *TPMT*, имелись выявленные нами ранее транслокации, ассоциированные с ОЛЛ [12]. Из 12 пациентов у 3 (25 %) был обнаружен полиморфизм в гене *TPMT*: у 2 – с транслокацией t(12;21) *ETV6/RUNX1* и у 1 больного – с t(4;11) *TCF3/PBX1*. Пациенту с полиморфным аллелем гена *TPMT* и транслокацией t(4;11) *TCF3/PBX1* была сделана пересадка костного мозга в Израиле, поэтому он не принимал меркаптопурин на этапах поддерживающей терапии.

Анализ полиморфизма гена TPMT у детей с ОЛЛ на территории Красноярского края

Analysis of TPMT gene polymorphism in children with acute lymphoblastic leukemia in the Krasnoyarsk Territory

Генотип <i>TPMT</i> Genotype <i>TPMT</i>	Число пациентов, n = 51 (%) Number of patients
W/W (гомозиготный «дикий» тип <i>TPMT*1</i>) (homozygous “wild” type <i>TPMT*1</i>)	45 (88,2)
W/M (мутантный гетерозиготный тип <i>TPMT*2</i> , <i>TPMT*3A</i> и <i>TPMT*3C</i>) (mutant heterozygous type <i>TPMT*2</i> , <i>TPMT*3A</i> & <i>TPMT*3C</i>)	6 (11,8) из них: 6 (11,8) of them: <i>TPMT*2</i> – 0 (0) <i>TPMT*3A</i> – 4 (66,7) <i>TPMT*3C</i> – 2 (33,3)
M/M (мутантный гомозиготный тип <i>TPMT*2</i> , <i>TPMT*3A</i> и <i>TPMT*3C</i>) (mutant homozygous type <i>TPMT*2</i> , <i>TPMT*3A</i> & <i>TPMT*3C</i>)	0 (0)

Распространенность полиморфных аллелей в гене *TPMT* у детей в Красноярском крае в целом соответствует частоте встречаемости в европейской популяции [6]. Согласно ранее проведенным исследованиям, Н.В. Чуповой [13] была описана корреляция между полиморфизмом в гене *TPMT* и транслокацией t(12;21) *ETV6/RUNX1*. В группе больных ОЛЛ выяв-

лена достоверно более высокая частота встречаемости транслокации t(12;21) *ETV6/RUNX1* у пациентов с полиморфизмом в гене *TPMT* по сравнению с пациентами без полиморфизма. Прогностическое значение такого случая в литературе не описано. В проведенном нами исследовании на наличие полиморфизма в гене *TPMT* из 6 больных с транслокацией t(12;21) *ETV6/RUNX1* у 2 был обнаружен полиморфизм в гене *TPMT*. У обнаруженных нами 5 пациентов с полиморфными аллелями, находящихся на этапах поддерживающей терапии тиопуринами, наблюдалась корректировка дозы в зависимости от уровня лейкоцитов по схеме, изложенной в протоколе.

Литературные данные свидетельствуют о том, что пациенты с ОЛЛ и низкой активностью *TPMT* имеют повышенный риск развития лекарственно-индуцируемых опухолей [8, 12]. У 6 больных со сниженной активностью гена *TPMT* из нашей выборки на данный момент не наблюдалось развития проявлений вторичных опухолей.

Заключение

Ответ пациентов с ОЛЛ на применение меркаптопурина зависит от их генетического портрета. У 6 из 51 обследованных нами больных ОЛЛ обнаружены полиморфные аллели в гене *TPMT*. У 2 из них имеется транслокация t(12;21) *ETV6/RUNX1*. На этапах под-

держивающей терапии при применении стандартных доз меркаптопурина у 5 пациентов с полиморфными аллелями гена *TPMT* наблюдалась корректировка дозы в зависимости от уровня лейкоцитов по схеме, изложенной в протоколе. У больных с полиморфизмами гена *TPMT* развития лекарственно-индуцируемых опухолей не наблюдалось. Тестирование на наличие генетических полиморфизмов в гене *TPMT* должно проводиться как можно раньше во избежание развития эпизодов гематотоксических осложнений в процессе лечения ОЛЛ, а также в целях индивидуального подбора дозы препарата, снижения риска развития вторичных опухолей и улучшения исходов у пациентов. Результаты по изучению полиморфных аллелей гена *TPMT* должны быть использованы для персонализации терапии и предотвращения негативных последствий лечения злокачественных новообразований у детей.

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Исследование проводилось без спонсорской поддержки.
The study was performed without external funding.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Jemal A., Siegel R., Ward E. et al. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009;59(4):225–49. doi: 10.3322/caac.20006.
- Mullighan C.G. The molecular genetic makeup of acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:389–96. doi: 10.1182/asheducation-2012.1.389.
- Имянитов Е.Н., Моисеенко В.М. Применение молекулярно-генетического анализа для выбора противоопухолевой цитостатической терапии. *Онкогематология* 2007;3:4–8. [Imyanitov E.N., Moiseenko V.M. The use of molecular genetic analysis for the selection of antitumor cytostatic therapy. *Onkohematologiya = Oncohematology* 2007;3:4–8. (In Russ.)].
- Моисеев А.А. Роль фармакогенетики в индивидуализации противоопухолевой химиотерапии. *Фарматека* 2013;8:15–20. [Moiseev A.A. The role of pharmacogenetics in the individualization of antitumor chemotherapy. *Farmateka = Pharmateka* 2013;8:15–20. (In Russ.)].
- Wang L., Pellemounter L., Weinshilboum R. et al. Very important pharmacogene summary: thiopurine S-methyltransferase. *Pharmacogenet Genomics* 2010;20(6):401–5. doi: 10.1097/FGP.0b013e3283352860.
- Наседкина Т.В. Анализ генетических изменений у человека в норме и при различных заболеваниях с использованием биологических микрочипов. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2010. [Nasedkina T.V. Analysis of genetic changes in humans in normal and with various diseases using biological microchips. Thesis abstract of ... Ph. D. Med. Moscow, 2010. (In Russ.)].
- Samochatova E.V., Chupova N.V., Rudneva A. et al. TPMT genetic variations in populations of the Russian Federation. *Pediatr Blood Cancer* 2009;52(2):203–8. doi: 10.1002/pbc.21837.
- Gervasini G., Vagace J.M. Impact of genetic polymorphisms on chemotherapy toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Front Genet* 2012;3:249. doi: 10.3389/fgene.2012.00249.
- Петина О.В., Зборовская А.А., Матевосян М.Л. и др. Клиническое значение полиморфизма гена тиопуринметилтрансферазы у детей с острым лимфобластным лейкозом при проведении программной терапии. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2017;4(2):78–84. [Petina O.V., Zborovskaya A.A., Matevosyan M.L. et al. Clinical significance of polymorphism of thiopurine methyltransferase gene in children with acute lymphoblastic leukemia during programmed therapy. *Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = Russian Journal of Children Hematology and Oncology* 2017;4(2):78–84. (In Russ.)].
- Петина О.В., Зборовская А.А. Случай развития второй опухоли у ребенка с острым лимфобластным лейкозом и генетическим полиморфизмом тиопуринметилтрансферазы и метиленте трагидрофолатредуктазы. *Онкологический журнал* 2017;11(2):42. [Petina O.V., Zborovskaya A.A. The case of development of a second tumor in a child with acute lymphoblastic leukemia and genetic polymorphism of thiopurine methyltransferase and methylenetetrahydrofolate reductase. *Onkologicheskii zhurnal = Oncological Journal* 2017;11(2):42. (In Russ.)].
- Tai H.L., Fessing M.Y., Bonten E.J. et al. Enhanced proteasomal degradation of mutant human thiopurine S-methyltransferase (TPMT) in mammalian cells: mechanism for TPMT protein deficiency inherited by *TPMT*2*, *TPMT*3A*, *TPMT*3B* or *TPMT*3C*. *Pharmacogenetics* 1999;9(5):641–50. PMID: 10591545.
- Субботина Т.Н., Карнюшка А.А., Шайхутдинова Р.В. и др. Опыт определения хромосомных aberrаций и мутаций *JAK2 V617F* у детей с острым лейкозом в Красноярском крае. *Клиническая лабораторная диагностика* 2016;61(9):602. [Subbotina T.N., Karnyushka A.A., Shaykhutdinova R.V. et al. Experience in the determination of chromosome aberrations and mutations *JAK2 V617F* in children with acute leukemia in the Krasnoyarsk Territory. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics* 2016;61(9):602. (In Russ.)].
- Чупова Н.В., Самочатова Е.В., Руднева А.Е. и др. Генетический полиморфизм тиопурин-S-метилтрансферазы в лечении детей с острым лимфобластным лейкозом. *Гематология и трансфузиология* 2005;50(60):3–9. [Chupova N.V., Samochatova E.V., Rudneva A.E. et al. Genetic polymorphism of thiopurine-S-methyltransferase and treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusion* 2005;50(60):3–9. (In Russ.)].

Статья поступила в редакцию: 30.03.2018. Принята в печать: 06.07.2018.
Article was received by the editorial staff: 30.03.2018. Accepted for publication: 06.07.2018.

РЖДГиО |

Подписка на журнал для стран СНГ

Уважаемые коллеги, появилась возможность оформить **ПЛАТНУЮ** подписку на «Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО)» для стран ближнего зарубежья и СНГ!

Вы можете воспользоваться любым удобным ресурсом для онлайн-оформления данной услуги:

• www.pressa-ru.ru — официальный сайт объединенного каталога «Пресса России»;

• www.press-med.ru — интернет-магазин медицинских книг и профессиональной периодики для врачей;
• <https://www.akc.ru> — агентство по распространению зарубежных изданий.

Или прийти в любое почтовое отделение Почты России и оформить подписку по каталогу «Пресса России». Индекс издания — 93505.

Эффективность и безопасность препарата Октофактор при профилактическом лечении у пациентов с тяжелой гемофилией А

Т.А. Андреева¹, В.Ю. Зоренко², И.Л. Давыдкин³, В.Н. Константинова¹, О.Э. Залепухина¹,
Н.И. Климова¹, А.В. Ким¹, Г.В. Мишин², А.В. Кречетова², И.В. Куртов³, М.С. Шамина³,
О.А. Гусякова³, М.В. Курапова³, А.М. Шустер⁴, Д.А. Кудлай⁴

¹СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 37», Городской центр по лечению гемофилии; Россия, 191186, Санкт-Петербург, ул. Гороховая, 6; ²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167, Москва, Новый Зыковский проезд, 4; ³ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 443099, Самара, ул. Чапаевская, 89; ⁴АО «ГЕНЕРИУМ»; Россия, 123317, Москва, ул. Тестовская, 10

Контактные данные: Татьяна Андреевна Андреева spbhc@msn.com

Актуальность. Разработка нового рекомбинантного препарата фактора свертывания крови VIII является перспективным шагом к оптимизации лечения гемофилии А. Внедрению нового препарата в клиническую практику предшествует проведение клинических исследований для оценки его эффективности и безопасности.

Материалы и методы. Изучены эффективность и безопасность отечественного рекомбинантного фактора свертывания крови VIII (FVIII) с удаленным В-доменом (мороктоког альфа, Октофактор®, АО «ГЕНЕРИУМ») при профилактическом лечении 31 пациента в возрасте от 21 года до 52 лет с тяжелой гемофилией А. Октофактор вводили в дозе 40 ± 5 МЕ/кг 3 раза в неделю с интервалом не менее 48 ч в течение 21 ± 1 нед.

Результаты. Эффективность терапии оценивали у 30 пациентов, поскольку 1 больной отказался от участия в исследовании после 1-й инъекции исследуемого препарата. На фоне профилактического лечения препаратом Октофактор было зарегистрировано 43 эпизода кровотечений у 11 пациентов. Среднее количество эпизодов кровотечений составило $1,4 \pm 2,58$. Из 43 геморрагических эпизодов 9 (20,9 %) кровотечений были посттравматическими, 34 (79,1 %) – спонтанными. Среднее количество эпизодов спонтанных кровотечений (основной критерий эффективности) составило $1,13 \pm 2,19$, что свидетельствовало о низкой частоте обострений геморрагического синдрома на фоне профилактического лечения препаратом Октофактор. Среди всех зарегистрированных геморрагических эпизодов 6 (14 %) были легкими, 37 (86 %) – среднетяжелыми. Среди спонтанных кровотечений 6 (17,6 %) эпизодов были легкими и 28 (82,4 %) – среднетяжелыми. Все посттравматические кровотечения были среднетяжелыми. Подавляющее большинство (36, или 83,7 %) геморрагических эпизодов были купированы одним введением препарата Октофактор. Среднее количество введений препарата Октофактор для купирования 1 геморрагического эпизода составило $1,2 \pm 0,56$, 1 эпизода спонтанного кровотечения – $1,2 \pm 0,59$. Для купирования 1 эпизода кровотечения в среднем было необходимо ввести $3534,9 \pm 2329,02$ МЕ препарата Октофактор. У подавляющего большинства пациентов с тяжелой гемофилией А (83,3–86,7 %) остаточная активность FVIII через 48 ч после введения препарата Октофактор была 1 % и более. Общее количество препарата Октофактор, введенного для профилактики кровотечений, составило 6 107 000 МЕ, для остановки кровотечений – 152 000 МЕ. Безопасность терапии оценивали у 31 пациента. У 17 больных были зарегистрированы 25 нежелательных явлений (НЯ). Среди них преобладали лабораторные, не связанные с применением исследуемого препарата, – 23 (92 %) случая. У 1 пациента во время 1-го введения препарата Октофактор отмечались тошнота и неприятный привкус во рту, в связи с чем он отказался от дальнейшего участия в исследовании. Связь данных 2 НЯ с исследуемым препаратом была расценена как определенная. Такие НЯ являются ожидаемыми и описаны в инструкции к препарату. Все НЯ были несерьезными и легкими и разрешились без последствий. Тромбоэмболических осложнений и иммуногенных реакций зарегистрировано не было. **Выводы.** Полученные данные свидетельствуют об эффективности и безопасности препарата Октофактор как для профилактики, так и для остановки кровотечений у взрослых пациентов с тяжелой гемофилией А.

Ключевые слова: пациенты старше 18 лет, гемофилия А, рекомбинантный препарат фактора VIII с удаленным В-доменом, Октофактор, профилактическое лечение, эффективность, безопасность

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-60-73

Efficacy and safety of the drug Octofactor in prophylactic treatment in patients with severe haemophilia A

T.A. Andreeva¹, V.Yu. Zorenko², I.L. Davydkin³, V.N. Konstantinova¹, O.E. Zalepukhina¹,
N.I. Klimova¹, A.V. Kim¹, G.V. Mishin², A.V. Krechetova², I.V. Kurtov³, M.S. Shamina³,
O.A. Gusyakova³, M.V. Kurapova³, A.M. Shuster⁴, D.A. Kudlay⁴

¹City polyclinic № 37, City center for the treatment of hemophilia; 6 Gorokhovaya St., Saint Petersburg, 191186, Russia;

²National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyi Zykovskiy proezd, Moscow, 125167, Russia;

³Samara State Medical University, Ministry of Health of Russia; 89 Chapaevskaya St., Samara, 443099, Russia;

⁴JSC "GENERIUM"; 10 Testovskaya St., Moscow, 123317, Russia

Relevance. The development of a new recombinant blood coagulation factor VIII preparation is a promising step towards optimizing the treatment of hemophilia A. An introduction of a new medication into clinical practice precedes a clinical trials to evaluate the efficacy and safety.

Materials and methods. The efficacy and safety of the domestic recombinant B-domain deleted blood coagulation factor VIII (FVIII) (morotocog alfa, Octofactor®, JSC "GENERIUM") were studied in the preventive treatment of 31 patients aged 21 to 52 years with severe haemophilia A. The Octofactor was administered in doses of 40 ± 5 IU/kg 3 times per week at intervals of at least 48 hours for 21 ± 1 weeks.

Results. The efficacy of therapy was evaluated in 30 patients, since 1 patient refused to participate in the trial after the first injection of the study medication. There were registered 43 episodes of bleeding among 11 patients in the course of the preventive treatment with Octofactor. The average number of bleeding episodes was 1.4 ± 2.58 . There were 43 bleeding episodes, 9 (20.9 %) of them were posttraumatic, 34 (79.1 %) of them were spontaneous. The average number of the spontaneous bleeding episodes (a major criterion of the efficacy) was 1.13 ± 2.19 , which showed a low incidence of exacerbations of the hemorrhagic syndrome in the course of preventive treatment with Octofactor. Among all registered bleeding episodes there were 6 (14 %) mild episodes, 37 (86 %) moderate episodes. Among all spontaneous bleedings there were 6 mild episodes (17.6 %), 28 (82.4 %) moderate episodes. All posttraumatic bleedings were moderate. The vast majority (36, or 83.7 %) of bleeding episodes were stopped with administration of the Octofactor. The average number of administrations of the Octofactor for arresting 1 bleeding episode was 1.2 ± 0.56 , for 1 spontaneous bleeding episode – 1.2 ± 0.59 . On average, it was required to administer 3534.9 ± 2329.02 IU of the Octofactor to stop 1 episode of bleeding. In the vast majority of patients with severe hemophilia A (83.3–86.7 %), the remaining activity FVIII was 1 % or more after the administration of the Octofactor in 48 hours. The total amount of the Octofactor, introduced for the prevention of bleeding, was 6,107,000 IU, to stop bleeding – 152,000 IU. The safety of therapy was evaluated in 31 patients. There were recorded 25 adverse events (AE) in 17 patients. Among them the laboratory ones prevailed in 23 (92 %) cases, which is not associated with the use of the trial medication. There were noted nausea and an unpleasant aftertaste in the mouth in 1 patient during the first administration of the Octofactor, and therefore he refused to continue to participate in the trial. Causality 2 AE with the study drug was regarded as definite. Such AE are expected and described in the instructions to the preparation. All AE were not serious and mild and resolved without outcomes. There were no presented thromboembolic events and immunogenic reactions.

Conclusions. The obtained data testify to the efficacy and safety of the Octofactor both for preventive measures and for stopping bleeding in adult patients with severe hemophilia A.

Key words: patients over 18 years old, haemophilia A, recombinant preparation of factor VIII with B-domen deleted, Octofactor, prophylactic treatment, efficacy, safety

Актуальность

За последние десятилетия гемофилия превратилась из безнадежного и зачастую смертельного недуга в заболевание с определенной молекулярной основой, для которого доступны безопасные и эффективные методы терапии. Современные методы лечения гемофилии включают купирование геморрагических эпизодов, профилактику кровотечений с помощью заместительной терапии, генетическое консультирование семьи, физическую и психосоциальную реабилитацию для повышения качества жизни пациентов [1]. Целью профилактического лечения является перевод тяжелой гемофилии в среднетяжелую или легкую за счет регулярного (2–3 раза в неделю) введения факторов свертывания крови даже при отсутствии кровотечений. Всемирная федерация гемофилии (World Federation

of Hemophilia, WFH) рекомендует использовать профилактическое лечение для предупреждения кровотечений, прежде всего гемартрозов и кровоизлияний в мышцы, являющихся основными клиническими проявлениями гемофилии А, а, следовательно, для предотвращения разрушения суставов и сохранения костно-мышечной функции [1–7]. До недавнего времени в России в качестве заместительной терапии при лечении гемофилии использовали факторы свертывания крови (как плазматические, так и рекомбинантные) зарубежного производства, которые не всегда были доступны в достаточном количестве, что приводило к частой смене препарата у пациентов. Ситуация принципиально изменилась с появлением на российском рынке рекомбинантных факторов свертывания крови отечественного производства.

В 2010 г. АО «ГЕНЕРИУМ» (Россия) был создан препарат Октофактор® – рекомбинантный фактор свертывания крови VIII (FVIII) с удаленным В-доме-ном (B-domain deleted rFVIII–BDDrFVIII, мороктоког альфа), предназначенный для лечения гемофилии А. С момента создания препарата был проведен ряд доклинических и клинических исследований. В ходе I фазы клинического исследования (протокол № КИ-15/11) были изучены фармакокинетические свойства, безопасность и переносимость препарата Октофактор, вводимого однократно в разных дозах, у больных гемофилией А [8], а в ходе II–III фазы клинического исследования (контролируемое, рандомизированное, открытое в параллельных группах, проспективное, многоцентровое клиническое исследование по протоколу № КИ-16/11) – эффективность и безопасность препарата Октофактор в сравнении с препаратом Октанат® (“Octapharma Pharmazeutika Produktionsges m.b.H.”, Австрия) при профилактическом лечении (1-я часть) и лечении по требованию (2-я часть) кровотечений у пациентов с тяжелой и среднетяжелой гемофилией А [9, 10]. Указанные исследования проводились у взрослых пациентов (старше 18 лет) и показали, что отечественный BDDrFVIII (Октофактор) по фармакокинетическим свойствам, эффективности и безопасности сопоставим с плазматическим FVIII (Октанат) и его можно использовать как для купирования геморрагических эпизодов, так и в качестве профилактического лечения у пациентов с тяжелой и среднетяжелой гемофилией А [9, 10]. На основании результатов исследования II–III фазы (протокол № КИ-16/11) Минздрав России выдал регистрационное удостоверение для медицинского применения препарата в РФ (ЛП-002015 от 26.02.2013). Октофактор применяется в РФ для лечения гемофилии А с 2013 г. Также эффективность и безопасность препарата Октофактор была изучена в ходе проспективного, многоцентрового исследования IV фазы у 11 пациентов в возрасте от 12 до 18 лет с тяжелой формой гемофилии А (протокол № КИ-29/14) [11].

Согласно руководству Европейского агентства лекарственных средств (European Medicines Agency, EMA) по клиническим исследованиям препаратов FVIII от 21.07.2011 [12], общее число ранее леченых пациентов старше 12 лет, получивших не менее 50 введений исследуемого препарата, должно составлять по меньшей мере 50 человек. С учетом уже имеющихся данных об эффективности и безопасности препарата Октофактор при профилактическом лечении среднетяжелой и тяжелой гемофилии А у 9 пациентов старше 18 лет (протокол № КИ-16/11) [9] и у 11 больных в возрасте от 12 до 18 лет (протокол № КИ-29/14) [11] проведено дальнейшее изучение эффективности и безопасности препарата Октофактор у 30 ранее леченых пациентов с тяжелой формой гемофилии А в рамках IV фазы клинических исследований.

Данная статья посвящена результатам проспективного, многоцентрового клинического исследования эффективности и безопасности препарата Октофактор у больных тяжелой гемофилией А (IV фаза, протокол № КИ-30/14).

Задачи исследования:

1. Оценить эффективность препарата Октофактор для профилактики развития кровотечений.
2. Оценить эффективность препарата Октофактор для остановки кровотечений, возникших на фоне профилактического лечения.
3. Изучить остаточную активность FVIII на фоне профилактической терапии препаратом Октофактор.
4. Оценить безопасность препарата Октофактор при профилактическом лечении.

Материалы и методы

Исследование проводили в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (Форталеза, Бразилия, октябрь 2013 г.), Федеральными законами РФ «Об обращении лекарственных средств» № 61-ФЗ от 12.04.2010 и «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» № 323-ФЗ от 21.11.2011, Национальным стандартом РФ ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» (утвержден Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27.09.2005 № 232-ст).

Каждый пациент до начала исследования получил информационный листок с описанием исследования и дал добровольное письменное подтверждение своего согласия на участие в нем.

В исследовании приняли участие 3 центра: Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) гематологии (ранее Гематологический научный центр) Минздрава России (Москва), главный исследователь – руководитель отдела гемофилии и других коагулопатий д.м.н., профессор В.Ю. Зоренко; Городская поликлиника № 37 (Санкт-Петербург), главный исследователь – заведующая Городским центром по лечению гемофилии к.м.н. Т.А. Андреева; Самарский государственный медицинский университет (СамГМУ) Минздрава России, главный исследователь – заведующий кафедрой госпитальной терапии с курсом трансфузиологии, директор НИИ гематологии, трансфузиологии и интенсивной терапии д.м.н., профессор И.Л. Давыдкин.

Ожидаемая продолжительность участия пациентов в исследовании эффективности и безопасности препарата Октофактор составляла 21 ± 1 нед с момента 1-го введения препарата (визит 1) до последнего 4-го визита, но не менее 50 дней введения исследуемого препарата. При необходимости период лечения мог быть увеличен на срок, необходимый для выполнения

50 введений исследуемого препарата пациенту. Дата начала исследования – 25.09.2014, дата окончания исследования – 27.05.2015.

Спонсор исследования – АО «ГЕНЕРИУМ».

После отмывочного периода длительностью не менее 96 ч проводили скрининговое обследование пациентов, которое включало сбор анамнеза, физикальный осмотр, регистрацию показателей жизненно важных функций (измерение артериального давления (АД), температуры тела, подсчет частоты сердечных сокращений (ЧСС) и частоты дыхания (ЧД), определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), международного нормализованного отношения (МНО), активности FVIII, титра ингибитора к FVIII, концентрации D-димеров, выполнение общего и биохимического анализов крови, общего анализа мочи, определение антител к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ), поверхностного антигена вируса гепатита В (HBs-Ag) и антител к вирусу гепатита С (HCV). Длительность периода скринингового обследования составляла не более 14 сут.

Критерии включения пациентов в исследование:

- возраст от 18 до 65 лет (на момент отбора в исследование);
- тяжелая форма гемофилии А (активность FVIII менее 1 %);
- отсутствие ингибитора к FVIII при проведении скрининга и в анамнезе заболевания (титр ингибитора менее 0,6 БЕ по результатам пробы Неймеген);
- предшествующее применение препаратов FVIII (150 дней введения и более);
- подписание пациентом формы информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии невключения пациентов в исследование:

- наследственная или приобретенная геморрагическая коагулопатия другого генеза (не связанная с гемофилией А);
- превышение верхней границы нормы МНО локальной лаборатории в 1,5 раза и более;
- наличие признаков тромбоемболий, фибринолиза или синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания;
- инфицированность ВИЧ;
- наличие в анамнезе пациента аллергических реакций на введение мороктокога альфа;
- хирургическое вмешательство, запланированное на время участия пациента в исследовании (за исключением хирургических вмешательств, необходимых по экстренным медицинским показаниям во время исследования);
- нарушение функции почек, при котором концентрация сывороточного креатинина более чем в 1,5 раза превышает верхнюю границу нормы локальной лаборатории;

- тяжелая печеночная недостаточность или болезнь печени в активной форме, в том числе вызванная вирусами гепатита В и С (активность трансаминаз, превышающая в 5 раз верхнюю границу нормы локальной лаборатории);

- тромбоцитопения (количество тромбоцитов менее $100,0 \times 10^9/л$);
- острые инфекционные заболевания;
- тяжелые соматические заболевания, которые, по мнению врача-исследователя, могут повлиять на безопасность пациента и его способность соблюдать требования протокола;
- психические заболевания, тяжелые когнитивные расстройства, алкогольная или наркотическая зависимость;
- участие в другом клиническом исследовании в период до 14 дней перед включением в данное исследование.

Информационный листок с формой информированного согласия подписали 34 пациента мужского пола с тяжелой формой гемофилии А (активность FVIII менее 1 %). У 3 больных в результате скринингового обследования были выявлены антитела к ВИЧ, что соответствовало критериям невключения. Таким образом, в исследование был включен 31 пациент с тяжелой формой гемофилии А. Во время 1-го введения исследуемого препарата у 1 больного отмечались тошнота и неприятный привкус во рту, в связи с чем он отказался от дальнейшего участия в клиническом исследовании. Завершили свое участие в исследовании в соответствии с протоколом 30 пациентов. Число больных, обследованных в каждом центре и включенных в исследование, представлено в табл. 1.

Октофактор вводили внутривенно струйно медленно (в течение 2–5 мин). При профилактическом лечении разовая доза препарата Октофактор составляла 40 ± 5 МЕ/кг с интервалом не менее 48 ч (3 раза в неделю: понедельник, среда, пятница) в течение 21 ± 1 нед. Введению 1-й дозы препарата Октофактор предшествовал отмывочный период продолжительностью не менее 4 сут с момента последнего введения используемого ранее препарата FVIII.

Разовую дозу препарата Октофактор для купирования возникающих посттравматических или спонтанных кровотечений на фоне профилактического лечения рассчитывали с учетом тяжести и локализации кровотечения и необходимого повышения активности FVIII (табл. 2) по формуле [13, 14]:

В ходе исследования были запланированы 4 посещения врача (визита): 1-е посещение – 1-й день введения препарата и 3 посещения на сроках 4 ± 1 , 12 ± 1 и 21 ± 1 нед. Во время 1-го посещения до введения

$$\begin{matrix} \text{Необходимое} \\ \text{количество} \\ \text{препарата} \\ \text{(в МЕ)} \end{matrix} = \begin{matrix} \text{Масса} \\ \text{тела} \\ \text{(в кг)} \end{matrix} \times \begin{matrix} \text{Необходимое} \\ \text{повышение} \\ \text{активности} \\ \text{FIX (\% или} \\ \text{МЕ/дл)} \end{matrix} \times \begin{matrix} 0,5 \\ \text{(МЕ/кг на} \\ \text{МЕ/дл)} \end{matrix}$$

Таблица 1. Число пациентов с тяжелой гемофилией А, обследованных и включенных в исследование в каждом центре
Table 1. The number of patients with severe haemophilia A, examined and included in the study in each center

Центр Centre	Число пациентов Number of patients		
	обследованные на этапе скрининга examined at step screening	включенные в исследование included in the study	завершившие исследование completed the study
НМИЦ гематологии Минздрава России (Москва) NMRC for Hematology of the Ministry of Health of Russia (Moscow)	10	10	10
Городская поликлиника № 37 (Санкт-Петербург) City polyclinic № 37 (Saint Petersburg)	11	11	10
СамГМУ Минздрава России Samara State Medical University, Ministry of Health of Russia	13	10	10
Всего Total	34	31	30

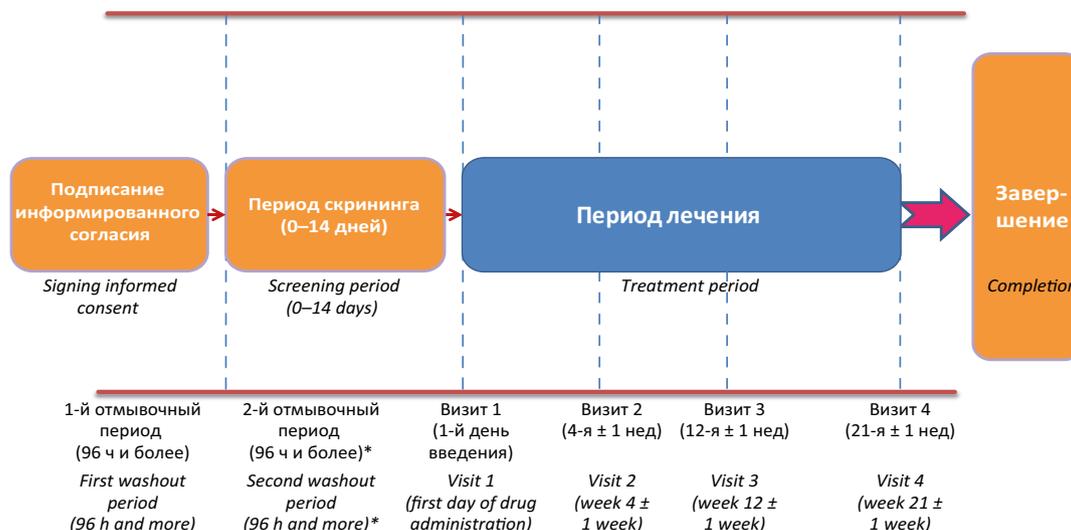
Таблица 2. Необходимое повышение активности FVIII и кратность введения препарата
Table 2. Necessary increase in FVIII activity and multiplicity of drug administration

Тяжесть кровотечения Severity of bleeding	Характеристика кровотечения Characteristic bleeding	Необходимое повышение активности FVIII Necessary increase in activity FVIII	Кратность и длительность введения препарата Multiplicity and duration of drug administration
Легкое Mild	Несильные поверхностные кровотечения, начальные признаки гемартроза или кровоизлияния в мышцу Mild superficial bleeding, initial signs of hemarthrosis or hemorrhage to the muscle	20–40 % или 20–40 МЕ/дл	Каждые 12–24 ч, минимально в течение одних суток Every 12–24 hours, minimum for one day
Среднетяжелое Moderate	Гемартроз, значительные кровоизлияния в мышцу, гематома Hemarthrosis, significant hemorrhage in the muscle, hematoma	30–60 % или 30–60 МЕ/дл	Каждые 12–24 ч, минимально в течение 3–4 сут Every 12–24 hours, minimally for 3–4 days
Тяжелое Severe	Угрожающие жизни кровотечения (глочные, внутрибрюшные), кровоизлияние в мозг, гемоторакс Life-threatening bleeding (pharyngeal, intra-abdominal), cerebral hemorrhage, hemothorax	60–100 % или 60–100 МЕ/дл	Каждые 8–12 ч до полной остановки кровотечения или каждые 8–24 ч до устранения угрозы для жизни Every 8–12 hours until the bleeding stops completely or every 8–24 hours until the threat of life is eliminated

исследуемого препарата проводили физикальный осмотр, оценивали показатели жизненно важных функций, определяли АЧТВ и активность FVIII (до введения и через 30 мин после введения препарата). Во время 3 последующих посещений до введения исследуемого препарата проводили физикальный осмотр, оценивали показатели жизненно важных функций, определяли АЧТВ, активность FVIII, титр ингибитора к FVIII, выполняли общий и биохимический анализы крови, во время 4-го посещения дополнительно проводили общий анализ мочи.

Дизайн исследования представлен на рисунке.

В течение всего периода исследования (21 ± 1 нед) больные вели дневник, в котором фиксировали все случаи кровотечений, их продолжительность, локализацию, тип (внутренние или наружные, спонтанные или посттравматические). Во время посещений врач-исследователь оценивал тяжесть кровотечений с последующим внесением в дневник пациента. Также регистрировали количество инъекций препарата Октофактор, которое потребовалось для купирования развившихся кровотечений.



Дизайн исследования эффективности и безопасности препарата Октофактор у пациентов с тяжелой гемофилией А (* – 2-й отмывочный период проводили в том случае, если при проведении скрининга вводили используемый ранее препарат FVIII)

Design of the efficacy and safety of the drug Octofactor in patients with severe hemophilia A study (* – 2nd washout period was carried out when the drug FVIII was administered during screening)

Основаниями досрочного прекращения участия в данном исследовании (**критериями исключения**) отдельного пациента являлись:

- реакция гиперчувствительности, связанная с введением препарата Октофактор;
- появление ингибитора к FVIII (титр 0,6 БЕ и более по результатам пробы Неймеген), подтвержденное повторным исследованием;
- развитие серьезного НЯ, связанного с введением препарата Октофактор;
- несоблюдение требований протокола;
- отказ больного от участия в исследовании;
- изменение течения заболевания пациента, требующее неотложного хирургического или терапевтического вмешательства, которое, по мнению врача-исследователя, должно включать запрещенную сопутствующую терапию;
- неэффективность препарата Октофактор при профилактическом лечении или лечении кровотечения по требованию.

Основным критерием эффективности являлось количество спонтанных кровотечений, возникших в течение 48 ч после введения препарата Октофактор, за 21 ± 1 нед профилактического лечения, дополнительными критериями – степень тяжести спонтанных кровотечений, количество введений препарата Октофактор для купирования 1 эпизода кровотечения с учетом его тяжести, общее количество препарата Октофактор, введенного за период профилактического лечения и лечения по требованию, число пациентов с тяжелой гемофилией А с остаточной активностью FVIII 1 % и более через 48–72 ч после введения препарата Октофактор на фоне профилактического лечения.

Эффективность терапии оценивали у 30 пациентов, поскольку 1 больной отказался от участия в исследовании после 1-й инъекции препарата Октофактор.

Активность FVIII определяли с помощью унифицированного одностадийного клоттингового метода. Повышение активности FVIII через 30 мин после введения исследуемого препарата (incremental recovery – K-value, МЕ/дл на МЕ/кг) рассчитывали по формуле:

$$K\text{-value} = C_{30\text{ мин}} / D_{iv}$$

где $C_{30\text{ мин}}$ – концентрация FVIII через 30 мин после введения препарата в МЕ/дл, D_{iv} – доза внутривенно введенного препарата в МЕ/кг.

Оценку безопасности исследуемого препарата проводили на основании следующих критериев:

- частота и тяжесть НЯ, связанных с применением препарата Октофактор;
- частота аллергических реакций;
- частота тромбоэмболических осложнений;
- частота образования ингибирующих антител к FVIII (титр 0,6 БЕ и более по результатам пробы Неймеген, подтвержденный повторным исследованием);
- частота возникновения патологических изменений общего и биохимического анализов крови, показателей жизненно важных функций (АД, ЧСС, ЧД, температура тела).

Оценку безопасности терапии препаратом Октофактор проводили у 31 пациента.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью программы SPSS, версия 17.0. В анализ включали данные только имеющих наблюдения, отсутствующие значения не восстанавливали. Значения показателей представлены в виде среднего

(M) ± стандартное отклонение (SD), медианы (Me) и минимального и максимального значений.

Результаты исследования и их обсуждение

Характеристики пациентов, включенных в исследование, приведены в табл. 3.

Аллергологический анамнез: у 9 (29 %) пациентов отмечалась аллергическая реакция (крапивница, удушье, отек Квинке, озноб, повышение температуры тела, головная боль, рвота, боли в животе и поясничной области) на введение компонентов крови (све-

Таблица 3. Характеристики пациентов с тяжелой гемофилией А, включенных в исследование (n = 31)

Table 3. The characteristics of patients with severe hemophilia A, included in the study (n = 31)

Показатель Indicator	Значение Value
Возраст, годы: Age, years:	
средний (M ± SD) average (M ± SD)	37,16 ± 8,73
Me median	36,00
разброс range	21–52
Масса тела, кг: Body weight, kg:	
средняя (M ± SD) average (M ± SD)	77,74 ± 13,42
Me median	76
разброс range	55–100
Длительность симптомов гемофилии А, годы: Duration of symptoms of hemophilia A, years:	
средняя (M ± SD) average (M ± SD)	36,93 ± 8,55
Me median	36,28
разброс range	21,3–51,4
Давность установления диагноза, годы: Time of diagnosis, years:	
средняя (M ± SD) average (M ± SD)	36,19 ± 9,10
Me median	35,31
разброс range	21,3–51,4

жезамороженной или антигемофильной плазмы или криопреципитата).

Из сопутствующих заболеваний у пациентов, включенных в исследование, были выявлены: вирусный гепатит С (у 29, или 93,5 %), гемофилическая артропатия (у 21, или 67,7 %), артериальная гипертензия (у 6, или 19,4 %), миопия (у 2, или 6,5 %), сколиоз грудного и поясничного отделов позвоночника (у 2, или 6,5 %), бельмо роговицы IV степени (у 1, или 3,2 %), бронхиальная астма (у 1, или 3,2 %), пресбиопия (у 1, или 3,2 %), синусовая тахикардия (у 1, или 3,2 %), хронический пиелонефрит (у 1, или 3,2 %). У 1 (3,2 %) больного сопутствующей патологии не обнаружено.

На этапе скрининга антитела к HCV были выявлены у 29 (93,5 %) пациентов, к HBs-Ag – у 1 (3,2 %) больного.

За 5 мес, предшествовавших включению в исследование, у 12 (38,7 %) пациентов обострения геморрагического синдрома наблюдались 1 раз в неделю и чаще, у 6 (19,4 %) – 1 раз в 2 нед и чаще, у 13 (41,9 %) больных – 1 раз в месяц и чаще (табл. 4). У 2 (6,5 %) пациентов кровотечения были тяжелыми, у 29 (93,5 %) – среднетяжелыми. В основном геморрагические эпизоды были представлены посттравматическими и спонтанными гемартрозами и гематомами, у некоторых пациентов отмечались десневые и носовые кровотечения. У 5 (16,1 %) больных кровотечения купировались после однократного введения препарата FVIII, 22 (71 %) пациентам требовалось 2 введения, 4 (12,9 %) – 3 введения препарата FVIII. У 20 (64,5 %) больных ранее применяли как рекомбинантные, так и плазматические факторы свертывания крови, у 11 (35,5 %) пациентов – только плазматические препараты (см. табл. 4).

У включенных в исследование пациентов чаще всего были поражены голеностопные, коленные и локтевые суставы (табл. 5).

Средняя продолжительность периода с момента последнего применения препарата FVIII до включения в исследование составила 5,16 ± 1,5 дня.

Показатели фармакокинетики и фармакодинамики

При обследовании во время скрининга и 1-го визита у пациентов с тяжелой гемофилией А, включенных в исследование, до введения препарата Октофактор отмечалась выраженная гипокоагуляция. Среднее значение АЧТВ при скрининге составило 101,10 ± 22,15 с (табл. 6), что более чем в 2 раза превышало верхнюю границу нормы локальной лаборатории для данного показателя (референсные значения – 25,5–43,0 с). Активность FVIII была исходно низкой и при скрининге составила 0,81 ± 0,23 % (референсные значения – 50–150 %). Гипокоагуляция и низкая активность FVIII также отмечались у пациентов во время 1-го визита до введения препарата Октофактор. Среднее значение АЧТВ до вве-

Таблица 4. Частота кровотечений у пациентов с тяжелой гемофилией А за 5 мес, предшествующих включению в исследование, и методы их коррекции

Table 4. The frequency of bleeding in patients with severe haemophilia A for 5 months prior to enrollment, and methods for their correction

Показатель Indicator	Число пациентов Number of patients	
	абс. abs.	%
Частота кровотечений: Frequency of bleeding:		
1 раз в день и более 1 time per day and more	0	0
1 раз в неделю и более 1 time per week and more	12	38,7
1 раз в 2 нед и более 1 time in 2 weeks and more	6	19,4
1 раз в месяц и более 1 time per month and more	13	41,9
Факторы свертывания крови: Factors of blood coagulation:		
плазматические и рекомбинантные plasma and recombinant	7	46,6
только плазматические only plasma	4	26,7

дения препарата Октофактор составило $107,05 \pm 25,90$ с. Через 30 мин после введения коагуляционная активность FVIII нормализовалась и составила $86,53 \pm 41,01$ %, что сопровождалось снижением АЧТВ до $38,97 \pm 5,41$ с. Во время 2, 3 и 4-го визитов перед введением препарата Октофактор АЧТВ было резко повышено, но его значения были меньше, чем при обследовании в ходе скрининга. На фоне профилактического введения препарата Октофактор активность FVIII была более 3–4 % (см. табл. 6). Поддержание остаточной активности FVIII 1 % и более являлось в данном исследовании дополнительным критерием эффективности терапии у пациентов с тяжелой формой гемофилии А.

Среднее значение повышения активности FVIII (K-value) через 30 мин после введения препарата Октофактор составило $2,09 \pm 0,97$ МЕ/дл на МЕ/кг ($0,78$ – $6,06$ МЕ/дл на МЕ/кг), что свидетельствует о хороших фармакокинетических свойствах препарата у пациентов с тяжелой гемофилией А.

Исследование международного нормализованного отношения, концентрации D-димера и титра ингибитора к FVIII на этапе скрининга

У всех пациентов, включенных в исследование, МНО на этапе скрининга было в пределах нормы. Среднее значение МНО составило $1,01 \pm 0,09$. Концентрация D-димера также была в пределах нормы.

Таблица 5. Патологические изменения суставов у включенных в исследование пациентов с тяжелой гемофилией А

Table 5. Pathological changes in the joints of patients with severe haemophilia A included in the study

Пораженный сустав Affected joint	Число пациентов Number of patients	
	абс. abs.	%
Правый голеностопный Right ankle	19	61,3
Левый голеностопный Left ankle	15	48,4
Правый коленный Right knee	22	71,0
Левый коленный Left knee	19	61,3
Правый тазобедренный Right hip	4	12,9
Левый тазобедренный Left hip	1	3,2
Правый лучезапястный Right wrist	1	3,2
Левый лучезапястный Left wrist	1	3,2
Правый локтевой Right elbow	14	45,2
Левый локтевой Left elbow	18	58,1
Правый плечевой Right shoulder	5	16,1
Левый плечевой Left shoulder	1	3,2
Другие суставы Other joints	0	0

При скрининговом обследовании и в анамнезе у всех пациентов, включенных в исследование, отсутствовали ингибирующие антитела к FVIII (титр менее 0,6 БЕ по результатам пробы Неймеген).

Эффективность

В анализ эффективности препарата Октофактор включены 30 пациентов, которые завершили исследование без значительных отклонений от протокола, 1 больной выбыл из исследования после 1-го введения препарата.

На фоне профилактического лечения препаратом Октофактор было зарегистрировано 43 эпизода кровотечений у 11 (36,7 %) пациентов. У 19 больных за время наблюдения кровотечений отмечено не было. У 1 пациента наблюдался 1 геморрагический эпизод, у 4 больных было по 2 геморрагических эпизода,

Таблица 6. Значения АЧТВ и активности FVIII при скрининге и во время посещений (визитов) у пациентов с тяжелой гемофилией А, включенных в исследование

Table 6. The values of APTT and the activity of FVIII at screening and during the visits in patients with severe haemophilia A included in the study

Показатель Indicator	Скрининг Screening	Посещение Visit				
		1-е 1 st		2-е 2 nd *	3-е 3 rd *	4-е 4 th *
		до введения before the drug administration	через 30 мин после введения in 30 min after the drug administration			
АЧТВ, с APTT, s	101,10 ± 22,15	107,05 ± 25,90	38,97 ± 5,41	84,38 ± 24,33	84,78 ± 22,25	85,83 ± 16,32
Активность FVIII, % FVIII activity, %	0,81 ± 0,23	0,83 ± 0,22	86,53 ± 41,01	4,01 ± 5,77	4,13 ± 5,64	3,57 ± 4,80

Примечание. * – число обследованных пациентов составило 30, поскольку 1 больной выбыл из исследования после 1-го введения препарата Октофактор.

Note. * – the number of patients examined was 30, since 1 patient was excluded from the study after the first administration of the drug Octofactor.

у 3 – по 3 геморрагических эпизода, у 1 пациента – 7, у 2 больных – по 9 геморрагических эпизодов. Среднее количество эпизодов кровотечений за весь период наблюдения составило $1,4 \pm 2,58$.

Из 43 геморрагических эпизодов 9 (20,9 %) кровотечений были посттравматическими, 34 (79,1 %) – спонтанными.

Спонтанные кровотечения наблюдались у 9 пациентов: у 3 больных наблюдалось по 2 геморрагических эпизода, у 4 – по 3, у 1 пациента – 7, у 1 больного – 9 геморрагических эпизодов.

Среднее количество эпизодов спонтанных кровотечений, возникших в течение 48 ч после введения препарата Октофактор, за весь период исследования (основной критерий эффективности) составило $1,13 \pm 2,19$, что свидетельствовало о низкой частоте обострений геморрагического синдрома на фоне профилактического лечения препаратом Октофактор у пациентов с тяжелой гемофилией А.

Длительность кровотечений составляла от 1 до 3 дней. Подавляющее большинство (36, или 83,7 %) кровотечений продолжалось 1 день. Средняя длительность геморрагических эпизодов, наблюдавшихся в ходе исследования, составила $1,2 \pm 0,57$ дня. Подавляющее большинство (29, или 85,3 %) спонтанных кровотечений также продолжалось 1 день, средняя длительность спонтанных кровотечений составила $1,18 \pm 0,46$ дня (1–3 дня).

В зависимости от степени тяжести все геморрагические эпизоды распределились следующим образом: легкие – 6 (14 %), средней степени тяжести – 37 (86 %), эпизодов тяжелых кровотечений зарегистрировано не было. Из 34 эпизодов спонтанных кровотечений 6 (17,6 %) были легкими и 28 (82,4 %) – среднетяже-

лыми. Все посттравматические кровотечения были среднетяжелыми (табл. 7).

Локализация кровотечений, развившихся у пациентов с тяжелой гемофилией А на фоне профилактического лечения препаратом Октофактор, представлена в табл. 8. Среди всех эпизодов кровотечений чаще всего регистрировались гемартрозы правого плечевого сустава (9, или 20,9 %), левого коленного сустава (8, или 18,6 %), правого и левого локтевых и правого голеностопного суставов (по 5, или 11,6 %). Среди спонтанных кровотечений чаще всего наблюдались гемартрозы правого плечевого сустава (9, или 26,5 %), правого и левого коленных суставов (7, или 18,6 % и 5, или 14,7 % эпизодов соответственно) и правого локтевого сустава (4, или 11,8 %).

Среди всех зарегистрированных кровотечений 39 (90,7 %) были внутренними и 4 (9,3 %) – наружными.

Для купирования кровотечений, развившихся на фоне профилактического лечения, Октофактор применяли в дозах от 2000 до 4500 МЕ с кратностью от 1 до 4 введений. Наиболее часто препарат вводили в дозе 2000 МЕ: однократно в 11 эпизодах и дважды для купирования 3 эпизодов кровотечения.

Большинство (36, или 83,7 %) геморрагических эпизодов были купированы одним введением препарата Октофактор, для купирования 6 (14 %) эпизодов потребовалось 2 введения препарата и только для купирования 1 (2,3 %) эпизода необходимо было ввести препарат 4 раза в разовой дозе 4000 МЕ. Большинство (29, или 85,3 %) спонтанных кровотечений также купировались одним введением препарата Октофактор, для купирования 4 (11,8 %) эпизодов потребовалось 2 введения препарата и только для купирования 1 (2,9 %) эпизода необходимо было ввести препарат 4 раза в разовой дозе 4000 МЕ.

Таблица 7. Тяжесть кровотечений, зарегистрированных на фоне профилактического лечения препаратом Октофактор, у пациентов с тяжелой гемофилией А

Table 7. The severity of bleeding registered on the background of prophylactic treatment with Octofactor drug in patients with severe haemophilia A

Степень тяжести кровотечения <i>Severity of bleeding</i>	Спонтанные кровотечения <i>Spontaneous bleedings</i>		Посттравматические кровотечения <i>Posttraumatic bleeding</i>		Всего <i>Total</i>	
	абс. <i>abs.</i>	%	абс. <i>abs.</i>	%	абс. <i>abs.</i>	%
Легкая <i>Mild</i>	6	17,6	0	0	6	14,0
Средняя <i>Moderate</i>	28	82,4	9	100	37	86,0
Тяжелая <i>Severe</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Итого</i> <i>Total</i>	34	100	9	100	43	100

Таблица 8. Локализация кровотечений, зарегистрированных на фоне профилактического лечения препаратом Октофактор, у пациентов с тяжелой гемофилией А

Table 8. The localization of bleeding registered on the background of prophylactic treatment with Octofactor drug in patients with severe haemophilia A

Локализация кровотечения <i>Localization of bleeding</i>	Количество всех эпизодов кровотечений <i>Number of all episodes of bleeding</i>		Количество эпизодов спонтанных кровотечений <i>Number of episodes of spontaneous bleeding</i>	
	абс. <i>abs.</i>	%	абс. <i>abs.</i>	%
Правый плечевой сустав <i>Right shoulder joint</i>	9	20,9	9	26,5
Левый плечевой сустав <i>Left shoulder joint</i>	3	7,0	3	8,7
Правый коленный сустав <i>Right knee joint</i>	5	11,6	5	14,7
Левый коленный сустав <i>Left knee joint</i>	8	18,6	7	20,6
Правый локтевой сустав <i>Right elbow joint</i>	5	11,6	4	11,8
Левый локтевой сустав <i>Left elbow joint</i>	5	11,6	2	5,9
Геморрой <i>Hemorrhoids</i>	4	9,3	0	0
Правый голеностопный сустав <i>Right ankle joint</i>	2	4,7	2	5,9
Правый тазобедренный сустав <i>Right hip joint</i>	2	4,7	2	5,9
<i>Всего</i> <i>Total</i>	43	100	34	100

Среднее количество введений препарата Октофактор для купирования 1 геморрагического эпизода составило $1,2 \pm 0,56$, 1 эпизода спонтанного кровотечения – $1,2 \pm 0,59$.

Для купирования 11 (25,5 %) эпизодов кровотечений потребовалось ввести 2000 МЕ препарата Октофактор, 6 (14 %) эпизодов кровотечений – 2250 МЕ препарата, 3 (7 %) эпизодов кровотечений –

3000 МЕ, 10 (23,3 %) эпизодов кровотечений – 3500 МЕ, 7 (16,3 %) эпизодов кровотечений – 4000 МЕ, 3 (7 %) эпизодов кровотечений – 4500 МЕ, 2 (4,6 %) эпизодов кровотечений – 7500 МЕ, 1 (2,3 %) эпизода кровотечения – 16 000 МЕ препарата Октофактор. Для купирования 1 эпизода кровотечения в среднем было необходимо ввести $3534,9 \pm 2329,02$ МЕ препарата Октофактор. Для купирования 11 (32,4 %) эпизодов спонтанных кровотечений потребовалось ввести 2000 МЕ препарата Октофактор, 6 (17,6 %) эпизодов спонтанных кровотечений – 2250 МЕ препарата, 3 (8,8 %) эпизодов спонтанных кровотечений – 3000 МЕ, 4 (11,8 %) эпизодов спонтанных кровотечений – 3500 МЕ, 7 (20,6 %) эпизодов спонтанных кровотечений – 4000 МЕ, 2 (5,9 %) эпизодов спонтанных кровотечений – 4500 МЕ, 1 (2,9 %) эпизода спонтанного кровотечения – 16 000 МЕ препарата Октофактор. Для купирования 1 эпизода спонтанного кровотечения в среднем было необходимо ввести $3279,4 \pm 2419,75$ МЕ препарата Октофактор. Для купирования всех геморрагических эпизодов 1 пациенту в среднем было необходимо ввести $13\ 818,2 \pm 9241,95$ МЕ препарата Октофактор, для купирования всех эпизодов спонтанных кровотечений – $11\ 944,44 \pm 5692,34$ МЕ препарата.

У подавляющего большинства пациентов с тяжелой гемофилией А остаточная активность FVIII через 48 ч после введения препарата Октофактор была 1 % и более (дополнительный критерий эффективности): во время 2, 3 и 4-го визитов число таких пациентов было 26 (86,7 %), 25 (83,3 %) и 25 (83,3 %) соответственно.

Среднее количество дней введения препарата Октофактор у пациентов с тяжелой гемофилией А составило $63,2 \pm 4,53$ (медиана – 64 дня, разброс – 53–75 дней, в общей сложности – 1896 дней). Таким образом, количество дней введения препарата Октофактор не выходило за рамки, требуемые протоколом, и составило более 50.

Общее количество препарата Октофактор, введенного для профилактики кровотечений (дополнительный критерий эффективности), составило 6 107 000 МЕ, 1 пациенту с тяжелой гемофилией А для профилактики кровотечений в среднем было введено $203\ 566,7 \pm 39\ 644,65$ МЕ препарата Октофактор. Общее количество препарата Октофактор, введенного для остановки кровотечений, составило 152 000 МЕ. Всего для профилактики и купирования кровотечений было введено 6 259 000 МЕ препарата Октофактор. Одному пациенту с тяжелой гемофилией А для профилактики и остановки развившихся кровотечений в среднем было введено $208\ 633,3 \pm 42\ 545,04$ МЕ препарата Октофактор.

Данные по оценке эффективности препарата Октофактор суммированы в табл. 9.

Таким образом, в результате профилактического введения препарата Октофактор у подавляющего большинства (более 83 %) пациентов с тяжелой гемофилией А удалось поддерживать остаточную активность FVIII 1 % и более, что привело к редкому возникновению спонтанных кровотечений. Небольшая частота и тяжесть развившихся кровотечений, быстрое их купирование с помощью непродолжительного введения препарата Октофактор в невысоких дозах свидетельствуют об эффективности препарата как для профилактики, так и для остановки кровотечений у пациентов с тяжелой гемофилией А.

Безопасность

В ходе профилактического применения препарата Октофактор и при лечении по требованию каких-либо значимых изменений в объективном статусе пациентов не наблюдалось, показатели функции жизненно важных органов оставались стабильными.

Во время проведения скрининга и последующего обследования средние значения показателей общего анализа крови не выходили за пределы референсных значений локальных лабораторий. При анализе индивидуальных показателей общего анализа крови у 13 пациентов были выявлены отклонения от референсных значений, которые были расценены как НЯ и описаны ниже.

На этапе скрининга и во время 3-го визита среднее значение активности аланинаминотрансферазы оказалось выше референсных значений локальных лабораторий ($41,44 \pm 26,01$ и $44,66 \pm 30,71$ ЕД/л соответственно). Данные отклонения не являлись критериями невключения в исследование, не могли оказать влияние на результаты клинического исследования, и, вероятно, связаны с наличием в анамнезе у 29 пациентов установленного диагноза вирусного гепатита С. Остальные средние значения показателей биохимического анализа крови не выходили за рамки референсных значений локальных лабораторий. Выявленные индивидуальные отклонения в показателях биохимического анализа крови у 13 пациентов были расценены как НЯ и описаны ниже.

В ходе исследования были зарегистрированы 25 НЯ у 17 пациентов. У 5 больных наблюдалось по 2 НЯ, у 1 пациента – 4 НЯ, у 11 – по 1 НЯ. Весь спектр зарегистрированных за период исследования НЯ представлен в табл. 10.

Среди зарегистрированных НЯ преобладали лабораторные, не связанные с применением препарата, – 23 (92 %) случая. У 1 пациента во время 1-го введения препарата Октофактор отмечались тошнота и неприятный привкус во рту, в связи с чем он отказался от дальнейшего участия в исследовании. Связь данных 2 НЯ с исследуемым препаратом была расценена как определенная. Такие НЯ являются ожидаемыми

Таблица 9. Эффективность препарата Октофактор у пациентов с тяжелой гемофилией А

Показатель	Значение показателя
Количество всех кровотечений:	
абсолютное	43
среднее (M ± SD)	1,4 ± 2,58
разброс	0–9
Количество спонтанных кровотечений (основной критерий эффективности):	
абсолютное	34
среднее (M ± SD)	1,13 ± 2,19
разброс	0–9
Длительность эпизодов всех кровотечений, дни:	
среднее (M ± SD)	1,2 ± 0,57
разброс	1–3
Длительность эпизодов спонтанных кровотечений, дни:	
среднее (M ± SD)	1,18 ± 0,46
разброс	1–3
Количество введений препарата для купирования 1 геморрагического эпизода (дополнительный критерий эффективности):	
среднее (M ± SD)	1,2 ± 0,56
разброс	1–4
Количество введений препарата для купирования 1 эпизода спонтанного кровотечения:	
среднее (M ± SD)	1,2 ± 0,59
разброс	1–4
Среднее количество препарата для купирования 1 эпизода кровотечения (M ± SD), ME	3534,9 ± 2329,02
Среднее количество препарата для купирования 1 спонтанного кровотечения (M ± SD), ME	3279,4 ± 2419,75
Среднее количество препарата для купирования всех эпизодов кровотечений у 1 пациента (M ± SD), ME	13 818,2 ± 9241,95
Среднее количество препарата для купирования всех эпизодов спонтанных кровотечений у 1 пациента (M ± SD), ME	11 944,44 ± 5692,34
Общее количество препарата, введенного для профилактики кровотечений (дополнительный критерий эффективности), ME	6 107 000
Общее количество препарата, введенного для остановки кровотечений (дополнительный критерий эффективности), ME	152 000

Table 9. The efficiency of the Octofactor drug in patients with severe hemophilia A

Indicator	Value of indicator
Number of all bleedings	
absolute	43
average (M ± SD)	1.4 ± 2.58
range	0–9
The number of spontaneous bleeding (the main criterion of efficiency):	
absolute	34
average (M ± SD)	1.13 ± 2.19
range	0–9
Duration of episodes of all bleeding, days:	
average (M ± SD)	1.2 ± 0.57
range	1–3
Duration of episodes of spontaneous bleeding, days:	
average (M ± SD)	1.18 ± 0.46
range	1–3
The number of drug injections for stopping of 1 hemorrhagic episode (additional criterion of efficiency):	
average (M ± SD)	1.2 ± 0.56
range	1–4
The number of drug injections for stopping the 1 episode of spontaneous bleeding:	
average (M ± SD)	1.2 ± 0.59
range	1–4
The average amount of drug for stopping the 1 episode of bleeding (M ± SD), IU	3534.9 ± 2329.02
The average amount of drug for stopping the 1 episode of spontaneous bleeding (M ± SD), IU	3279.4 ± 2419.75
The average amount of drug for stopping all episodes of bleeding in 1 patient (M ± SD), IU	13 818.2 ± 9241.95
The average amount of drug for stopping all episodes of spontaneous bleeding in 1 patient (M ± SD), IU	11 944.44 ± 5692.34
The total amount of the drug administered to prevent bleeding (additional criterion of efficiency), IU	6,107,000
Total amount of drug administered for stopping of bleeding (additional criterion of efficiency), IU	152,000

Таблица 10. НЯ, зарегистрированные у пациентов с тяжелой гемофилией А, которые получали препарат Октофактор

Table 10. AE registered in patients with severe hemophilia A who received the Octofactor drug

НЯ AE	Количество НЯ Number of AE	
	абс. abs.	%
Клинические (связь определенная): <i>Clinical (a definite relationship):</i>		
тошнота <i>nausea</i>	1	4
неприятный привкус во рту <i>unpleasant taste in the mouth</i>	1	4
Лабораторные (связь сомнительная или не подлежащая классификации): <i>Laboratory (dubious or not classifiable):</i>		
анемия <i>anemia</i>	1	4
моноцитоз <i>monocytosis</i>	3	12
лейкоцитоз <i>leukocytosis</i>	1	4
лейкопения <i>leukopenia</i>	1	4
повышение скорости оседания эритроцитов <i>increase in the rate of erythrocyte sedimentation</i>	2	8
повышение желчных пигментов в моче <i>increased bile pigments in the urine</i>	3	12
эозинофилия <i>eosinophilia</i>	6	24
повышение общего билирубина <i>increase in total bilirubin</i>	2	8
повышение прямого билирубина <i>increase in direct bilirubin</i>	3	12
повышение активности щелочной фосфатазы <i>increased activity of alkaline phosphatase</i>	1	4
Всего <i>Total</i>	25	100

и описаны в инструкции к препарату. Среди лабораторных НЯ в 21 случае связь с введением исследуемо-

го препарата была сомнительной, а в 2 наблюдениях не подлежала классификации.

Все НЯ были несерьезными и легкими и разрешились без последствий.

Таким образом, характер НЯ и причинно-следственная связь с введением препарата, выявленные в исследовании, свидетельствуют о безопасности применения препарата Октофактор у пациентов с тяжелой гемофилией А.

В ходе проведения исследования ни у одного из пациентов с тяжелой гемофилией А не было зарегистрировано появления ингибитора к FVIII. Таким образом, полученные результаты указывают на низкую иммуногенность препарата Октофактор.

Тромбоэмболических осложнений не зарегистрировано.

Выводы

1. Применение препарата Октофактор в дозе 35–45 МЕ/кг для профилактического лечения геморрагических эпизодов у взрослых пациентов с тяжелой гемофилией А было эффективным и сопровождалось низкой частотой ($1,13 \pm 2,19$ случая) развития спонтанных кровотечений (легких или среднетяжелых).

2. Профилактическое лечение позволило поддерживать остаточную активность FVIII 1 % и более у подавляющего большинства (более 83 %) пациентов.

3. Использование препарата Октофактор в стандартных дозах быстро и эффективно купировало развившиеся геморрагические эпизоды у пациентов с тяжелой гемофилией А (для купирования 1 геморрагического эпизода в среднем требовалось $1,2 \pm 0,56$ введения препарата).

4. Терапия препаратом Октофактор у пациентов с тяжелой гемофилией А не сопровождалась развитием токсических, тромбогенных, иммуногенных и других серьезных нежелательных реакций.

Конфликт интересов/Conflict of interest

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Спонсор исследования – АО «ГЕНЕРИУМ».

Sponsor of the research – JSC “GENERIUM”.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Srivastava A., Brewer A.K., Mauser-Bun-
choten E.P. et al.; Treatment Guidelines
Working Group on Behalf of The World Fed-
eration Of Hemophilia. Guidelines for the
management of hemophilia. Haemophilia
2013;19(1):e1–47. doi:
10.1111/j.1365-2516.2012.02909.x.
2. Руководство по лечению гемофилии.
2-е изд. Издание ВФГ, Монреаль, 2012. 74 с.
Режим доступа: [Электронный ресурс].
URL: [http://www1.wfh.org/publication/
files/pdf-1531.pdf](http://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1531.pdf). [Guide to the treatment of
hemophilia. 2nd ed. WFD publication, Mon-
real, 2012. 74 p. Access mode: [Electronic
resource]. URL: [http://www1.wfh.org/publi-
cation/files/pdf-1531.pdf](http://www1.wfh.org/publi-
cation/files/pdf-1531.pdf). (In Russ.)].
3. Nilsson I.M., Berndt E., Löfqvist T.,
Pettersson H. Twenty-five years' experience
of prophylactic treatment in severe haemo-
philia A and B. J Intern Med
1992;232(1):25–32. PMID: 1640190.
4. Manco-Johnson M.J., Abshire T.C.,
Shapiro A.D. et al. Prophylaxis versus episod-
ic treatment to prevent joint disease in boys
with severe hemophilia. N Engl J Med
2007;357(6):535–44.
doi: 10.1056/NEJMoa067659.
5. Tagliaferri A., Feola G., Molinari A.C.
et al.; POTTER Study Group. Benefits of
prophylaxis versus on-demand treatment in
adolescents and adults with severe haemo-
philia A: the POTTER study. Thromb Hae-
most 2015;114(1):35–45.
doi: 10.1160/TH14-05-0407.
6. Acharya S.S. Advances in hemophilia and
the role of current and emerging prophylaxis.
Am J Manag Care 2016;22(5 Suppl):s116–25.
PMID: 27266808.
7. Giangrande P.L.F., Peyvandi F., O'Mahon-
y B. et al. Kreuth IV: European consensus
proposals for treatment of haemophilia with
coagulation factor concentrates. Haemophilia
2017;23(3):370–5. doi: 10.1111/hae.13211.
8. Зоренко В.Ю., Мишин Г.В.,
Северова Т.В. и др. Фармакокинетические
свойства, безопасность и переносимость
препарата Октофактор (результаты I фазы
клинического исследования у больных
гемофилией А). Вопросы гематологии/
онкологии и иммунопатологии
в педиатрии 2013;12(2):30–7. [Zorenko V.Yu.,
Mishin G.V., Severova T.V. et al. Pharmaco-
kinetics, safety, and tolerability of Octofactor
in patients with hemophilia A: Results of
phase I clinical study. Voprosy gematologii/
onkologii i immunopatologii v pediatrii = Pe-
diatric Hematology/Oncology and Immuno-
pathology 2013;12(2):30–7. (In Russ.)].
9. Давыдкин И.Л., Андреева Т.А.,
Зоренко В.Ю. и др. Эффективность
и безопасность препарата Октофактор
при профилактическом лечении больных
с тяжелой и среднетяжелой формой
гемофилии А (результаты I-й части
клинического исследования II–III фазы).
Вопросы гематологии/онкологии
и иммунопатологии в педиатрии
2013;12(3):29–37. [Davydkin I.L., Andreeva T.A.,
Zorenko V.Yu. et al. Efficiency and safety of
Octofactor in prevention of bleeding episodes
in patients with severe and moderate hemo-
philia A: Results of part 1 of phase
II–III clinical trial. Voprosy gematologii/
onkologii i immunopatologii v pediatrii = Pe-
diatric Hematology/Oncology and Immuno-
pathology 2013;12(3):29–37. (In Russ.)].
10. Андреева Т.А., Зоренко В.Ю.,
Давыдкин И.Л. и др. Эффективность
и безопасность препарата Октофактор
в лечении больных с тяжелой и
среднетяжелой формой гемофилии А
(результаты 2-й части клинического
исследования II–III фазы). Вопросы
гематологии/онкологии
и иммунопатологии в педиатрии
2013;12(4):31–7. [Andreeva T.A., Zorenko V.Yu.,
Davydkin I.L. et al. Efficiency and safety of
Octofactor in the treatment of patients with
severe and moderate hemophilia A: Results of
part 2 of phase II–III clinical trial. Voprosy
gematologii/onkologii i immunopatologii
v pediatrii = Pediatric Hematology/Oncology
and Immunopathology 2013;12(4):31–7.
(In Russ.)].
11. Вдовин В.В., Андреева Т.А., Давыдкин И.Л.
и др. Эффективность и безопасность
препарата Октофактор при
профилактическом лечении подростков
с тяжелой гемофилией А. Российский
журнал детской гематологии и онкологии
2017;4(1):61–70. [Vdovin V.V., Andreeva T.A.,
Davydkin I.L. et al. The efficacy and safety of
the drug Octofactor in prophylactic treatment
of adolescents with severe hemophilia A.
Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii
i onkologii = Russian Journal of Pediatric
Hematology and Oncology 2017;4(1):61–70.
(In Russ.)].
doi: 10.17650/2311-1267-2017-4-1-61-70.
12. Guideline on the clinical investigation of
recombinant and human plasma-derived fac-
tor VIII products. EMA/CHMP/
WPWP/144533/2009. 21 July 2011. 20 p.
[Электронный ресурс]. URL:
[http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/
document_library/Scientific_guide-
line/2011/08/WC500109692.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/
document_library/Scientific_guide-
line/2011/08/WC500109692.pdf).
13. Румянцев А.Г., Румянцев С.А.,
Чернов В.М. Гемофилия в практике
врачей различных специальностей.
М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 136 с.
[Rumyantsev A.G., Rumyantsev S.A.,
Chernov V.M. Hemophilia in practice of doc-
tors of various specialties. M.: GEOTAR-
Media, 2013. 136 p. (In Russ.)].
14. Воробьев А.И., Плющ О.П., Баркаган З.С.
и др. Протокол ведения больных
«Гемофилия». Проблемы стандартизации
в здравоохранении 2006;3:18–74. [Voroby-
ov A.I., Plyushch O.P., Barkagan Z.S. et al.
Protocol for Patients' Management "Hemo-
philia". Problemy standartizatsii
v zdravookhraneniі = Problems
of Standardization in Healthcare 2006;3:18–
74. (In Russ.)].

Статья поступила в редакцию: 27.07.2018. Принята в печать: 10.08.2018.
Article was received by the editorial staff: 27.07.2018. Accepted for publication: 10.08.2018.

Аспекты методологии лабораторных исследований гемостаза в детской гематологии-онкологии и общие подходы в патологии гемостаза при лейкозах

Е.М. Кольцова^{1,2}, А.Н. Баландина^{1,2}, Е.А. Серегина¹, А.В. Полетаев¹,
Т.А. Вуймо¹, М.А. Пантелеев¹⁻⁴, Ф.И. Атауллаханов¹⁻⁴

¹ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1; ²ФГБУН ЦТП ФХФ Российской академии наук; Россия, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4; ³ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова; Россия, 119992, Москва, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 2; ⁴ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)»; Россия, 141701, Московская область, Долгопрудный, Институтский пер., 9

Контактные данные: Екатерина Михайловна Кольцова ekaterina_koltsova@bk.ru

Пациенты детского возраста с острыми лейкозами сталкиваются с высокими рисками развития тромботических и геморрагических осложнений. Патогенез нарушений гемостаза при гемобластозах носит сложный характер, поскольку помимо самого заболевания также вносят существенный вклад агрессивность применяемой терапии и необходимость многочисленных инвазивных манипуляций. Больные гемобластомами в равной степени подвержены и тромбозам, и кровотечениям, что позволяет говорить о разнонаправленных сдвигах баланса системы гемостаза у каждого индивидуального пациента. Стандартные лабораторные тесты гемостаза (время свертывания, маркерные тесты) предназначены для оценки концентраций отдельных белков и функционирования отдельных компонентов системы гемостаза и никак не оценивают баланс между ее прокоагулянтными и антикоагулянтными составляющими. Альтернативой стандартной коагулограмме могут послужить глобальные тесты гемостаза, предназначенные для оценки баланса свертывания, такие как тромбозластография, тест генерации тромбина и тромбодинамика. В обзоре разобраны механизмы работы различных лабораторных тестов гемостаза, а также проведена оценка их информативности при частых осложнениях основного заболевания (сепсис, ведущий к развитию синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС); тромбоцитопения) и катетеризации, которой подвергается большинство пациентов с гемобластомами. Общие скрининговые тесты системы свертывания крови имеют малую диагностическую ценность при ДВС-синдроме, возникающем вследствие сепсиса у больных острыми лейкозами, в основном из-за своей нечувствительности к гиперкоагуляции. Стандартные маркеры (например, D-димеры) неспецифичны и лишь подтверждают клинические проявления нарушения свертывания при сепсисе и септическом шоке, но не в состоянии предсказать динамику развития этого процесса на более ранних стадиях воспалительного ответа. При этом тест генерации тромбина и тромбодинамика позволяют выявить гиперкоагуляционную фазу ДВС-синдрома. Тромбоцитопения сопровождает практически все протоколы химиотерапии. При этом степень кровотоочивости не всегда зависит только от концентрации тромбоцитов, поскольку химиотерапевтические препараты могут влиять не только на количество, но и на функциональные характеристики тромбоцитов, которые не определяются при стандартном обследовании пациентов. Катетеризация, сопровождающая лечение гемобластозов, является ведущей причиной тромбозов у детей с острыми лейкозами. Тромбозмоблия легочной артерии вследствие тромбоза в системе центральных вен возникает у 8–15 % пациентов. Предикция катетер-ассоциированных тромбозов с помощью стандартных лабораторных методов оценки состояния системы гемостаза не представляется возможной. Отсутствие в современных схемах обследования чувствительных тестов приводит к тому, что лечащий врач вынужден ориентироваться исключительно на клиническую картину уже случившегося тромбоза или кровотечения. Появление новых функциональных методов оценки гемостаза позволяет думать, что уже сегодня существующая стандартная панель тестов коагулограммы может быть дополнена и сделана гораздо более информативной с точки зрения предикции тромбозогеморрагических осложнений в области детской гематологии-онкологии.

Ключевые слова: гемостаз, детская гематология-онкология, тромбоз, кровотечение, лабораторная диагностика

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-74-88

Aspects of the methodology of laboratory studies of hemostasis in pediatric hematology-oncology and general approaches in the pathology of hemostasis in leukemia

E.M. Koltsova^{1,2}, A.N. Balandina^{1,2}, E.A. Seregina¹, A.V. Poletaev¹, T.A. Vuymo¹, M.A. Panteleev¹⁻⁴, F.I. Ataulakhhanov¹⁻⁴

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia; ²Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow, Russian Federation; 4 Kosygina St., Moscow, 119991, Russia; ³Lomonosov Moscow State University; 1, Bldg. 2 Leninskie Gory St., Moscow, 119992, Russia; ⁴Moscow Institute of Physics and Technology (State University); 9 Institutskiy Per., Dolgoprudny, Moscow Region, 141701, Russia

Children with acute leukemia are faced with high risks of thrombotic and hemorrhagic complications. The pathogenesis of haemostasis disorders in hemoblastoses is complex because, in addition to the disease itself, the aggressiveness of the therapy and the need for numerous invasive

manipulations also make a significant contribution. Patients with hemoblastoses are equally susceptible to thrombosis and hemorrhage, which makes it possible to speak of multidirectional shifts in the balance of the hemostatic system in each individual patient. Standard laboratory hemostasis tests (clotting times, marker tests) are designed to assess the concentrations of individual proteins and the functioning of individual components of the hemostasis, and in do not assess the balance between its procoagulant and anticoagulant components. Global hemostatic tests designed to assess the coagulation balance, such as thromboelastography, thrombin generation test, and thrombodynamics, can be the alternative for the standard coagulation assays. The review focuses on the mechanisms of various laboratory hemostasis tests, as well as an assessment of their informative value in frequent complications of the underlying disease (sepsis leading to the development of disseminated intravascular coagulation (DIC) syndrome, thrombocytopenia) and catheterization, which is present in the majority of patients with hemoblastosis. General screening tests of the blood coagulation system have little diagnostic value in the DIC syndrome in patients with acute leukemia, mainly due to their insensitivity to hypercoagulability. Standard markers (for example, D-dimers) are non-specific and only confirm the clinical manifestations of clotting disorder in sepsis and septic shock, but are unable to predict the dynamics of this process at earlier stages of the inflammatory response. In this case, the thrombin generation test and thrombodynamics make it possible to reveal the hypercoagulable phase of the DIC syndrome. Thrombocytopenia accompanies almost all protocols of chemotherapy. In this case, the degree of bleeding does not always depend only on the concentration of platelets, since chemotherapeutic drugs can affect not only the quantity, but also the functional characteristics of platelets, which are not determined by standard examination of patients. The catheterization that accompanies the treatment of hemoblastoses is the leading cause of thrombosis in children with acute leukemia. Thromboembolism of the pulmonary artery due to thrombosis in the central vein system occurs in 8–15 % of patients. The prediction of catheter-associated thromboses using standard laboratory methods for assessing the state of the hemostasis is not possible. Absence of sensitive tests in modern diagnostic schemes leads to the fact that the attending physician is forced to focus exclusively on the clinical picture of thrombosis or bleeding. The development of new functional methods of hemostasis allows one to think that today the existing standard panel of coagulation tests can be expanded and made much more informative in terms of the prediction of thrombohemorrhagic complications in pediatric hematology-oncology.

Key words: hemostasis, pediatric hematology-oncology, thrombosis, hemorrhage, laboratory diagnostics

Введение

Детская популяция в целом рассматривается клиницистами как группа сниженного риска тромбогеморрагических осложнений по сравнению со взрослыми. Тем не менее при наличии некоторых тяжелых заболеваний риски таких осложнений у детей существенно возрастают [1]. На практике лечащему врачу, работающему в области детской гематологии-онкологии, приходится достаточно часто сталкиваться с клиническими проявлениями нарушений системы гемостаза. Однако проблемам своевременной диагностики и профилактики таких осложнений не уделяется должного внимания в современной медицинской литературе.

В чем же причина? Во-первых, методы лабораторно-клинической диагностики нарушений гемостаза были и во многих вопросах остаются очень несовершенными. Только в последние годы прогресс в понимании многих механизмов функционирования свертывающей системы привел к появлению действительно чувствительных методов [2]. Во-вторых, в силу тяжести проявлений основного заболевания многие тромбогеморрагические осложнения не считаются клинически значимыми (примером может служить катетер-ассоциированный тромбоз). Однако эти осложнения могут быть чреваты отдаленными последствиями, что негативно сказывается на качестве жизни пациента и особенно важно это учитывать при работе с детьми. В-третьих, тяжелая тромбоцитопения и трансфузионная зависимость у подавляющего большинства больных в сочетании с отсутствием чувствительных методов лабораторного контроля состояния

системы гемостаза фактически не дают лечащему врачу адекватно оценить риски тромбогеморрагических осложнений у конкретного пациента [3]. Поэтому представляется актуальным рассмотрение современного состояния проблемы нарушений свертывания крови у детей с острыми лейкозами. В настоящем обзоре мы рассмотрели отдельно основные ситуации, ведущие к тромбообразованию или кровоточивости у детей с различными гемобластомами, такие как развитие синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), катетеризацию и тромбоцитопению.

Данный обзор имеет своей целью не только представить состояние вопросов диагностики и подходов к терапии нарушений гемостаза при острых лейкозах, но и предложить внедрение новых методов обследования и мониторинга пациентов, чтобы получать максимально полную и объективную оценку рисков, связанных с нарушениями свертывания крови.

Методы оценки нарушения свертываемости – критический обзор

Лабораторные тесты для оценки состояния системы свертывания крови могут быть разделены на функциональные, характеризующие работу системы, индивидуальные (дифференциальные), характеризующие концентрацию или активность отдельных элементов системы, и маркерные, которые оценивают присутствие специфических маркеров процессов тромбообразования и фибринолиза [4]. Функциональные тесты, в свою очередь, подразделяются на субглобальные (к ним в основном относятся так назы-

ваемые классические тесты), которые характеризуют работу конкретного сегмента свертывающей системы, и глобальные (интегральные) тесты, цель которых наиболее полно охарактеризовать весь процесс тромбообразования приближенно к условиям свертывания в организме человека [2]. Также лабораторные тесты гемостаза часто разделяют на тромбоцитарные и плазменные, однако в свете развития глобальных тестов такая классификация не всегда возможна. Основные характеристики тестов гемостаза представлены в таблице.

Функциональные тесты

К этой категории относятся тесты, в которых запускается процесс активации свертывания (плазменного или тромбоцитарного) *in vitro* в целях более или менее успешной имитации свертывания *in vivo* и оценки эффективности образования тромба.

Субглобальные тесты включают в основном функциональные тесты, которые традиционно использовались для оценки гемостаза в течение десятилетий [2].

К тромбоцитарным тестам этой категории относится агрегометрия. Обычно активатор тромбоцитов (аденозиндифосфат, коллаген, ристацитин и др.) добавляется в БТП, при этом степень агрегации определяют по степени увеличения светопропускания в процессе агрегации тромбоцитов [5]. Кроме этого, существуют приборы, позволяющие определять агрегацию тромбоцитов в ЦК по изменению электрического импеданса. К сожалению, агрегометрия на сегодняшний день достаточно плохо стандартизирована, поэтому невозможно сравнение результатов, полученных в разных лабораториях. Агрегометрия первоначально была предназначена для диагностики наследственных нарушений функции тромбоцитов, а в последнее время используется также для контроля реакции на лечение антитромбоцитарными препаратами. Сравнительно недавно были разработаны несколько новых анализаторов, позволяющих оценивать агрегацию тромбоцитов: Multiplate® (Roche Diagnostics Limited, Великобритания), VerifyNow (Accriva Diagnostics, CA, USA) и некоторые другие [2]. Кроме этого, к тромбоцитарным субглобальным тестам можно отнести определение функциональной активности тромбоцитов с помощью проточной цитометрии [6, 7]. Это направление бурно развивается в последнее время. В отличие от измерения количества рецепторов на поверхности тромбоцитов, о котором мы будем говорить немного позже, здесь используется активатор тромбоцитов или смесь различных активаторов, призванных симитировать естественные условия активации тромбоцитов *in vivo*. С помощью флуоресцентно-меченных моноклональных антител, а также специфической краски можно определить экспозицию фосфатидилсерина на поверхность, се-

крецию содержимого альфа и плотных гранул, а также образование активированного комплекса гликопротеина IIb–IIIa в процессе активации тромбоцитов.

К плазменным тестам относятся: АЧТВ, ПВ, его модификации – МНО и ТВ. АЧТВ представляет собой время образования сгустка, индуцированное в плазме через контактный путь (обычно в качестве активатора используют коалин-кефалиновую смесь). АЧТВ чувствительно к недостаткам факторов внутреннего и общего путей свертывания (VIII, IX, XI, X, V и протромбина). АЧТВ широко используется для мониторинга НФГ и других антикоагулянтов, включая прямые ингибиторы тромбина (такие как дабигатран) [8]. Для определения ПВ используют внешний путь активации – ТФ. ПВ используется в качестве скринингового анализа для выявления недостатков одного или нескольких факторов свертывания (фибриногена, факторов II, V, VII и X). МНО представляет собой отношение значения ПВ пациента, деленное на нормальное значение, определяемое местной лабораторией, скорректированное с помощью Международного индекса чувствительности (обычно от 1,0 до 2,0), определенное для используемых партии реагента и аналитической системы. МНО широко используется для контроля антикоагулянтных эффектов варфарина и других антагонистов витамина К и для корректировки их дозировок. Как АЧТВ, так и ПВ не позволяют обнаружить вклад циркулирующих активных факторов и микрочастиц, поскольку в этих тестах используют сильную активацию и избыточное количество липидов [9]. Активацию свертывания для определения ТВ проводят с помощью добавления тромбина. ТВ используют для выявления аномалий в процессе превращения фибриногена в фибрин в случае гипофибриногенемии, дисфибриногенемии и присутствия ингибиторов реакции превращения фибриногена в фибрин (таких как гепарин, гирудин, дабигатран, продукты разложения фибрина и парапротеины).

Глобальные тесты гемостаза представляют собой новое поколение методов, разработанных с целью наиболее полной имитации условий свертывания *in vivo* [10], что делает эти тесты чувствительными к более широкому диапазону нарушений в системе гемостаза. Особенно важно применение глобальных тестов в ситуациях, при которых происходит одновременное изменение в концентрациях многих составляющих системы свертывания. Например, в случае одновременного снижения концентрации факторов свертывания и ингибиторов. Так как целью тестов является наиболее полная имитация свертывания, то такие анализы часто одновременно учитывают как тромбоцитарный, так и плазменный гемостаз, поэтому строгого разделения не существует. Однако некоторые из этих тестов более чувствительны к тромбоцитарным нарушениям, а другие – к плазменным.

Характеристика тестов гемостаза (начало)

Тест	Образец			Адгезия тромбоцитов	Агрегация тромбоцитов	Плазменный гемостаз				Поток	Принцип регистрации	Назначение
	СПП	БТП	ЦК			Нач.	Распр.	Эласт.	Лизис			
Агрегометрия	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	Измерение увеличения в светорассеянии плазмы или изменения импеданса под действием агонистов агрегации	Диагностика тромбоцитопатий
Протоочная цитометрия	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Измерение экспрессии рецепторов тромбоцитов и маркеров активации с помощью флуоресцентно-меченых моноклональных антител и агонистов активации	Диагностика тромбоцитопатий
АЧТВ	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Измерение времени свертывания при активации внутреннего пути	Контроль терапии НФГ, диагностика коагулопатий
ПВ/МНО	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Измерение времени свертывания при активации внешнего пути	Контроль терапии антагонистами витамина К, диагностика коагулопатий
ТВ	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Измерение времени свертывания при активации тромбином	Оценка наличия аномалий при пре-вращении фибриногена в фибрин; тип- и дисфибриногемии, наличия ингибиторов реакции фибриноген-фибрин (гепарин, гирудин, продукты деградации фибрина и парапротеины)
РФА и проточные камеры	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	Измерение времени окончания кровотока сквозь узкий капилляр, содержащий агонист активации тромбоцитов	Диагностика тромбоцитопений и тромбоцитопатий
Контракция кровяного сгустка	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	Измерение уменьшения объема кровяного сгустка	Диагностика нарушения сокращения тромбоцитов
ТЭГ/тромбоэластометрия	-	(+)	+	-	-	+	+	+	-	-	Измерение изменения вязкости сгустка после активации свертывания	Оценка рисков кровоточивости во время операции и эффективности проводимой трансфузионной терапии
Тест генерации тромбина	+	+	(+)	-	-	-	+	-	(+)	-	Вычисление изменения концентрации тромбина по накопленному продукту взаимодействия флуоресцентно-меченного субстрата с тромбином	Диагностика нарушений плазменного гемостаза и контроль эффективности проводимой про- и антикоагулянтной терапии

Характеристика тестов гемостаза (окончание)

Тест	Образец			Агрегация тромбоцитов	Адгезия тромбоцитов	Плазменный гемостаз	Поток	Принцип регистрации	Назначение
	СПП	БТП	ЦК						
Общий гемостатический потенциал	+	-	-	-	-	Нач. (+) Распр. Эласт. Лизис	-	Измерение динамики светопропускания при активации свертывания и одновременной активации свертывания и лизиса	Диагностика нарушений плазменного гемостаза и системы лизиса
Тромбодинамика-4D	+	+	-	(+)	(+)	Нач. (+) Распр. Эласт. Лизис	-	Измерение динамики роста сгустка и генерации тромбина при активации свертывания от поверхности с ТФ	Диагностика нарушений плазменного гемостаза и контроль эффективности проводимой протромболизисной терапии; учитывает концентрацию и активность тромбоцитов при работе с БТП
Измерение концентрации и размеров тромбоцитов	-	-	+	-	-	Нач. (-) Распр. Эласт. Лизис	-	Проточная цитометрия и микроскопия	Диагностика тромбоцитопении, тромбоцитопатии
Измерение концентрации или активности факторов свертывания и лизиса	+	-	-	-	-	Нач. (-) Распр. Эласт. Лизис	-	Измерение времени свертывания; ИФА	Определение концентрации и активности белков системы свертывания и лизиса
TAT, F1+2, РФМК, D-димер	+	-	-	-	-	Нач. (+) Распр. Эласт. Лизис	-	ИФА	Оценка активации свертывания, D-димер используется для исключения венозной тромбоэмболии

Примечание. В таблице указан тип образца, с которым может проводиться анализ: СПП – свободная от тромбоцитов плазма; БТП – богатая тромбоцитами плазма; ЦК – цельная кровь. Плюс (+) означает «да», минус (-) – «нет», знаки в скобках указывают на принципиальную возможность такого применения, которая не применяется на практике. Тесты охарактеризованы по возможности учитывать адгезию и агрегацию тромбоцитов, фазу инициации роста фибринового сгустка (нач.), фазу роста сгустка (распр.), эластические свойства сгустка (эласт.), возможность теста регистрировать фибринолиз (лизис) и наличие тока крови в тесте (поток). АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; НФГ – нефракционированный гепарин; ПВ – протромбиновое время; МНО – международное нормализованное отношение; ТВ – тромбиновое время; РФА (Platelet function analyzer) – анализатор функций тромбоцитов; ТЭГ – тромбозастиография; ТФ – тканевой фактор; ИФА – иммуноферментный анализ; ТАТ – комплекс тромбин-антитромбин III; F1+2 – протромбиновые фрагменты 1+2; РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы. Большая часть материалов адаптирована из [2].

Characteristics of hemostasis tests (beginning)

Test	Pattern			Platelet of adhesion	Aggregation of thrombocytes	Plasma haemostasis				Stream	Principle of registration	Purpose
	Platelet-free plasma	Platelet-rich plasma	Whole blood			Phase of initiation of fibrin clot growth	Clot growth phase	Elastic properties of the clot	Lysis			
Aggregometry	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	Measurement of the increase in the light transmission of the plasma or the change in impedance under the action of aggregation agonists	Diagnosis of thrombocytopathy
Flow cytometry	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Measurement of expression of platelet receptors and activation markers by fluorescently labeled monoclonal antibodies and agonists activation	Diagnosis of thrombocytopathy
Activated partial thromboplastin time	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Measurement of clotting time when internal pathway is activated	Control of unfractionated heparin therapy, diagnosis of coagulopathy
Prothrombin time/International normalized ratio	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Measurement of clotting time when external path is activated	Control of therapy with vitamin K antagonists, diagnosis of coagulopathy
Thrombin time	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Measurement of clotting time with thrombin activation	Assessment of the presence of anomalies in the conversion of fibrinogen into fibrin: hypo- and dysfibrinogenemia, the presence of inhibitors of the fibrinogen-fibrin reaction (heparin, hirudin, fibrin degradation products and paraproteins)
Platelet function analyser and flow chambers	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	Measurement of the end of blood flow through a narrow capillary containing a platelet activation agonist	Diagnosis of thrombocytopenia and thrombocytopathy
Blood clot contraction	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	Measuring the decrease in blood clot volume	Diagnosis of violation of contraction of platelets
Thromboelastography/Thromboelastometry	-	(+)	+	-	-	+	-	+	-	-	Measurement of the viscosity change of a clot after activation of coagulation	Assessment of bleeding risks during surgery and the effectiveness of transfusion therapy

Test	Pattern			Platelet of adhesion	Aggregation of thrombocytes	Plasma haemostasis				Stream	Principle of registration	Purpose
	Platelet-free plasma	Platelet-rich plasma	Whole blood			Phase of initiation of fibrin clot growth	Clot growth phase	Elastic properties of the clot	Lysis			
Thrombin generation test	+	+	(+)	-	-	+	-	(+)	-	-	Calculation of the change in thrombin concentration from the accumulation of the product of the interaction of a fluorescently labeled substrate with thrombin	Diagnosis of plasma hemostasis disorders and control of efficacy of pro- and anticoagulant therapy
Total hemostatic potential	+	-	-	-	-	(+)	-	+	-	-	Measurement of the dynamics of light transmission with activation of coagulation and simultaneous activation of coagulation and lysis	Diagnosis of violations of plasma hemostasis and lysis system
Thrombodynamics	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	Measurement of the growth dynamics of a fibrin clot growing from a surface with an immobilized tissue factor, following a light scattering signal	Diagnosis of plasma hemostasis disorders and control of efficacy of pro- and anticoagulant therapy
Thrombo-dynamics-4D	+	+	-	(+)	(+)	+	-	+	-	-	Measurement of the dynamics of clot growth and thrombin generation upon activation of clotting from the surface with a tissue factor	Diagnosis of plasma hemostasis disorders and control of efficacy of pro- and anticoagulant therapy; takes into account the concentration and activity of platelets when working with platelet-rich plasma
Measurement of platelet concentration and size	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	Flow cytometry and microscopy	Diagnosis of thrombocytopenia and thrombocytopathy
Measurement of the concentration or activity of factors and inhibitors of clotting and lysis	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Measurement of clotting time; enzyme-linked immunosorbent assay	Determination of the concentration and activity of proteins of the clotting and lysis system
TAT III complex, F1+2, SFM complexes, D-dimer	+	-	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	Enzyme-linked immunosorbent assay	Evaluation of clotting activation, D-dimer is used to exclude venous thromboembolism

Note. Plus (+) means "yes", minus (-) – "no", the signs in brackets indicate the principal possibility of such an application, which is not applied in practice. Tests are characterized, if possible, to take into account platelet adhesion and aggregation, the phase of fibrin clot growth initiation, the clot growth phase, the elastic properties of the clot, the ability to test fibrinolysis and the presence of blood flow in the test. Most of the materials are adapted from [2].

Основные тромбоцитарные глобальные анализы на основе адгезии включают PFA и различные проточные камеры. PFA оценивает первичный гемостаз *in vitro*, измеряя время, необходимое для того, чтобы цитратная кровь закрывала апертуру в мембране тестового картриджа, который покрыт различными агонистами тромбоцитов [11]. Однако прибор фокусируется на адгезии тромбоцитов, не оценивая эффективность свертывания крови. Считается, что этот анализ является хорошим показателем нормального гемостаза, связанного с тромбоцитами (чувствительность около 85 %), но его специфичность для аномалии в функции тромбоцитов плохая – только от 55 до 75 % [12]. Проточные камеры обычно представляют собой устройства с микроскопическими каналами, в которых с помощью видеомикроскопии наблюдается адгезия тромбоцитов к поверхности, покрытой активатором (как правило, коллагеном), в условиях физиологического потока крови [2].

Измерение контракции кровяного сгустка позволяет оценить способность тромбоцитов стягивать волокна фибрина в сгустке. Используют прямой способ измерения (оценка изменения объема сгустка или силы, развивающейся в сгустке в результате контракции) [13] и обратный (оценка вытесненного контрактирующим сгустком жидкости) [14]. Показатели теста зависят от количества тромбоцитов, их метаболизма, состояния гликопротеиновых рецепторов IIb/IIIa, концентрации фибриногена, а также могут говорить и повышении риска развития венозных тромбоэмболических осложнений [15].

Глобальные анализы плазменного гемостаза многочисленны и различаются по своему дизайну. Одним из способов характеристики образования сгустка является реометрия, которая имеет дополнительное преимущество, заключающееся в том, что она легко применяется в ЦК. ТЭГ/тромбоэластометрия служат наиболее ранними глобальными анализами гемостаза. В этих тестах образование сгустка и агрегация тромбоцитов оцениваются одновременно с использованием реометрии с вынужденными колебаниями. На сегодняшний день это единственные глобальные тесты, которые широко используются в клинической практике благодаря тому, что их можно применять «у постели больного» и время ожидания ответа составляет порядка 10–15 мин (в отличие от большинства исследований, требующих времени для приготовления плазмы крови). Однако эти тесты не лишены и недостатков. К основному из которых стоит отнести низкую чувствительность к прокоагулянтным нарушениям [16].

Генерация тромбина, изобретенная в ее нынешнем виде группой Хемкера из Маастрихтского университета [17], использует тромбиночувствительный флуорогенный субстрат для определения концен-

трации тромбина в зависимости от времени. Кривая обычно имеет характерную колоколообразную форму. Наиболее широко используются такие параметры, как эндогенный тромбиновый потенциал (площадь под кривой генерации тромбина) и максимальная концентрация тромбина (A_{max}). Корреляция этих параметров с клиническими проявлениями кровоточивости или тромбоза хорошо установлена, хотя проблемы стандартизации все еще присутствуют. В настоящее время существует множество модификаций генерации тромбина, включая несколько имеющихся в продаже версий. Генерация тромбина чувствительна к различным факторам гиперкоагуляции в зависимости от конструкции: включая чувствительность к факторам II, V, фибриногену, АТIII при высокой концентрации активатора (ТФ, 13,6 пМ); к фактору XII, фибриногену, антитромбину III (АТIII), ингибитору пути ТФ при низкой концентрации ТФ (1 пМ), а также факторам VIII и IX; к дефектам пути протеина С при добавлении тромбомодулина или активатора протеина С; к циркулирующему ТФ при проведении теста без активации; к липидам при проведении теста без добавления липидов [18]. Оценка лизиса сгустка и использование ЦК в настоящее время находятся за пределами доступных вариантов этого метода, хотя появились некоторые предварительные данные о генерации тромбина в ЦК [19].

Общий гемостатический потенциал основан на регистрации кривой светопропускания от фибринового сгустка, образующегося в СТП. При этом активацию свертывания проводят с помощью добавления тромбина. Для определения общего фибринолитического потенциала дополнительно добавляют небольшое количество тканевого активатора плазминогена. Показана чувствительность данного метода к некоторым гипер- и гипокоагуляционным состояниям и лечению антикоагулянтами [20].

Тромбодинамика с помощью видеомикроскопии позволяет регистрировать образование фибринового сгустка, инициированного иммобилизованным на поверхности ТФ [21]. При этом сгусток первоначально формируется на активирующей поверхности, а затем распространяется в плазме. Такой подход позволяет учитывать пространственную гетерогенность свертывания крови *in vivo*; другими словами – тот факт, что начало и распространение свертывания происходят в пространственно-разделенных областях [10]. Этот тест показал высокую чувствительность к гипо- и гиперкоагулянтным нарушениям, а также к терапии антикоагулянтами [22–24]. Скорость роста сгустка в пространстве указывает на общий прокоагулянтный потенциал, тогда как формирование не зависящих от активатора центров самопроизвольного свертывания крови может указывать на наличие микрочастиц и долгоживущих активированных факторов свер-

тивания, таких как активированный фактор IX [18]. Возможность такого разделения причин гиперкоагуляции достигается за счет разделения фаз активации и распространения сгустка [25]. Модификация этого теста (тромбодинамика-4D) позволяет наравне с регистрацией фибрина проводить также регистрацию генерации тромбина [26]. Этот тест пригоден для работы с БТП и чувствителен к снижению концентрации тромбоцитов и нарушению их функции [3].

Индивидуальные тесты

В эту категорию попадают тесты, определяющие индивидуальные характеристики компонентов свертывания.

Тромбоцитарный гемостаз характеризуется концентрацией тромбоцитов в крови. Сюда же можно отнести исследования с помощью проточной цитометрии, в которых определяется наличие тех или иных тромбоцитарных рецепторов (но не функциональная активность тромбоцитов в ответ на их стимуляцию) [5].

Типичный пример теста для плазменного гемостаза – определение активности белков свертывающей системы (по измерению времени свертывания) или их концентрации (с помощью ИФА). Определение мультимеров фактора фон Виллебранда, активности расщепляющей фактор фон Виллебранда протеиназы (ADAMTS13) и многие другие специфические тесты также относятся к этой категории.

В целом эти дифференциальные методы могут идентифицировать специфические проблемы (и поэтому необходимы при исследовании изолированных наследственных нарушений гемостаза), но не дают общей картины работы системы гемостаза и существенно ограничены, так как вся система настолько сложна и в ней столько компонентов, что невозможно оценить их итоговый эффект, измеряя все по отдельности.

Маркерные тесты

Это последняя категория тестов оценивает маркеры тромбообразования, которое уже произошло: D-димеры, ТАТ, промежуточные формы активированных белков. Эти анализы помогают диагностировать тромбозы и тромбоэмболии и могут прогнозировать будущие тромботические осложнения при определенных условиях [27]. Эти анализы обычно используют связывание специфических антител.

Общие нарушения свертывания и их терапия у детей с гемобластозами

Иммунодефицит и сепсис

Сепсис является одной из ведущих причин смертности детей с гемобластозами [28]. Практически у всех маленьких пациентов с гемобластомами наблюдаются осложнения бактериальной природы, обусловленные

в том числе внутрибольничной флорой. Основные причины развития септических осложнений у детей с гемобластомами: 1) применение цитостатических препаратов и высокодозной химиотерапии (ХТ); 2) трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК); 3) наличие катетера. Наиболее частым осложнением противоопухолевой терапии у детей, на фоне которой развивается сепсис, является нейтропения (снижение концентрации нейтрофилов ниже 1,5 тыс/мл).

Клинически значимые нарушения свертывания встречаются у 50–70 % пациентов с сепсисом, примерно у трети больных развивается ДВС-синдром [29]. Эти нарушения проявляются тромбоэмболиями либо отложениями фибрина в микроциркуляторном русле, которые становятся причиной возникновения полиорганной недостаточности.

Воспалительные реакции во время сепсиса сопровождаются активацией системы свертывания крови, подавлением антикоагулянтных механизмов и фибринолиза [30]. Активация свертывания тесно связана с иммунитетом. Предполагают, что образование фибриновых сгустков способствует локализации очага инфекции или инфекционных заболеваний [31]. Однако баланс системы свертывания при этом нарушается, и чрезмерная активация свертывания в совокупности с перечисленными выше фактами приводит к развитию ДВС-синдрома [32].

Активация свертывания при сепсисе идет по пути ТФ. В частности, в ходе воспаления под воздействием бактериальных токсинов, провоспалительных цитокинов и медиаторов воспаления происходит экспрессия ТФ на поверхности эндотелиальных клеток и мононуклеарных лейкоцитов [33]. Кроме того, под действием провоспалительных цитокинов фактора некроза опухоли и интерлейкина-6 эндотелиальные клетки экспрессируют и выделяют растворимый ТФ [34]; в крови увеличивается концентрация прокоагулянтных фосфолипидных микровезикул, несущих ТФ [33].

Одновременно с процессами усиления свертывания происходит ухудшение физиологических антикоагулянтных механизмов [35] за счет увеличенного потребления естественных антикоагулянтов или нарушения механизмов их нормального функционирования [36]. Во время острого воспалительного ответа происходит значительное снижение уровня АТIII вследствие сильного его потребления (за счет образования неактивных ТАТ-комплексов), подавления синтеза и деградации нейтрофильной эластазы [37]. Кроме того, из-за уменьшения доступности на эндотелии глюкозаминогликанов (по причине воздействия провоспалительных цитокинов на синтез в эндотелиальных клетках), являющихся гепариноподобными кофакторами АТIII, активность последнего ослабляется [38]. Подобно АТIII в условиях воспаления при сепсисе уменьшается количество протеина С

вследствие ухудшения его синтеза и деградации нейтрофильной эластазой [38]. Нарушение нормальной функции эндотелия сказывается и на работе системы протеина С. Провоспалительные цитокины подавляют синтез тромбомодулина эндотелиальными клетками, что приводит к снижению активации протеина С [39]. Кроме того, повышение в крови активности компонента приводит к относительному увеличению количества связанного и уменьшению активного несвязанного протеина S [38]. Наконец, фагоцитарные ферменты могут отщеплять тромбомодулин от эндотелиальной поверхности. Он появляется в свободной циркуляции, но его активность в этих условиях значительно ниже, чем у тромбомодулина, фиксированного на мембране. Процессы лизиса сгустка также ослаблены в основном за счет дисбаланса между концентрацией активных ферментов и их ингибиторов [40].

Белки системы свертывания, в свою очередь, оказывают воздействие на процесс воспаления. Одним из наиболее важных механизмов этого взаимодействия является связывание факторов свертывания с PAR-рецепторами (рецепторами, активируемыми протеиназами) на клетках эндотелия, моноцитов и других клетках и, как следствие, усиление воспалительного ответа, в частности за счет усиления экспрессии этими клетками провоспалительных цитокинов [38]. С другой стороны, АТIII и протеин С обладают выраженными противовоспалительными свойствами [41].

Описанное выше смещение равновесия в гемостатическом балансе может привести к развитию ДВС-синдрома. ДВС-синдром – это вторичное явление, следствие основного патологического процесса, способствующего активации системы свертывания крови и генерации тромбина в результате поступления в кровь или образования в ней веществ, запускающих свертывание крови. При развитии ДВС-синдрома происходят отложение фибрина в микрососудистом русле и развитие блокады микроциркуляции в органах, гипоксии, дистрофии и глубокой дисфункции этих органов вплоть до полиорганной недостаточности. Эти нарушения сопровождаются интоксикацией организма продуктами тканевого распада и развитием тяжелого тромбогеморрагического синдрома [42]. По мере потребления факторов свертывания и тромбоцитов это приводит к возникновению кровотечений вследствие истощения плазменных протеолитических систем, потребления физиологических антикоагулянтов и факторов свертывания крови [43].

В развитии ДВС-синдрома выделяют 3 фазы: 1) гиперкоагуляционный синдром, 2) гиперкоагуляционная фаза острого ДВС-синдрома и 3) гипокоагуляционная фаза острого ДВС-синдрома. Под гиперкоагуляционным синдромом понимают повышенную готовность к свертыванию в отсутствие тромбоза [44]. При гиперкоагуляционном синдроме любое повреждение

сосудов может привести к массивному свертыванию. Гиперкоагуляционная фаза ДВС характеризуется тотальными стазами и свертыванием крови, образованием множественных сгустков фибрина. При развитии этого процесса происходит ширококомасштабное тромбирование сосудов, ведущее к полиорганной недостаточности. В гипокоагуляционной фазе вследствие массового формирования фибрина происходит истощение запасов ключевых факторов свертывания и тромбоцитов, развивается коагулопатия потребления. Эта фаза характеризуется выраженной полиорганной недостаточностью, несвертываемостью крови с признаками диффузной кровоточивости и лабораторными признаками сильной гипокоагуляции [45].

Диагностика ДВС-синдрома основана прежде всего на анализе существующей ситуации с учетом всех возможных условий и видов патологии (в том числе критических состояний), при которых вероятно развитие этого синдрома, учете его клинических проявлений и данных лабораторного обследования пациентов [46]. Каждый из этих подходов имеет самостоятельное значение и все они взаимно дополняют друг друга. В зависимости от стадии развития ДВС меняются лабораторные показатели, характеризующие состояние гиперкоагуляции и внутрисосудистого свертывания.

Общие скрининговые тесты системы свертывания крови имеют малую диагностическую ценность при ДВС-синдроме [47]. АЧТВ и ПВ плохо отражают реальное состояние гемостаза *in vivo* во время развития ДВС-синдрома и практически не чувствительны к гиперкоагуляции [48]. Время свертывания зачастую удлинено при сепсисе из-за снижения концентрации факторов свертывания вследствие их потребления [49] либо значения колеблются в области нормальных величин.

При сепсисе значительно увеличивается содержание в крови продуктов гиперактивации плазменного гемостаза – F1+2, D-димеров, РФМК, фибриногена А, ТАТ-комплекса [50]. В ряде случаев при ДВС определяется снижение уровня физиологических антикоагулянтов – АТIII, протеинов С и S и плазминогена [14]. Общей чертой этих тестов является неспецифичность – они могут проявляться не только в стадии гиперкоагуляции при ДВС-синдроме, но и при тромбообразовании, массивной тромболитической терапии и ряде других патологий. Эти маркеры лишь подтверждают клинические проявления нарушения свертывания при сепсисе и септическом шоке, но не в состоянии предсказать динамику развития этого процесса на более ранних стадиях воспалительного ответа. Кроме того, так как во время проведения ХТ концентрация D-димеров часто бывает повышена еще до развития сепсиса, то этот показатель не всегда информативен в диагностике. Также возможные при сепсисе нарушения лизиса сгустка не дают исключить развитие тромбоза при нормальной концентрации D-димеров [40].

Что касается глобальных тестов гемостаза, данные ТЭГ показывают, что при сепсисе пролонгируется фаза активации свертывания в сочетании с последующей нормальной либо ускоренной фазой образования сгустка. Гипокоагуляция, согласно ТЭГ, чаще наблюдается у пациентов с ДВС-синдромом [51]. Кроме этого, ТЭГ позволяет выявить группу пациентов с тромбоцитопенией и более неблагоприятным прогнозом исхода при сепсисе [40]. Однако имеются исследования, в которых показано, что у больных с тяжелым сепсисом, несмотря на активацию свертывания, не выявляются изменения в тромбоэластограмме [52]. Тест генерации тромбина отражает гиперкоагуляционные нарушения при ДВС-синдроме [53]. Тромбодинамика позволила выявить как стадию гиперкоагуляции по увеличению скорости роста сгустка (что согласуется с последующим развитием тромбоза или резким увеличением концентрации D-димеров), так и гипокоагуляционную стадию, сопровождающуюся резким падением скорости роста сгустка с последующим летальным исходом у пациентов [22].

Таким образом, на сегодняшний момент диагностика ДВС, особенно на I стадии гиперкоагуляционного синдрома, осложняется тем, что стандартные коагулологические тесты являются малочувствительными к гиперкоагуляционным изменениям в состоянии гемостаза, а специфические маркеры гиперкоагуляции позволяют лишь уточнить тяжесть и этап развития данного синдрома. При этом для понимания направления развития процесса необходимо длительное наблюдение за динамикой многих лабораторных маркеров, так как по отдельности они обладают низкой специфичностью. Однако на практике лабораторные тесты играют лишь вспомогательную роль в постановке диагноза ДВС-синдрома.

Снижение концентрации и функции тромбоцитов

Тромбоцитопения и нарушения функции тромбоцитов широко распространены при гемобластозах, в том числе у детей, и являются ведущей причиной кровотечений и кровоизлияний. При самых распространенных педиатрических нозологиях, таких как острый лимфобластный (ОЛЛ) и острый миелобластный (ОМЛ) лейкозы, вклад кровоизлияний (преимущественно внутричерепных и легочных) в структуру смертности на определенных стадиях заболевания составляет 50–70 % [54]. Нарушения количества и качества тромбоцитов не являются единственной причиной и однозначным предиктором кровотечений: гиперлейкоцитоз, гиперфибринолиз, коагулопатия, повреждение тканей (также по причине основного заболевания, инфекции, воспаления или ХТ), последствия неудачной ТГСК могут независимо способствовать разным типам кровоизлияний. Однако нормальная функция тромбоцитов считается основой гемостатической без-

опасности, а ее снижение — критическим фактором риска.

Тромбоцитопения как следствие основного заболевания широко распространена в первую очередь при ОЛЛ и ОМЛ. Она считается обусловленной инфильтрацией костного мозга, но также может быть связана со спленомегалией, системной активацией свертывания, аутоиммунной реакцией и другими механизмами. При хроническом лимфобластном лейкозе (ХЛЛ) она выражена слабее, при хроническом миелобластном лейкозе (ХМЛ) уровень тромбоцитов повышен (как, естественно, при эссенциальном тромбоцитозе и истинной полицитемии), при лимфомах может проявляться с разной вероятностью в зависимости от их типа.

Тромбоцитопения, связанная с ХТ, характерна для многих препаратов. Предположительно, основным механизмом ее развития является миелосупрессия, но для разных препаратов существенный вклад могут вносить аутоиммунные механизмы, увеличенное потребление в селезенке за счет гепатотоксичности, прямые эффекты на производство тромбоцитов или индукция у них апоптоза. Распространенность и тяжесть тромбоцитопении могут варьировать в широких пределах в зависимости от заболевания, препарата и схемы терапии. Комбинация нескольких препаратов, повышение их концентрации или сочетание препаратов с лучевой терапией обычно склонны усиливать степень тромбоцитопении. Классическим примером химиотерапевтически индуцированной тромбоцитопении является фаза индукции при терапии ОМЛ, когда тромбоцитопения возникает практически обязательно.

Дисфункция тромбоцитов считается второй по значимости после тромбоцитопении причиной кровоизлияний, хотя она изучена достаточно плохо. Предполагается, что она особенно актуальна для миелолиферативных заболеваний [55]. Парадоксальным образом в первую очередь она выявлена при эссенциальном тромбоцитозе и истинной полицитемии: риски кровотечений могут превышать риски тромбозов, несмотря на огромные концентрации тромбоцитов.

Влияние ХТ на функцию тромбоцитов (за исключением прямой цитотоксичности) также изучено заметно хуже, чем их способность вызывать тромбоцитопению. Можно предположить, что это связано с плохим пониманием того, что собой представляет функция тромбоцитов, а также с малой применимостью теста агрегации при комбинации дисфункции и тромбоцитопении. Однако тут также есть яркие исключения: например, препарат нового поколения ибрутиниб, используемый для терапии лимфолиферативных заболеваний, вызывает кровоизлияния у 50 % пациентов именно из-за нарушения ответа тромбоцитов на коллаген [56]. Пока этот препарат одобрен к применению по ряду показаний только

у взрослых, но клинические испытания для детей уже находятся в III фазе (идентификационный номер клинического испытания NCT02703272).

Катетеризация

Центральный венозный доступ в современном мире является важной частью терапии и периоперационных манипуляций у детей и новорожденных, перенесших хирургическое вмешательство, требующих парентерального питания или же имеющих необходимость в длительной терапии с введением лекарств внутривенно. Важным аспектом успешной катетеризации у этой популяции пациентов является знание техник установки венозных линий, а также о возможных осложнениях при манипуляции с катетерами. Несмотря на стандартизированный подход, врачи до сих пор сталкиваются с трудностями и осложнениями, связанными с катетеризацией пациентов детского возраста [57].

Наиболее распространенными точками постановки катетера являются доступ через бедренную вену, внутреннюю яремную вену и подключичную вену. Кроме того, у новорожденных имеются возможности для периферийного доступа с длинным силиконовым катетером через кубитальную или подкожную вену. В ситуациях с чрезвычайно сложным венозным доступом (очень часто после нескольких предыдущих центральных венозных катетеров в одной точке и последующего тромбоза) дополнительно возможны трансгепатический доступ и прямое введение правого предсердного катетера во время операции, однако эти методы не используются для долгосрочного стояния катетера. Преимуществом подключичного доступа остаются хорошая фиксация, простота обслуживания и использования и меньшая степень инфицирования, по крайней мере, у детей старшего возраста [1].

Проблемы с центральными венозными катетерами (ЦВК) различны, это трудности и осложнения при постановке катетера, а также проблемы с его обслуживанием: связанная с катетером инфекция/сепсис, тромбоз центральной вены, обструкция катетера, механические повреждения во время постановки ЦВК [58].

Инфекционные осложнения часты и в основном связаны с продолжительностью времени стояния катетера, более ранним возрастом пациентов, использованием проволочных проводников при репозиционировании или замене ЦВК, а также с нарушениями техники обработки и обслуживания постоянного катетера. Приверженность строгим протоколам обслуживания ЦВК сокращает количество инфекций. Стерильная катетеризация является одной из главных предпосылок для предотвращения катетер-ассоциированных инфекций [59].

У детей и новорожденных выбор точки доступа, по-видимому, не влияет на уровень инфицирования в отличие от взрослых, у которых, как сообщается,

влагалищные катетеры имеют наименьший риск заражения. Антибактериальная профилактика все еще остается спорным методом для предотвращения инфекций и сепсиса, ассоциированных с ЦВК. Исходя из последних исследований, непрерывная антибиотикопрофилактика не относится к основным рекомендациям по предупреждению катетер-ассоциированных инфекций, но все равно часто практикуется. Подкожное туннелирование для профилактики осложнений, связанных с ЦВК, рекомендуется при долгосрочном использовании катетеров и снижает риск инфекций. В среднем осложнения инфекционного характера возникают в 5–26 % случаев [59].

Многие венозные катетер-ассоциированные тромбозы остаются субклиническими, поэтому их процент в литературе сильно различается. В некоторых центрах и госпиталях проводится рутинное ультразвуковое исследование места стояния катетера, другие же учитывают только клинические признаки тромбоза. Тромбоз связан с множественными попытками введения катетера, большими катетерами и конкретными заболеваниями, например у пациента со злокачественным заболеванием риск тромбоза при катетеризации считается повышенным по сравнению с пациентами без злокачественного заболевания. Риск тромбоза повышается с увеличением продолжительности стояния венозных катетеров. Вливание гепарина, по-видимому, продлевает использование периферических ЦВК у детей и новорожденных, но точные рекомендации по использованию гепаринового замка катетера, стоящего в крупной центральной вене, на основании существующих исследований все еще не могут быть сделаны. Сообщается, что следует учитывать потенциальный риск развития гепарин-индуцированной тромбоцитопении, даже если он очень низок у детей. Промывание катетера с урокиназой или альтеплазой является обычной практикой, если ток через катетер затруднен. Катетеры, покрытые гепарином, также имеют преимущество, но они намного дороже и при этом исключается забор крови из катетера на некоторые анализы, чувствительные к гепарину. В среднем осложнения, связанные с катетер-ассоциированными тромбозами, по разным данным, составляют от 2 до 40 % [58].

Использование ЦВК является причиной 2/3 всех тромбозов при лейкозах у детей. Несмотря на то, что большинство из них протекает бессимптомно, они опасны развитием повторных тромботических эпизодов, которые случаются у 4–19 % больных. Тромбоз в системе центральных вен опасен из-за возможности тромбоэмболии легочной артерии – возникает у 8–15 % больных [60]. На данном этапе у детей с острыми лейкозами в рутинной практике не рекомендуется профилактика тромботических осложнений с помощью антикоагулянтной терапии, так как она может повысить токсичность лечения.

Заключение

Патогенез нарушений гемостаза у пациентов с гемобластомами носит сложный характер, поскольку помимо тромбгеморрагических осложнений вследствие самого заболевания, агрессивность применяемой терапии, наличие большого количества сопутствующих осложнений, которые сами по себе влияют на гемостаз, а также необходимость многочисленных инвазивных манипуляций вносят существенный вклад в риск развития тромбозов и кровотечений у таких пациентов.

Общее несовершенство стандартных методов лабораторной диагностики системы гемостаза также затрудняет предикцию (а, следовательно, своевременную профилактику) тромбгеморрагических осложнений. Тесты, входящие в современную коагулограмму, предназначены для оценки концентраций отдельных белков и функционирования отдельных компонентов системы гемостаза и никак не оценивают баланс между ее прокоагулянтными и антикоагулянтными составляющими. Появление новых чувствительных методов оценки гемостаза позволяет думать, что уже сегодня существующая стандартная панель тестов коагулограммы может быть дополнена и является гораздо более информативной.

Благодарности

Авторы выражают благодарность врачу-патологу и административному коллективу ФГБУ «Национальный

медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России за содействие в организации и проведении научных исследований, результаты которых упомянуты в данном обзоре.

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Работа Ф.И. Атауллаханова была поддержана грантом Российского научного фонда № 16-14-00224, работа А.Н. Баландиной и Е.М. Кольцовой была поддержана грантом президента для молодых ученых МК-913.2017.4 и грантом Российского научного фонда № 17-74-10224, работа М.А. Пантелеева была поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 17-04-01309.

The research of F.I. Ataulakhanov was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 16-14-00224, the research of A.N. Balandina and E.M. Koltsova was supported by a grant from the President for young scientists MK-913.2017.4 and a grant from the Russian Science Foundation No. 17-74-10224, the research of M.A. Panteleev was supported by a grant from the Russian Foundation for Basic Research No. 17-04-01309.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Karapinar B., Cura A. Complications of central venous catheterization in critically ill children. *Pediatr Int* 2007;49(5):593–9. doi: 10.1111/j.1442-200X.2007.02407.x.
- Tynngård N., Lindahl T.L., Ramström S. Assays of different aspects of haemostasis - what do they measure? *Thromb J* 2015;13:8. doi: 10.1186/s12959-015-0036-2.
- Кольцова Е.М., Баландина А.Н., Дёмина И.А. и др. Использование метода пространственной генерации тромбина для оценки прокоагулянтной активности тромбоцитов после трансфузии тромбоконцентрата у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016;15(2):32–9. doi: 10.20953/1726-1708-2016-2-32-39. [Koltsova E.M., Balandina A.N., Demina I.A. et al. The use of a spatial thrombin generation method for assessment of platelet procoagulant activity after platelet concentrate transfusion in children. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii* = *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2016;15(2):32–9. (In Russ.)].
- Ataulakhanov F.I., Koltsova E.M., Balandina A.N. et al. Classic and Global Hemostasis Testing in Pregnancy and during Pregnancy Complications. *Semin Thromb Hemost* 2016;42(7):696–716. doi: 10.1055/s-0036-1592303.
- Panzer S., Jilma P. Methods for testing platelet function for transfusion medicine. *Vox Sang* 2011;101(1):1–9. doi: 10.1111/j.1423-0410.2011.01467.x.
- Жарков П.А., Дёмина И.А., Пантелеев М.А. Использование метода функциональной активности тромбоцитов для диагностики тромбоцитопатий у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016;15(2):40–6. doi: 10.20953/1726-1708-2016-2-40-46. [Zharkov P.A., Demina I.A., Panteleev M.A. Use of a platelet functional activity technique for diagnosing paediatric thrombocytopenias. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii* = *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2016;15(2):40–6. (In Russ.)].
- Suntsova E.V., Demina I.M., Ignatova A.A. et al. Bleeding tendency and platelet function during treatment with romiplostim in children with severe immune thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2017;105(6):841–8. doi: 10.1007/s12185-017-2207-3.
- Levy J.H., Szlam F., Wölberg A.S., Winkler A. Clinical use of the activated partial thromboplastin time and prothrombin time for screening: a review of the literature and current guidelines for testing. *Clin Lab Med* 2014;34(3):453–77. doi: 10.1016/j.cll.2014.06.005.
- Panteleev M.A., Hemker H.C. Global/integral assays in hemostasis diagnostics: promises, successes, problems and prospects. *Thromb J* 2015;13(1):5. doi: 10.1186/s12959-014-0032-y.
- Panteleev M.A., Dashkevich N.M., Ataulakhanov F.I. Hemostasis and thrombosis beyond biochemistry: roles of geometry, flow and diffusion. *Thromb Res* 2015;136(4):699–711. doi: 10.1016/j.thromres.2015.07.025.
- Vincelot A., Nathan N., Collet D. et al. Platelet function during pregnancy: An evaluation using the PFA-100 analyser. *Br J Anaesth* 2001;87(6):890–3. PMID: 11878692.
- Favaloro E.J. Internal quality control and external quality assurance of platelet function tests. *Semin Thromb Hemost*

- 2009;35(2):139–49.
doi: 10.1055/s-0029-1220322.
13. Tutwiler V., Litvinov R.I., Lozhkin A.P. et al. Kinetics and mechanics of clot contraction are governed by the molecular and cellular composition of the blood. *Blood* 2016;127(1):149–59. doi: 10.1182/blood-2015-05-647560.
14. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2008. [Barkagan Z.S., Momot A.P. Diagnostics and controlled therapy of violations of a hemostasis. Moscow: N'yudiamed, 2008. (In Russ.)].
15. Tutwiler V., Peshkova A.D., Andrianova I.A. et al. Contraction of Blood Clots Is Impaired in Acute Ischemic Stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37(2):271–9. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.308622.
16. Lancé M.D. A general review of major global coagulation assays: Thrombelastography, thrombin generation test and clot waveform analysis. *Thromb J* 2015;13:1. doi: 10.1186/1477-9560-13-1.
17. Hemker H.C., Wielders S., Kessels H., Béguin S. Continuous registration of thrombin generation in plasma, it's use for the determination of the thrombin potential. *Thromb Haemost* 1993;70(4):617–24. PMID: 7509511.
18. Lipets E.N., Ataullakhanov F.I. Global assays of hemostasis in the diagnostics of hypercoagulation and evaluation of thrombosis risk. *Thromb J* 2015;13(1):4. doi: 10.1186/s12959-015-0038-0.
19. Ninivaggi M., Apitz-Castro R., Dargaud Y. et al. Whole-blood thrombin generation monitored with a calibrated automated thrombogram-based assay. *Clin Chem* 2012;58(8):1252–9. doi: 10.1373/clinchem.2012.184077.
20. Antovic A. The overall hemostasis potential: a laboratory tool for the investigation of global hemostasis. *Semin Thromb Hemost* 2010;36(7):772–9. doi: 10.1055/s-0030-1265294.
21. Ovanesov M.V., Ananyeva N.M., Panteleev M.A. et al. Initiation and propagation of coagulation from tissue factor-bearing cell monolayers to plasma: Initiator cells do not regulate spatial growth rate. *J Thromb Haemost* 2005;3(2):321–31. doi: 10.1111/j.1538-7836.2005.01128.x.
22. Soshitova N.P., Karamzin S.S., Balandina A.N. et al. Predicting prothrombotic tendencies in sepsis using spatial clot growth dynamics. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012;23(6):498–507. doi: 10.1097/MBC.0b013e328352e90e.
23. Koltsova E.M., Balandina A.N., Gri-schuk K.I. et al. The laboratory control of anticoagulant thromboprophylaxis during the early postpartum period after cesarean delivery. *J Perinat Med* 2018;46(3):251–60. doi: 10.1515/jpm-2016-0333.
24. Gracheva M.A., Urnova E.S., Sinauridze E.I. et al. Thromboelastography, thrombin generation test and thrombodynamics reveal hypercoagulability in patients with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2015;56(12):3418–25. doi: 10.3109/10428194.2015.1041385.
25. Parunov L.A., Soshitova N.P., Fadeeva O.A. et al. Drug-drug interaction of the anti-TFPI aptamer BAX499 and factor VIII: studies of spatial dynamics of fibrin clot formation in hemophilia A. *Thromb Res* 2014;133(1):112–9. doi: 10.1016/j.thromres.2013.10.036.
26. Dashkevich N.M., Ovanesov M.V., Balandina A.N. et al. Thrombin activity propagates in space during blood coagulation as an excitation wave. *Biophys J* 2012;103(10):2233–40. doi: 10.1016/j.bpj.2012.10.011.
27. Masuda M., Ueta T., Shiba K., Iwamoto Y. D-dimer screening for deep venous thrombosis in traumatic cervical spinal injuries. *Spine J* 2015;15(11):2338–44. doi: 10.1016/j.spinee.2015.06.060.
28. Tsai H.C., Huang L.M., Chang L.Y. et al. Central venous catheter-associated bloodstream infections in pediatric hematology-oncology patients and effectiveness of antimicrobial lock therapy. *J Microbiol Immunol Infect* 2015;48(6):639–46. doi: 10.1016/j.jmii.2014.07.008.
29. Wheeler A.P., Bernard G.R. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 1999;340(3):207–14. doi: 10.1056/NEJM199901213400307.
30. Esmon C.T., Fukudome K., Mather T. et al. Inflammation, sepsis, and coagulation. *Haematologica* 1999;84(3):254–9. PMID: 10189392.
31. McGilvray I.D., Rotstein O.D. Role of the coagulation system in the local and systemic inflammatory response. *World J Surg* 1998;22(2):179–86. PMID: 9451934.
32. Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hamostaseologie* 2010;30(1):10–2, 14–6. PMID: 20162247.
33. Schouten M., Wiersinga W.J., Levi M., van der Poll T. Inflammation, endothelium, coagulation in sepsis. *J Leukoc Biol* 2008;83(3):536–45.
34. Szotowski B., Antoniak S., Poller W. et al. Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines. *Circ Res* 2005;96(12):1233–9. doi: 10.1161/01.RES.0000171805.24799.f8
35. Carey M.J., Rodgers G.M. Disseminated intravascular coagulation: clinical and laboratory aspects. *Am J Hematol* 1998;59(1):65–73. PMID: 9723580.
36. Jagneux T., Taylor D.E., Kantrow S.P. Coagulation in sepsis. *Am J Med Sci* 2004;328(4):196–204. PMID: 15486534.
37. Seitz R., Wolf M., Egbring R., Havemann K. The disturbance of hemostasis in septic shock: role of neutrophil elastase and thrombin, effects of antithrombin III and plasma substitution. *Eur J Haematol* 1989; 43(1):22–8. PMID: 2788582.
38. Levi M., Marder V. Coagulation abnormalities in sepsis. In: Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice. Colman R.W., Clowes A.W., Goldhaber S.Z., Marder V.J., George J. (ed.). Philadelphia: Lippincott Company, 2006.
39. Nawroth P.P., Stern D.M. Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1986;163(3):740–5. PMID: PMC2188058.
40. Semeraro F., Colucci M., Caironi P. et al. Platelet Drop and Fibrinolytic Shutdown in Patients With Sepsis. *Crit Care Med* 2018;46(3):e221–e8. doi: 10.1097/CCM.0000000000002919.
41. Esmon C.T. Role of coagulation inhibitors in inflammation. *Thromb Haemost* 2001;86(1):51–6.
42. Баркаган З.С. Патогенез, диагностика и принципы терапии ДВС-синдрома. *Materia Medica* 1997;1(13):5–14. [Barkagan Z.S. Pathogenesis, diagnosis and principles of therapy of DIC syndrome. *Materia Medica* = *Materia Medica* 1997;1(13):5–14. (In Russ.)].
43. Levi M., Opal S.M. Coagulation abnormalities in critically ill patients. *Crit Care* 2006;10(4):222. doi: 10.1186/cc4975.
44. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулуто Е.М., Васильев С.А. Острая массивная кровопотеря. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. 178 с. [Vorobyov A.I., Gorodetsky V.M., Shulutko E.M., Vasilyev S.A. Acute massive hemorrhage. Moscow: GEOTAR-MED, 2001. 178 p. (In Russ.)].
45. Пантелеев М.А., Васильев С.А., Синауридзе Е.И. и др. Практическая коагулология. М.: Практическая медицина, 2011. [Panteleev M.A., Vasilyev S.A., Sinauridze E.I. et al. Practical coagulology. Moscow: Prakticheskaya meditsina, 2011. (In Russ.)].
46. Васильев С.А., Воробьев А.И., Городецкий В.М. Протокол диагностики и лечения острого ДВС-синдрома. Проблемы гематологии и переливания крови 1999;3:40–4. [Vasilyev S.A., Vorobyov A.I., Gorodetsky V.M. Protocol for diagnosis and treatment of acute DIC syndrome. *Problemy gematologii i perelivaniya krovi* = *Problems of Hematology and Blood Transfusion* 1999;3:40–4. (In Russ.)].
47. Colman R.W., Hirsh J., Marder V.J., Saltzman E. Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia: Lippincott Company, 2010.
48. Baglin T. Using the laboratory to predict recurrent venous thrombosis. *Int J Lab Hematol* 2011;33(4):333–42. doi: 10.1111/j.1751-553X.2011.01345.x.
49. Collins P.W., Macchiavello L.I., Lewis S.J. et al. Global tests of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls. *Br J Haematol* 2006;135(2):220–7. doi: 10.1111/j.1365-2141.2006.06281.x.
50. Kinasewitz G.T., Yan S.B., Basson B. et al.; PROWESS Sepsis Study Group. Uni-

versal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative micro-organism [ISRCTN74215569]. Crit Care 2004;8(2):R82–90. doi: 10.1186/cc2459.

51. Daudel F., Kessler U., Folly H. et al. Thromboelastometry for the assessment of coagulation abnormalities in early and established adult sepsis: a prospective cohort study. Crit Care 2009;13(2):R42. doi: 10.1186/cc7765.

52. Dhainaut J.F., Shorr A.F., Macias W.L. et al. Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: relationship with mortality and organ failure. Crit Care Med 2005;33(2):341–8. PMID: 15699837.

53. Seo J.W., Kim H.K., Kim J.E. et al. Prognostic values of the factor Xa-activated clotting time and endogenous thrombin potential

in patients suspected of having disseminated intravascular coagulation. Thromb Res 2009;123(4):565–72. doi: 10.1016/j.thromres.2008.03.017.

54. Athale U.H., Chan A.K. Hemorrhagic complications in pediatric hematologic malignancies. Semin Thromb Hemost 2007;33(4):408–15. doi: 10.1055/s-2007-976176.

55. Franchini M., Frattini F., Crestani S., Bonfanti C. Bleeding complications in patients with hematologic malignancies. Semin Thromb Hemost 2013;39(1):94–100. doi: 10.1055/s-0032-1331154.

56. Shatzel J.J., Olson S.R., Tao D.L. et al. Ibrutinib-associated bleeding: pathogenesis, management and risk reduction strategies. J Thromb Haemost 2017;15(5):835–47. doi: 10.1111/jth.13651.

57. Church J.T., Jarboe M.D. Vascular Access in the Pediatric Population. Surg Clin North Am 2017;97(1):113–28. doi: 10.1016/j.suc.2016.08.007.

58. Jaffray J., Bauman M., Massicotte P. The Impact of Central Venous Catheters on Pediatric Venous Thromboembolism. Front Pediatr 2017;5:5. doi: 10.3389/fped.2017.00005.

59. Merrer J., De Jonghe B., Golliot F. et al.; French Catheter Study Group in Intensive Care. Complications of femoral and subclavian venous catheterization in critically ill patients: a randomized controlled trial. JAMA 2001;286(6):700–7. PMID: 11495620.

60. Payne J.H., Vora A.J. Thrombosis and acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol 2007;138(4):430–45. doi: 10.1111/j.1365-2141.2007.06677.x.

Статья поступила в редакцию: 02.05.2018. Принята в печать: 31.07.2018.
Article was received by the editorial staff: 02.05.2018. Accepted for publication: 31.07.2018.

РЖДГО |

Подписка на журнал для стран СНГ

Уважаемые коллеги, появилась возможность оформить **ПЛАТНУЮ** подписку на «Российский журнал детской гематологии и онкологии» (РЖДГО) для стран ближнего зарубежья и СНГ!

Вы можете воспользоваться любым удобным ресурсом для онлайн-оформления данной услуги:

- www.pressa-rf.ru — официальный сайт объединенного каталога «Пресса России»;

- www.press-med.ru — интернет-магазин медицинских книг и профессиональной периодики для врачей;
- <https://www.akc.ru> — агентство по распространению зарубежных изданий.

Или прийти в любое почтовое отделение Почты России и оформить подписку по каталогу «Пресса России». Индекс издания — 93505.

Индивидуализированный подход к профилактической терапии пациентов с тяжелой гемофилией А

Н.И. Зозуля¹, А.Г. Румянцев²

¹ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России; Россия, 125167, Москва, Новый Зыковский проезд, 4;
²ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

Контактные данные: Надежда Ивановна Зозуля zozulya.n@blood.ru

Пациентам с тяжелой и среднетяжелой формой гемофилии А традиционно назначается стандартная профилактика препаратом фактора свертывания VIII (FVIII), целью которой является достижение ноля кровотечений в год и остаточной активности FVIII не менее 1 %. У многих пациентов стандартный подход не позволяет достичь этих целей, что связано с целым рядом факторов: возраст больного, образ жизни, уровень физической активности, состояние суставов, мышечный тонус, комплаентность пациента, индивидуальный фармакокинетический (ФК) ответ на введение FVIII. В зависимости от уровня физической активности целевая остаточная активность FVIII может составлять 2, 3 или даже 5 %. В настоящее время активно изучается и внедряется в клиническую практику индивидуализированный подход к лечению пациентов с тяжелой формой гемофилии А, основанный на ФК-профиле пациента. Индивидуализация профилактики у пациентов с тяжелой формой гемофилии – реальная потребность врача и пациента. Отмечается высокая вариабельность значений периода полувыведения FVIII у разных больных. Необходим контроль длительности периода времени, когда остаточная активность FVIII составляет менее 1 %, т. е. периода, напрямую связанного с риском возникновения спонтанных кровотечений. Для пациентов, получающих лечение препаратом октоког альфа, разработано программное обеспечение (ПО) myPKFiT* на основе web-приложения, позволяющее моделировать режим дозирования с учетом ФК-профиля пациента на основании определения активности FVIII в 2 образцах крови. ПО позволяет изменять (повышать) целевой уровень остаточной активности FVIII, учитывая образ жизни и уровень физической активности пациента. Возможности ПО позволяют наглядно продемонстрировать больному активность FVIII при различных дозах и интервалах введения препарата, а также обозначить риски, возникающие при пропуске приема препарата. Таким образом, myPKFiT решает важную задачу индивидуализированного подхода к подбору и коррекции терапии, способствует улучшению сотрудничества и взаимопонимания врача и пациента, повышению приверженности больного к терапии и достижению оптимальных результатов.

Ключевые слова: гемофилия А, профилактика препаратом фактора свертывания VIII, остаточная активность фактора свертывания VIII, индивидуальный фармакокинетический профиль пациента, октоког альфа, программное обеспечение myPKFiT на основе web-приложения

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-89-94

Individualized approach to profilactic treatment in patients with severe hemophilia A

N.I. Zozulya¹, A.G. Rumyantsev²

¹National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyi Zykovskiy proezd, Moscow, 125167, Russia;
²Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia;
1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia

Patients with a severe and moderate form of hemophilia A have traditionally been prescribed standard prevention with a coagulation factor VIII (FVIII), the goal of which is to achieve zero bleedings per year and a remaining activity of FVIII no fewer than 1 %. The standard approach does not allow achieving these goals in many patients due to a variety of factors: age of the patient, lifestyle, level of physical activity, condition of joints, muscle tone, patient compliance, individual pharmacokinetic (PK) response to FVIII administration. The target remaining activity of FVIII may be 2, 3 or even 5 % depending on the level of physical activity. Nowadays an individualized approach to the treatment of patients with severe hemophilia A based on the patient's PK profile is actively being explored and implemented in clinical practice. Individualization of prevention in patients with severe hemophilia is a real need for the physician and patient. There is a high variability in the values of the half-life period of FVIII in different patients. It is necessary to monitor the duration of the time period when the remaining activity of FVIII is less than 1 %, i.e., the period which is directly linked to the risk of spontaneous hemorrhage. For the patients getting treatment of Octocog alfa there has been developed the software (SW) myPKFiT* on the basis of web application which allows to simulate a dosage regimen taking into account the patient's PK profile based on the determination of FVIII activity in 2 blood sample. The SW allows changing (increase) the target level of the remaining activity of FVIII considering the lifestyle and the level of physical activity of the patient. The ability of SW allows the patient to demonstrate the activity of FVIII at various doses and intervals of drugs, as well as identify the risks that arise when a drug is missed. Therefore, myPKFiT solves an important task of the individualized approach to selection and correction of therapy, improves the collaboration and mutual understanding between the physician and the patient, up regulates of the patient adherence to the therapy and achieves optimal results.

Key words: hemophilia A, prophylaxis with the preparation of coagulation factor VIII, residual activity of coagulation factor VIII, individual pharmacokinetic profile of patient, octocog alfa, myPKFiT software based on web application

Актуальность

Гемофилия А — наследственное заболевание, характеризующееся нарушением свертываемости крови в результате снижения синтеза фактора свертывания крови VIII (FVIII). Заболевание наследуется по ауто-сомно-рецессивному типу, сцепленному с X-хромосомой. При этом наследуются тип и тяжесть заболевания. Частота встречаемости гемофилии А составляет 1:10 000 мужского населения. Возраст верификации диагноза зависит от базовой активности FVIII [1]. При тяжелой форме гемофилии (FVIII < 1 %) заболевание, как правило, диагностируют в раннем возрасте на основании необъяснимых кровотечений и гематом, возникающих в неонатальном периоде и после того, как ребенок начинает ползать. Для снижения риска кровотечений и предотвращения развития инвалидизирующей артропатии вследствие частых гемартрозов пациентам назначают профилактическое лечение концентратами FVIII [1]. Первичная профилактика, начатая в раннем возрасте в дозах 25–40 МЕ/кг, является «золотым стандартом» лечения [2]. Вторичная профилактика, которая назначается больным, уже имеющим признаки повреждения суставов, снижает прогрессирование гемофилической артропатии и улучшает мобильность [3].

Современный подход к профилактике

Первоначальная концепция профилактики основывалась на клиническом наблюдении, что у пациентов со среднетяжелой гемофилией (FVIII 1–5 %) реже происходят кровотечения, в том числе гемартрозы, и реже развивается артропатия в сравнении с пациентами, имеющими тяжелую гемофилию [4]. Отсюда возникло представление о необходимости поддержания активности FVIII > 1 % для обеспечения снижения числа кровотечений и уменьшения развития артропатии [4]. Первым и одним из самых крупных исследований, посвященных изучению взаимосвязи остаточной активности FVIII и частоты кровотечений у пациентов с тяжелой гемофилией, получающих профилактическую терапию, является работа P.W. Collins et al. [5]. В ходе этого исследования были проанализированы данные о лечении 143 пациентов (44 больных в возрасте 1–6 лет и 99 — в возрасте 10–65 лет; FVIII < 1 %), получавших терапию препаратом октоког альфа (торговое наименование Адвейт®* — rFVIII-PFM, рекомбинантный полноцепочечный FVIII 3-го поколения, не содержащий человеческих и животных белков). У больных, получавших стан-

дартную профилактику FVIII (25–40 МЕ/кг, не менее 3 раз в неделю), были определены индивидуальные фармакокинетические (ФК) профили FVIII и установлены периоды времени, когда остаточная активность FVIII была ниже 1, 2 и 5 %. С помощью дневников фиксировались кровотечения и инфузии FVIII. Оказалось, что у пациентов, не имевших кровотечений, период времени с остаточной активностью FVIII < 1 % был в 2 раза короче по сравнению с больными, имевшими хотя бы одно кровотечение [5]. Результаты этого исследования показали, что с увеличением длительности периода снижения остаточной активности FVIII < 1 % происходит увеличение числа кровотечений и гемартрозов [5].

Вместе с тем результаты целого ряда исследований свидетельствуют о том, что остаточная активность FVIII ≥ 1 % может быть недостаточной для предупреждения спонтанных кровотечений в суставы: в анализе с участием 122 пациентов с легкой гемофилией было обнаружено, что суставные кровотечения не возникают при активности FVIII > 12 % [6]. Другое исследование, проведенное в Нидерландах, продемонстрировало, что у пациентов со среднетяжелой гемофилией развитие гемартрозов не наблюдалось при уровне FVIII > 3 % [7]. Таким образом, критический фенотип заболевания с частыми спонтанными кровотечениями зависит от многих факторов, которые не всегда связаны с остаточной активностью FVIII. К ним относятся: возраст больного, образ жизни, уровень физической активности, состояние суставов, мышечный тонус, комплаентность пациента, индивидуальный ФК-ответ на введение FVIII [2, 8].

Знание ФК-параметров необходимо для оценки активности FVIII, достигаемой после инфузии, а также его устойчивости при циркуляции в плазме крови, обеспечивающей поддержание гемостаза. Остаточная активность FVIII значительно отличается у пациентов с гемофилией и зависит от таких показателей, как возраст, масса тела больного и особенности его метаболизма, влияющих на ФК-параметры [9]. Так, у взрослых пациентов после инфузии FVIII в дозе 30 МЕ/кг активность FVIII через 48 ч может колебаться от 2 до 12 %, а время достижения активности FVIII > 1 % находится в интервале от 51 до 110 ч [9].

Согласно данным ФК-исследований препарата октоког альфа, проведенных с участием взрослых и детей, его период полувыведения варьируется от 6 до 25 ч [10]. В работе P.W. Collins et al. 2010 г. изучалось влияние индивидуальных различий периода

* Адвейт® — РУ ЛП-002447 от 05.05.2014.

полувыведения и частоты введения FVIII на остаточную активность FVIII. Было установлено, что у маленьких пациентов (возраст – 1–6 лет), имеющих период полувыведения FVIII, равный 7,4 ч (5 %), и у детей, имеющих период полувыведения 13,1 ч (95 %), после однократной инфузии FVIII в дозе 30 МЕ/кг время снижения активности FVIII до 1 % различалось на 32,9 ч [11]. Для детей старшего возраста и взрослых пациентов (возраст – 10–65 лет) это различие достигало 57 ч при вариации периода полувыведения с 7,5 до 16,5 ч. [11]. Расчеты показали, что при наличии у пациента, взрослого или ребенка, самого короткого периода полувыведения только ежедневный режим дозирования FVIII (15 МЕ/кг каждый день), эквивалентный дозе 30 МЕ/кг, вводимой через день, может обеспечить отсутствие периодов снижения остаточной активности FVIII < 1 %. При использовании у этих больных режима введения препарата FVIII через день или каждые 72 ч длительность периодов снижения остаточной активности FVIII < 1 % прогрессивно увеличивается и сопровождается повышением риска спонтанных кровотечений [11].

В настоящее время активно изучается и внедряется в клиническую практику индивидуализированный подход к лечению гемофилии, основанный на таких особенностях пациента, как персональный ФК-профиль [2, 8]. Целью недавно проведенного анализа L.A. Valentino et al. являлось сравнение эффективности и безопасности 2 режимов профилактики (стандартного и основанного на ФК-показателях) и режима терапии по требованию препаратом октоког альфа [12]. В исследование были включены 66 пациентов в возрасте 7–59 лет, имеющие уровень базальной активности FVIII ≤ 2 %. После 6 мес терапии по требованию больных рандомизировали для получения в течение 12 мес стандартной (20–40 МЕ/кг через день) и основанной на ФК-параметрах (20–80 МЕ/кг каждый 3-й день) профилактики. Оба режима терапии были направлены на поддержание остаточной активности FVIII > 1 %. В сравнении с лечением по требованию профилактическая терапия препаратом октоког альфа сопровождалась уменьшением годичной частоты кровотечений на 99,4 %, улучшением показателей качества жизни, в том числе снижением интенсивности боли независимо от того, какой режим терапии использовался, – стандартный или подобранный по ФК [12]. Также группы профилактического лечения не различались между собой по частоте развития нежелательных явлений и объему потребления FVIII. Полученные в ходе исследования данные дают возможность рассматривать профилактику, основанную на ФК, в качестве эффективной и безопасной альтернативы стандартной профилактики, позволяю-

щей при равном потреблении FVIII сократить общее количество инфузий FVIII на 1 инфузию в неделю или 52 инфузии за год [12].

Тем не менее даже в рандомизированных клинических исследованиях у ряда пациентов не всегда удается снизить годовую частоту кровотечений и гемартрозов как минимум до 2 эпизодов в год, причиной чему являются различия в ФК FVIII у различных больных. Чтобы дать оценку индивидуальному ответу пациента в возрасте ≥ 12 лет на новый препарат FVIII, должна быть доступна информация по ФК ранее вводимого препарата фактора до первой инъекции исследуемого продукта (историческое значение показателя восстановления и период полувыведения). Образцы крови забирают перед введением FVIII в дозе 25–50 МЕ/кг, а затем после введения через 15 мин, 30 мин и через 1, 3, 6, 9, 24, 28 и 32 ч. Если вводится доза 50 МЕ/кг, то дополнительно берут образец через 48 ч. Таким образом, для построения ФК-кривой у пациентов ≥ 12 лет необходим забор крови в 10–11 временных точках [13]. Для соблюдения приверженности к исследованию у детей количество образцов крови снижено до 5: базовый уровень (до инфузии), через 1, 10, 24 и 48 ч после инфузии. Но в зависимости от типа концентрата FVIII (например, длительного периода полувыведения) могут потребоваться дополнительные временные точки [13].

Однако даже с учетом сокращения количества временных интервалов для забора образцов в условиях реальной клинической практики это практически невыполнимо, в связи с чем была изучена возможность построения ФК-кривой по одной, двум и трем точкам [14]. Результаты исследования показали, что образцы крови, взятые через 4, 24 и 48 ч, дают практически такую же информацию о ФК, как полное исследование на основе 7–10 образцов. Даже один тест на активность FVIII через 24 ч предоставил адекватные данные для корректировки первоначальной дозы и дал прогноз активности FVIII через 5–17 мес, который не был заметно хуже прогнозов, основанных на полном ФК-анализе [14]. Данная модель была валидирована. Стала ясна ее практическая ценность. Далее, основываясь на популяционной ФК препарата октоког альфа и байесовском подходе, было разработано программное обеспечение (ПО) myPKFiT** на основе web-приложения для моделирования режимов дозирования препарата октоког альфа (Адвейт®) с использованием индивидуальных ФК-профилей пациентов с гемофилией А [15]. С помощью myPKFiT на основании определения активности FVIII не менее чем в 2 образцах крови (через 3 ч и между 24 и 32 ч после инфузии) можно построить ФК-кривые, узнать ФК-параметры, такие как кли-

** myPKFiT – регистрационное удостоверение на медицинское изделие № P3H 2017/6449 от 09.11.2017.

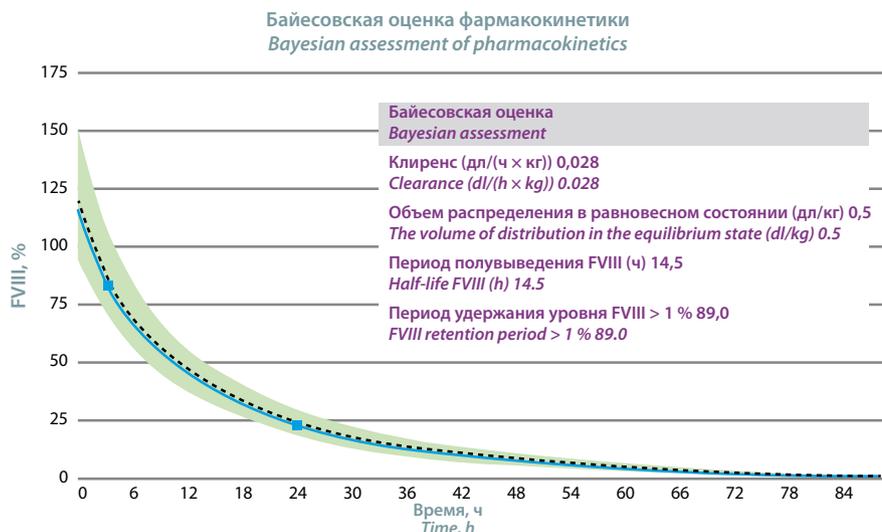


Рис. 1. Пример популяционной ФК-кривой и ФК-кривой пациента

Fig. 1. An example of a population pharmacokinetic curve and a patient's pharmacokinetic curve

ренс, объем распределения, период полувыведения (рис. 1). Можно определить длительность периода времени, когда активность FVIII находится выше или ниже заданного значения (рис. 2) [16]. ПО позволяет моделировать режимы дозирования препарата октоког альфа с учетом образа жизни, уровня физической активности пациента, изменяя (повышая) целевой уровень остаточной активности FVIII. Возможности ПО позволяют наглядно продемонстрировать больному активность FVIII при различных режимах дозирования и интервалах введения препарата, а также обозначить риски, возникающие при пропуске инъекции. Таким образом, туPKFiT решает важную задачу индивидуализированного подхода к подбору и коррекции терапии, способствует улучшению сотрудничества и взаимопонимания врача и пациента, повышению приверженности больного к терапии и достижению оптимальных результатов.

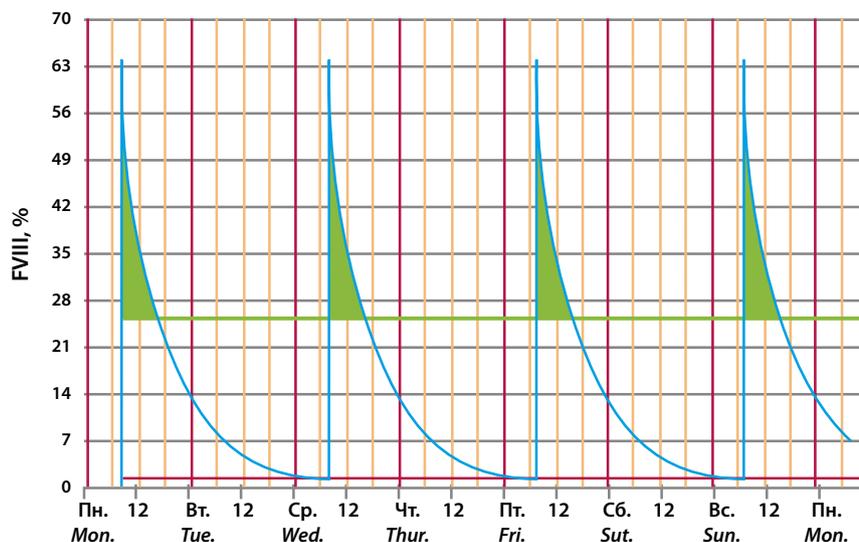
Клинический случай

Пациент, 18 лет с диагнозом тяжелая гемофилия А, подтвержденным генетическим анализом, выявившим делецию нуклеотидов 5467–5468 в экзоне 23 [17]. Первый гемартроз правого голеностопного сустава появился в возрасте 18 месяцев. Больной первоначально получал терапию препаратами FVIII по требованию, в возрасте 9 лет начал профилактическое лечение. В настоящее время получает профилактическую терапию препаратом октоког альфа в дозе 1500 МЕ (20 МЕ/кг) 3 раза в неделю по понедельникам, средам и пятницам. У пациента развилась артропатия обоих голеностопных суставов, в большей степени справа. Больной ведет малоподвижный образ жизни. Профилактическая терапия была достаточно эффективной в течение нескольких

лет, но за последний год имели место 5 эпизодов кровотечений: 2 гемартроза в правый голеностопный сустав, 1 – в левый, 1 гемартроз в правый коленный сустав и 1 – в правый плечевой сустав. Анализ всего 2 образцов крови с помощью ПО туPKFiT показал, что период полувыведения введенного FVIII составил 12,4 ч. С помощью программы было вычислено, что профилактическая доза поддерживала FVIII на уровне 2 % в течение 48 ч. Эти данные не дают оснований предполагать, что недостаточная доза FVIII являлась причиной увеличения частоты эпизодов кровотечений. Фактическое годовое потребление пациентом препарата октоког альфа – 174 000 МЕ, что составляет 74 % от расчетной годовой дозы (234 000 МЕ) [17].

Больной сообщил о том, что иногда пропускал введение препарата, либо проводил их в другое время или в другие дни, отклоняясь от предписанного ему режима дозирования. Пропуская 1 введение в неделю, пациент оказывался в ситуации, когда активность FVIII была < 1 % в течение более чем 46 ч [17]. В исследовании P.W. Collins et al. было продемонстрировано, что увеличение времени, в течение которого активность FVIII снижается < 1 %, ассоциируется с увеличением числа кровотечений и гемартрозов, и в наибольшей степени это связано с нарушением пациентами предписанного режима введения препарата [5].

Низкая приверженность больного к лечению была связана с неудобствами выполнения инъекций на рабочем месте, а также с недооценкой им необходимости профилактики в связи с низкой частотой кровотечений в анамнезе [17]. В данном случае снижение частоты инъекций под контролем ФК-параметров может быть ключевым фактором для повышения приверженности пациента к предписанной терапии. Применение ПО туPKFiT по-



	Понедельник Monday	Вторник Tuesday	Среда Wednesday	Четверг Thursday	Пятница Friday	Суббота Saturday	Воскресенье Sunday
Доза (МЕ) Dose (IU)	486		486		486		486
Доза (МЕ/кг) Dose (IU/kg)	37,4 37.4		37,4 37.4		37,4 37.4		37,4 37.4
Время > 25 % Time > 25 %	9 ч 9 h		9 ч 9 h		9 ч 9 h		9 ч 9 h
Время < 1 % Time < 1 %	1 ч 1 h		0 ч 0 h		0 ч 0 h		0 ч 0 h

Рис. 2. Пример режима дозирования на неделю. Зеленым цветом отмечены периоды, когда активность FVIII > 25 %

Fig. 2. Example of dosing regimen for a week. Green indicates periods when the activity of FVIII > 25 %

зволито создать ФК-профиль данного больного и предложить ему индивидуальный план лечения. Было показано, что ему можно увеличить интервал между введениями до 72 ч при сохранении остаточной активности FVIII > 1 %, но с увеличением общей дозы препарата с 22 200 до 28 270 МЕ в месяц [17].

Заключение

Индивидуализация профилактики у пациентов с тяжелой формой гемофилии – реальная потребность врача и пациента. Отмечается высокая вариабельность значений периода полувыведения FVIII у разных больных. Необходим контроль длительности периода времени, когда остаточная активность FVIII составляет < 1 %, т. е. периода, напрямую связанного с риском возникновения спонтанных кровотечений. Использование ПО myPKFiT для моделирования режимов дозирования препарата октоког альфа с использованием индивидуальных ФК-профилей пациентов с гемофилией А позволяет достичь необходимого уровня FVIII и предотвратить возникновение кровотечений. При индивидуальном подборе профилактического режима необходимо учитывать фи-

зическую активность, образ жизни, индивидуальные ФК-параметры (период полувыведения), состояние суставов больного. ПО myPKFiT позволяет разрабатывать режимы профилактического лечения, адаптированные к потребностям конкретного пациента, помогает вести конструктивный диалог врача с больным для оптимизации терапии, повышая приверженность последнего к лечению. Простота практического использования основана на возможности определять активность FVIII всего в 2 временных точках. Внедрение ПО myPKFiT в повседневную практику позволит повысить эффективность терапии, основываясь на фармакокинетике и учитывая потребности пациента.

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

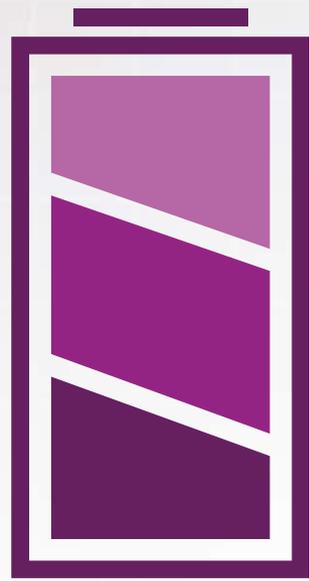
Спонсор исследования – ООО «Шайер Биотех Рус».

Sponsor of the research – LLC “Shire Biotech Rus”.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Srivastava A., Brewer A.K., Mauser-Bunschoten E.P. et al.; Treatment Guidelines Working Group on Behalf of The World Federation Of Hemophilia. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia* 2013;19(1):e1–47. doi: 10.1111/j.1365-2516.2012.02909.x.
2. Reininger A.J., Chehadah H.E. The principles of PK-tailored prophylaxis. *Haemostaseologie* 2013;33 Suppl :S32–5. PMID: 24169861.
3. Hay C.R. Prophylaxis in adults with haemophilia. *Haemophilia* 2007;13(Suppl 2):10–5. doi: 10.1111/j.1365-2516.2007.01500.x.
4. Fischer K., Astermark J., van der Bom J.G. et al. Prophylactic treatment for severe haemophilia: comparison of an intermediate-dose to a high-dose regimen. *Haemophilia* 2002;8(6):753–60. PMID: 12410643.
5. Collins P.W., Blanchette V.S., Fischer K. et al.; rAHF-PFM Study Group. Break-through bleeding in relation to predicted factor VIII levels in patients receiving prophylactic treatment for severe hemophilia A. *J Thromb Haemost* 2009;7(3):413–20. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03270.x.
6. Den Uijl I.E., Mauser-Bunschoten E.P., Roosendaal G. et al. Clinical severity of haemophilia A: does the classification of the 1950s still stand? *Haemophilia* 2011;17(6):849–53. doi: 10.1111/j.1365-2516.2011.02539.x.
7. Den Uijl I.E., Biesma D., Grobbee D., Fischer K. Outcome in moderate haemophilia. *Blood Transfus* 2014;12 Suppl 1:s330–6. doi: 10.2450/2012.0091-12.
8. Collins P.W. Personalized prophylaxis. *Haemophilia* 2012;18(Suppl. 4):131–5. doi: 10.1111/j.1365-2516.2012.02838.x.
9. Collins P.W., Fischer K., Morfini M., Blanchette V.S., Björkman S.; International Prophylaxis Study Group Pharmacokinetics Expert Working Group. Implications of coagulation factor VIII and IX pharmacokinetics in the prophylactic treatment of haemophilia. *Haemophilia* 2011;17(1):2–10. doi: 10.1111/j.1365-2516.2010.02370.x.
10. Tarantino M.D., Collins P.W., Hay C.R. et al.; RAHF-PFM Clinical Study Group. Clinical evaluation of an advanced category antihaemophilic factor prepared using a plasma/albumin-free method pharmacokinetics, efficacy, and safety in previously treated patients with haemophilia A. *Haemophilia* 2004;10(5):428–37. doi: 10.1111/j.1365-2516.2004.00932.x.
11. Collins P.W., Björkman S., Fischer K. et al. Factor VIII requirement to maintain a target plasma level in the prophylactic treatment of severe hemophilia A: influences of variance in pharmacokinetics and treatment regimens. *J Thromb Haemost* 2010;8(2):269–75. doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03703.x.
12. Valentino L.A., Mamonov V., Hellmann A. et al.; Prophylaxis Study Group. A randomized comparison of two prophylaxis regimens and a paired comparison of on-demand and prophylaxis treatments in hemophilia A management. *J Thromb Haemost* 2012;10(3):359–67. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04611.x.
13. Guideline on the clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor VIII products. EMA. Adopted by Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP); 26 July 2018. Режим доступа: [Электронный ресурс]. Дата доступа на сайт – 10 августа 2018. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2018/08/WC500253899.pdf.
14. Björkman S. Limited blood sampling for pharmacokinetic dose tailoring of FVIII in the prophylactic treatment of haemophilia A. *Haemophilia* 2010;16(4):597–605. doi: 10.1111/j.1365-2516.2009.02191.x.
15. Manual of myPKFiT (Web-based Software for modeling of the dosage regimens of Advate with usage of individual pharmacokinetic profiles of patients with Hemophilia A, Certificate of authenticity, December, 15, 2016). Baxter Healthcare Corporation, USA, www.baxter.com.
16. Álvarez-Román M.T., Fernández-Bello I., De La Corte-Rodríguez H. et al. Experience of tailoring prophylaxis using factor VIII pharmacokinetic parameters estimated with myPKFiT® in patients with severe haemophilia A without inhibitors. *Haemophilia* 2017;23(1):e50–e54. doi: 10.1111/hae.13141.
17. Parra R. myPKFit case study: PK-guided prophylaxis and adherence. XVII Workshop on Congenital Coagulopathies. Spanish Society of Thrombosis and Hemostasis. Madrid May 29–30, 2015.

Статья поступила в редакцию: 01.08.2018. Принята в печать: 20.08.2018.
Article was received by the editorial staff: 01.08.2018. Accepted for publication: 20.08.2018.



my
PK
FiT

Искусство в подборе индивидуализированной терапии препаратом Адвейт®, основанной на ФК параметрах, дающее пациенту уверенность и свободу в образе жизни¹⁻³

MyPKFiT позволяет подобрать индивидуальную схему лечения для Ваших пациентов с гемофилией А¹:

- Определить индивидуальный период полувыведения фактора VIII всего по двум образцам крови
- Установить требуемый минимальный уровень фактора VIII
- Выбрать подходящий интервал между введениями
- Определить временной интервал, в течение которого активность фактора VIII выше и ниже заданного уровня
- Обучать пациентов с помощью материала, распечатанного в формате PDF

1. MYPKFIT USER MANUAL; BAXTER HEALTHCARE S.A.; 2014. 2. VALENTINO LA, MAMONOV V, HELLMANN A, ET AL. A RANDOMIZED COMPARISON OF TWO PROPHYLAXIS REGIMENS AND A PAIRED COMPARISON OF ON-DEMAND AND PROPHYLAXIS TREATMENTS IN HEMOPHILIA AMANAGEMENT [PUBLISHED CORRECTION APPEARS IN J THROMB HAEMOST. 2012;10(6):1204]. J THROMB HAEMOST. 2012;10(3):359-367. 3. ALVAREZ-ROMAN MT. THE OFFICIAL JOURNAL OF THE WORLD FEDERATION OF HEMOPHILIA, EUROPEAN ASSOCIATION FOR HAEMOPHILIA AND ALLIED DISORDERS AND THE HEMOSTASIS & THROMBOSIS RESEARCH SOCIETY. 2016;E51-E54.

АДВЕЙТ

Регистрационный номер: ЛП-002447. **МНН:** Октогон альфа. **Фармакотерапевтическая группа:** гемостатическое средство. **Фармакологические свойства:** Препарат АДВЕЙТ содержит рекомбинантный фактор свертывания крови VIII, являющийся гликопротеином с аминокислотной последовательностью, аналогичной человеческому фактору VIII. При введении октогон альфа связывается с эндогенным фактором Виллебранда. Активированный фактор VIII действует как кофактор для активированного фактора IX, ускоряя преобразование фактора X в активированный фактор X. Активированный фактор X способствует переходу протромбина в тромбин. Тромбин, способствует переходу фибриногена в фибрин, что приводит к образованию тромба (сгустка крови). Все фармакокинетические исследования препарата проведены с участием пациентов, предварительно получавших лечение тяжелой или умеренно тяжелой гемофилии А (исходный уровень фактора VIII ≤ 2). Сводные фармакокинетические данные были получены и проанализированы у 195 ранее леченных пациентов, страдающих тяжелой гемофилией А (исходный уровень фактора VIII $\leq 1\%$). Безопасность и гемостатическая эффективность препарата АДВЕЙТ у детей аналогичны таковым у взрослых. **Показания к применению:** Лечение и профилактика кровотечений у взрослых и детей, страдающих гемофилией А (наследственный дефицит фактора VIII). Препарат АДВЕЙТ не содержит фактор Виллебранда в количестве, необходимом для достижения фармакологического эффекта, поэтому не показан для лечения болезни Виллебранда. **Противопоказания:** Известная гиперчувствительность к действующему веществу или к любому из вспомогательных веществ, а также к белкам мышей/хомячков. **Применение при беременности и в период лактации:** В связи с тем, что гемофилией А женщины страдают крайне редко, безопасность применения препарата у беременных женщин и у женщин в период лактации не установлена. **Способ применения и дозы:** Лечение препаратом должно быть начато под наблюдением врача, имеющего опыт в лечении гемофилии, и при наличии возможности немедленного проведения реанимационных мероприятий в случае возникновения анафилаксии. Дозы и продолжительность лечения зависят от степени дефицита фактора VIII, локализации и интенсивности кровотечения, а также от клинического состояния пациента. **Лечение «по требованию»:** Необходимая доза препарата АДВЕЙТ определяется по формуле: Требуемая доза (МЕ) = масса тела (кг) x необходимый % увеличения фактора VIII x 0,5. **При кровотечениях и хирургических вмешательствах,** активность фактора VIII не должна опускаться ниже заданного уровня. **Полное описание способа применения и рекомендуемого режима дозирования см. в инструкции по медицинскому применению.** **Побочное действие:** Наиболее часто были отмечены следующие НЛР: появление ингибиторов (нейтрализующих антител к фактору VIII), головная боль и лихорадка. Гиперчувствительность или аллергические реакции наблюдались нечасто, но в некоторых случаях прогрессировали с развитием тяжелой анафилаксии (включая анафилактический шок). **Перечень всех побочных эффектов представлен в инструкции по медицинскому применению.** **Передозировка:** О случаях передозировки не сообщалось. Симптомы неизвестны. **Взаимодействие с другими лекарственными препаратами:** исследования не проводились. **Особые указания и меры предосторожности при применении:** **Гиперчувствительность:** сообщалось о развитии реакций гиперчувствительности аллергического типа, включая анафилаксию. **Образование ингибиторов фактора VIII:** появление нейтрализующих антител проявляется снижением прокоагулянтной активности препарата. **Катетер-ассоциированные осложнения:** существует риск развития местной инфекции, бактериемии, тромбоза. **Вспомогательные вещества:** пациентам, находящимся на диете с ограничением натрия следует учитывать, что восстановленный раствор содержит 0,45 ммоль натрия (10 мг) на флакон. **Влияние на способность управлять транспортными средствами, работать с механизмами:** Препарат АДВЕЙТ не оказывает влияние. **Условия отпуска:** По рецепту. **Претензии потребителей, рекламации по качеству препарата и сообщения о развитии нежелательных реакций принимаются по адресу:** АО «Эс Дни Биотех»: 601125, Российская Федерация, Владимирская область, Петушинский район, п. Волгинский, ул. Владимирская, д. 18, офис 26 Тел. (Факс): +7(49243) 7-31-15 (доб. 5005). Полная информация по препарату представлена в инструкции по медицинскому применению препарата («ИМП»). Настоящая сокращенная инструкция по применению («СИП») представлена исключительно в информационных целях и не может служить в качестве исчерпывающего руководства при назначении и применении препарата. СИП (V.2.0) от 17.07.2018 на основании ИМП от 07.06.2018



ООО «Шайер Биотех Рус»:
119021, г. Москва, ул. Тимура Фрунзе, д. 11,
стр. 1, этаж 6, пом. 1, комн. 6; 8; 12,
тел.: +7 (495) 787-04-77; www.shire.com

Роль тандемной масс-спектрометрии в диагностике наследственных болезней обмена веществ

Г.В. Байдакова¹, Т.А. Иванова¹, Е.Ю. Захарова¹, О.С. Кокорина²

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»; Россия, 115522, Москва, ул. Москворечье, 1;

²Медицинская компания INVITRO; Россия, 125047, Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская, 16, корп. 3

Контактные данные: Галина Викторовна Байдакова labnbo@yandex.ru

В статье рассматривается применение тандемной масс-спектрометрии в диагностике и скрининге наследственных болезней обмена веществ. Широкий спектр заболеваний, специфичность, простота пробоподготовки и высокая пропускная способность, обеспечиваемая технологией тандемной масс-спектрометрии (МС/МС), привели к разработке во многих странах программ расширенного скрининга новорожденных на аминокислотопатии, органические ацидурии и дефекты окисления жирных кислот (ОЖК). Применение МС/МС в селективном скрининге позволило существенно улучшить диагностику некоторых классов заболеваний, таких как дефекты ОЖК. Новые специфические и быстрые методы МС/МС и высокоэффективной жидкостной хроматографии—МС/МС дополняют или заменяют некоторые из классических методов газовой хроматографии с масс-спектрометрической детекцией для множества метаболитов и заболеваний. В ближайшее время следует ожидать появления новых перспективных методов для диагностики не только отдельных нозологических форм, но и целых групп наследственных болезней обмена веществ.

Ключевые слова: наследственные болезни обмена веществ, тандемная масс-спектрометрия, скрининг новорожденных, лизосомные болезни накопления

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-96-105

The role of tandem mass spectrometry in the diagnosis of inherited metabolic diseases

G.V. Baydakova¹, T.A. Ivanova¹, E.Yu. Zakharova¹, O.S. Kokorina²

¹Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow, 115522, Russia;

²Medical company INVITRO; Bldg. 3, 16 4th Tverskaya-Yamskaya St., Moscow, 125047, Russia

This paper reviews the clinical applications of tandem mass spectrometry in diagnosis and screening for inherited metabolic diseases. The broad-spectrum of diseases covered, specificity, ease of sample preparation, and high throughput provided by the MS/MS technology has led to the development of multi-disorder newborn screening programs in many countries for amino acid disorders, organic acidurias, and fatty acid oxidation defects. The application of MS/MS in selective screening has revolutionized the field and made a major impact on the detection of certain disease classes such as the fatty acid oxidation defects. New specific and rapid tandem mass spectrometry (MS/MS) and high performance liquid chromatography—MS/MS methods are supplementing or replacing some of the classical gas chromatography—MS/MS methods for a multitude of metabolites and disorders. In the near future, we should expect the emergence of new promising methods for diagnosing not only individual nosologic forms, but also entire groups of inherited metabolic diseases.

Key words: inherited metabolic diseases, tandem mass spectrometry, newborn screening, lysosomal storage disorders

Наследственные болезни обмена веществ (НБО) — класс наследственных моногенных нарушений, вызванных мутациями в генах, кодирующих ферменты или другие белки, участвующие в определенном метаболическом пути. Отличительной чертой этого класса болезней является наличие высокоспецифичных биохимических маркеров заболеваний, на выявлении которых базируется их лабораторная диагностика. Особое внимание к этому классу заболеваний связано с тем, что для многих форм НБО уже созданы подходы к лечению.

Наследственные нарушения метаболизма аминокислот, органических кислот и дефекты митохондриального β-окисления — самые обширные группы

НБО (более 100 нозологических единиц). Эти группы НБО в ряде исследованных популяций имеют довольно высокую суммарную частоту 1:2000—1:3000 живых новорожденных [1, 2]. Большинство этих заболеваний манифестируют в раннем детском возрасте, характеризуются острым началом, часто сопровождаются поражением нервной системы. При этом около 20 форм болезней из этой группы поддаются лечению (диетотерапия, витамины, кофакторы, ферменты), эффективность которого во многом зависит от сроков установления диагноза.

Группа лизосомных болезней накопления (ЛБН), включающая более 50 различных нозологических

форм, также имеет довольно высокую суммарную частоту – 1:5000–1:8000 живых новорожденных, при том, что частота отдельных нозологических форм крайне низка – 1:40 000–1:100 000 [3]. Методы ферментной заместительной терапии для лечения ЛБН начали применяться уже более 25 лет назад, и на сегодняшний день для 10 форм ЛБН разработаны препараты, которые позволяют скорректировать основные осложнения заболеваний и улучшить качество и продолжительность жизни больных.

Масс-спектрометрия

Масс-спектрометрия (МС) – аналитический метод, с помощью которого можно получать как качественную (структура), так и количественную (молекулярная масса или концентрация) информацию анализируемых молекул после их преобразования в ионы. Существенное отличие МС от других аналитических физико-химических методов состоит в том, что в масс-спектрометре определяется непосредственно масса молекул и их фрагментов. Результаты представляются графически (так называемый масс-спектр). В тандемном масс-спектрометре (МС/МС) масс-анализаторы выстраивают последовательно друг за другом (рис. 1). Из ионов, разделенных в первом масс-анализаторе, отбирают неидентифицированные по своему строению частицы (родительские ионы) и разбивают их на более мелкие фрагменты столкновением с атомами инертного газа (диссоциация, индуцированная соударением (ДИС)). Этот процесс реализуется перед вторым масс-анализатором, при помощи которого анализируют продукты распада (дочерние ионы). Иногда невозможно анализировать многокомпонентные, сложные смеси молекул без их предварительного разделения, в таком случае применяют хроматографическое разделение (жидкостная или газовая хроматография).

При МС/МС-анализе ионный сигнал пропорционален концентрации анализируемого соединения, линеен в пределах выявления (обычно пмоль/л) и практически не зависит от течения потока и объема вводимого образца. Для количественного измерения вводится внутренний стандарт. Внутренние стандарты имеют сходную анализируемому веществу структуру, чаще всего в качестве внутренних стандартов применяют стабильные изотопы.

Применение компьютерных алгоритмов позволяет проводить несколько типов МС/МС-сканирования в одном анализе, наиболее часто используются следующие методы:

- сканирование родительских ионов. Масс-анализатор 1 сканирует все возможные родительские ионы, в то время как масс-анализатор 3 статически зафиксирован на одном уникальном дочернем ионе, полученном после ДИС. Например, основной фрагментированный ион для всех ацилкарнитинов составляет 85 а.е.м.;
- сканирование нейтральных потерь. И масс-анализатор 1, и масс-анализатор 2 сканируют при постоянной разнице в m/z . Этот метод используется для мониторинга потерь нейтральных фрагментов после ДИС. Например, для большинства бутилированных аминокислот нейтральные потери составляют 102 а.е.м.;
- мониторинг множественных реакций (Multiple Reaction Monitoring, MRM). Масс-анализатор 1 и масс-анализатор 2 статичны для заранее определенной пары родительского и дочернего ионов, это дает наибольшую чувствительность и специфичность и главным образом используется при количественных измерениях.

МС/МС-анализ наиболее эффективен для соединений, имеющих сходные дочерние ионы или нейтральные молекулы, например для анализа аминокислот и ацилкарнитинов. Необходимо также подчеркнуть возможность МС/МС-анализа различных химических групп в одном анализе за очень короткое время (≈ 2 мин). Это обеспечивает широкий спектр анализов и высокую пропускную способность, что экономически выгодно для скрининга на большое число заболеваний.

Лабораторная диагностика аминокислотопатий, органических ацидурий и дефектов окисления жирных кислот

В диагностике этих групп болезней ключевую роль играет анализ аминокислот, общего и свободного карнитина, а также ацилкарнитинов в различных биологических жидкостях. Благодаря высокой чувствительности, специфичности и пропускной способности МС/МС играет основную роль как в текущей диагностике этих групп заболеваний, так и в массовом скрининге новорожденных. МС/МС позволяет за короткий промежуток времени (менее 2 мин) определять в одном высушенном пятне крови (≈ 3 мкл) более 50 маркеров (аминокислоты и ацилкарнитины)



Рис. 1. Типичная блок-схема тандемного масс-спектрометра

Fig. 1. A typical flow-chart of a tandem mass-spectrometer

множества заболеваний [4, 5]. Определяя уникальные для каждого соединения соотношения массы к заряду и сравнивая интенсивность аналитов с внутренними стандартами, данная технология дает точную количественную и качественную оценку соединений [6, 7] с очень низким процентом ложноположительных результатов (0,2–0,3 %). Применение МС/МС в программах обследования новорожденных позволяет проводить неонатальный скрининг более чем 40 форм НБО [8, 9]. Чувствительность и специфичность МС/МС варьирует для разных заболеваний. В частности, сложности возникают при диагностике некоторых нарушений обмена аминокислот (недостаточности орнитинтранскарбомилазы, гомоцистинурии) и органических ацидурий (недостаточности биотинидазы, метилмалоновой ацидурии), поскольку при этих болезнях не у всех пациентов в неонатальном периоде выявляются значимые изменения концентрации маркерных метаболитов или маркер не является высокоспецифичным и требуются тесты 2-й линии для повышения специфичности скрининга [10, 11].

Аминоацидопатии относятся к наиболее частым НБО [12–14]. При наследственном заболевании, как правило, уровень специфического маркера повышается в десятки или сотни раз (таблица; рис. 2).

При этом необходимо отметить, что изменение концентрации аминокислот не всегда является высокоспецифичным и может наблюдаться у недоношенных детей, при хронических заболеваниях печени, воспалительных процессах. Например, при тирозинемии 1-го типа у новорожденных основным маркером является повышение концентрации сукцинилациетона в крови и моче. Повышение тирозина может наблюдаться не только при тирозинемии, но и при других заболеваниях, связанных с поражением печени.

Термин «органическая ацидемия», или «органическая ацидурия» применяется к группе заболеваний, характеризующихся экскрецией органических кислот с мочой (см. таблицу) [15–18]. Новорожденные с органической ацидурией обычно не имеют клинических симптомов при рождении. Первые признаки болезни проявляются на первых неделях – месяцах жизни: нарушение вскармливания (частые срыгивания, рвота, сниженный аппетит), поражение нервной системы (нарушение сознания вплоть до комы, судороги, нарушение мышечного тонуса). Поэтому особенно важно поставить диагноз в первые дни жизни. Для данной группы заболеваний характерно изменение концентрации ацилкарнитинов при МС/МС (рис. 3).

Например, повышение уровня пропионилкарнитина наблюдается при пропионовой и метилмалоновой ацидурии. Дифференциальная диагностика данных заболеваний включает количественное определение уровня органических кислот в моче [19].

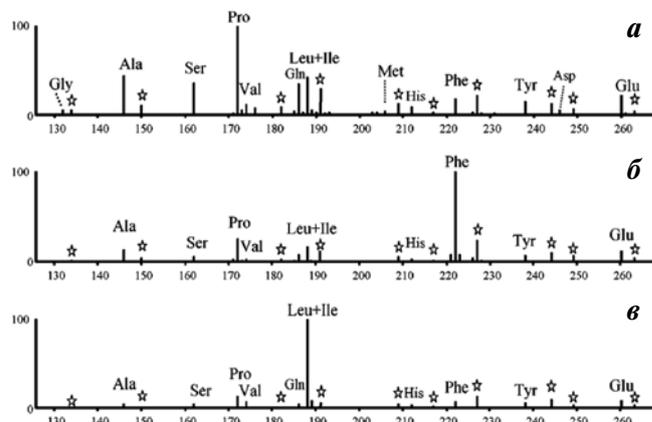


Рис. 2. Схематичный МС/МС-спектр бутиловых эфиров аминокислот образцов крови при сканировании нейтральной потерь (102 а.е.м.): а – контроль; б – фенилкетонурия; в – лейциноз. Звездочками отмечены внутренние стандарты

Fig. 2. Schematic MS/MS spectra of the butyl ether of amino acids of blood samples on scanning of neutral loss (102 a.m.u): а – control; б – phenylketonuria; в – leucinos. The internal standards are marked with asterisks

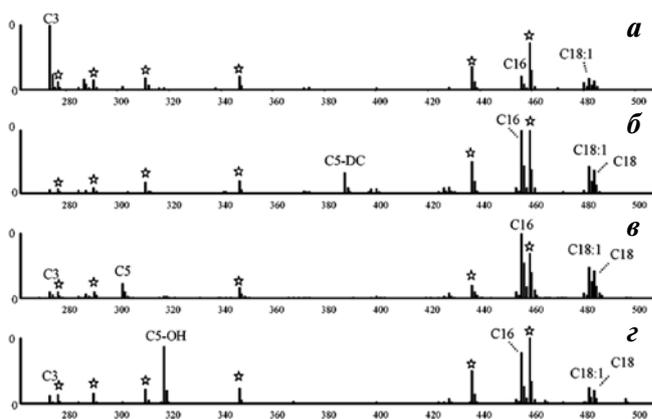


Рис. 3. Схематичный МС/МС-спектр бутиловых эфиров ацилкарнитинов образцов крови при сканировании родительских ионов (85 а.е.м.): а – метилмалоновая ацидемия; б – глутаровая ацидемия 1-го типа; в – изовалериановая ацидемия; г – недостаточность биотинидазы. Звездочками отмечены внутренние стандарты

Fig. 3. Schematic MS/MS spectrum of butyl ether of acylcarnitine of blood samples on scanning of parental ions (85 a.m.u): а – methylmalonic acidemia; б – glutaric acidemia type I; в – isovaleric acidemia; г – biotinidase deficiency. The internal standards are marked with asterisks

Митохондриальное β-окисление жирных кислот (ОЖК) – физиологический ответ на голодание, инфекционный процесс и повышенную мышечную активность. ОЖК – это процесс, при котором происходит последовательное отщепление одной молекулы ацетилкофермента А (ацетил-КоА) от активированных жирных кислот под действием ферментов с различной специфичностью к длине цепи. В печени образовавшиеся в результате β-окисления ацетил-КоА в период голодания направляются в цепь кетогенеза, в результате которого образуются кетоновые тела. Для каждой из стадий процесса ОЖК известны на-

Дифференциально-диагностические подходы подтверждающей диагностики, необходимые при выявлении отклонений при проведении МС/МС-анализа на аминокислоты и ацилкарнитины (начало)

№	Заболевание	Сокращенное название	Диагностика		Подтверждающая диагностика	
			Кровь		Моча	Ген
			Основной метаболит, мкмоль/л	Дополнительные метаболиты (мкмоль/л) и соотношения		
Аминоацидопатии						
1	Фенилкетонурия	ФКУ, PKU	Phe↑	Phe/Tyr↑	Газовая хроматография с масс-спектрометрической детекцией (ГХМС): 4-гидрокси-фениллактат↑, 4-гидроксифенилпируват↑	PAH*
2	Тирозинемия 1-го типа	TYRI	SA↑	Tyr↑	МС/МС: SA↑	FAH*
3	Болезнь с запахом кленового сиропа мочи	Лейциноз, MSUD	Leu/Ile↑	Val↑, Leu/Phe↑, Leu/Ala↑	ГХМС: 2-гидроксиизовалериановая↑, 2-гидроксиизокапроновая↑, 2-гидрокси-3-метилвалериановая↑ кислоты	BCKDHA* BCKDHB*
4	Некетотическая гиперглицинемия	NKH	Gly↑		Повышение соотношения уровня глицина в цереброспинальной жидкости к плазме крови	GLDC* GCST* GCSH
5	Гомоцистинурия/недостаточность цистатионин-β-синтетазы	HCY	Met↑	Met/Phe↑	Качественный тест на наличие гомоцистина, гомоцистеина с нитропруссидом натрия*	CBS*
6	Гомоцистинурия/недостаточность метилентетрагидрофолатредуктазы	HCY	Met↓	Met/Phe↓	Качественный тест на наличие гомоцистина, гомоцистеина с нитропруссидом натрия*	MTHFR*
Заболевания, связанные с нарушением цикла мочевины (Кребса–Гензелейта)						
7	Недостаточность карбамилфосфат-синтазы	CPS I	Cit↓		Не наблюдается патологической экскреции органических кислот с мочой	CPS1*
8	Недостаточность орнитин транскарбамилазы	OTC	Cit↓		ГХМС: оротовая кислота↑, урацил↑	OTC*
9	Аргининянтарная ацидурия/недостаточность аргининосукцинат лиазы	ACA	Cit↑, Arg↑		ГХМС: оротовая кислота↑, аргининянтарная кислота↑	ASL*
10	Недостаточность N-ацетилглютамат-синтазы	NAGS	Cit↓ (не во всех случаях)	Ala↑	Не наблюдается патологической экскреции органических кислот с мочой	NAGS*
11	Недостаточность аргиназы	ARG	Arg↑		ГХМС: оротовая кислота↑	ARG1* ARG2
12	Цитруллинемия 1-го типа	CTLN1	Cit↑	Cit/Arg↑	ГХМС: оротовая кислота↑, урацил↑	ASS*
Органическая ацидурия						
13	Изовалериановая ацидемия/недостаточность изовалерил-КоА-дегидрогеназы	IVA	C5↑	C0↓, C5/C2↑, C5/C0↑, C5/C3↑	ГХМС: 3-гидроксиизовалериановая кислота↑ и изовалерилглицин↑	IVD*
14	Пропионовая ацидемия/недостаточность пропионил-КоА-карбоксилазы	PA	C3↑	C0↓, C3/C2↑, C3/C0↑	ГХМС: 3-гидроксипропионовая кислота↑, метилцитрат↑, пропионилглицин↑	PCCA* PCCB*
15	Метилмалоновая ацидемия	MMA	C3↑	C4DC↑, C3/C2↑, C0↓, C3/C0↑	Качественный тест на присутствие метилмалоновой кислоты*. ГХ МС: метилмалоновая↑, 3-гидроксипропионовая↑ кислоты	MUT* MMAA* MMAB* MMACHC* MMADHC*

Дифференциально-диагностические подходы подтверждающей диагностики, необходимые при выявлении отклонений при проведении МС/МС-анализа на аминокислоты и ацилкарнитины (окончание)

№	Заболевание	Сокращенное название	Диагностика		Подтверждающая диагностика	
			Кровь		Моча	Ген
			Основной метаболит, мкмоль/л	Дополнительные метаболиты (мкмоль/л) и соотношения		
16	Недостаточность биотинидазы	BTD	C5OH↑		ГХМС: 3-гидроксиизовалериановая кислота↑, 3-гидрокси-пропионовая кислота↑, тиглилглицин↑, метилцитрат↑, молочная (лактат) кислота↑, 3-метилкротонилглицин↑	BTD*
17	Глутаровая ацидемия 1-го типа/недостаточность глутарил-КоА-дегидрогеназы 1-го типа	GA1	C5DC↑	C5DC/C16↑	ГХМС: глутаровая↑, 3-ОН-глутаровая↑ кислоты	GCDH*
Нарушения митохондриального ОЖК						
18	Недостаточность короткоцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот	SCAD	C4↑		ГХМС: этилмалоновая кислота↑	ACADS*
19	Недостаточность среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот	MCAD	C8↑, C6↑, C10:1↑	C10↑, C8/C10↑	ГХМС: дикарбоновая ацидемия (адипиновая, субериновая, себациновая, додекан-диолевая кислоты)	ACADM*
20	Недостаточность длинноцепочечной 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот	LCHAD	C16OH↑, C18OH↑, C18:1OH↑	C16:1OH↑, C16OH/C16↑, (C18OH+C18:1OH+C16OH)/C0↑	ГХМС: неспецифичный патологический профиль дикарбоновых и гидроксидикарбоновых кислот C6–C14	HADHA*
21	Недостаточность очень длинноцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот	VLCAD	C14:1↑	C16:1↑, C14↑, C18:1↑, C14:1/C12:1↑, C14:1/C16↑	ГХМС: неспецифичный патологический профиль дикарбоновых и гидроксидикарбоновых кислот C6–C14	ACADVL*
22	Дефицит митохондриального трифункционального белка	TFP	C16OH↑	C14–C18↑	Не наблюдается патологической экскреции органических кислот с мочой	HADHA* HADHB*
23	Множественный дефицит ацил-КоА-дегидрогеназы (глутаровая ацидурия 2-го типа)	GA2	C4↑, C5↑, C6↑, C8↑, C10↑, C12↑, C14↑, C16↑, C18↑	Все соотношения, применяемые к основным маркерам	ГХМС: этилмалоновая↑, глутаровая↑, субериновая↑ кислоты, изовалерилглицин↑	ETFA* ETFB* ETFDH*
24	Системный первичный дефицит карнитина	SPCD	C0↓, тотальное снижение ацилкарнитинов	(C0+C2+C3+C16+C18:1)/Cit↑	Не наблюдается патологической экскреции органических кислот с мочой	SLC22A5*
25	Недостаточность карнитин-пальмитоилтрансферазы 1-го типа	CPT1	C0↑, C16↓, C18:1↓, C18↓	C0/(C16+C18)↑	ГХМС: неспецифическая дикарбоксильная ацидурия	CPT1A* CPT1B* CPT1C
26	Недостаточность карнитин-пальмитоилтрансферазы 2-го типа	CPT2	C0↓, C16↑, C18:1↑, C18↑	C0/(C16+C18)↓	ГХМС: неспецифическая дикарбоксильная ацидурия	CPT2*
27	Недостаточность карнитин/ацилкарнитин-транслоказы	CACT	C0↓, C16↑, C18:1↑, C18↑	C0/(C16+C18)↓	ГХМС: неспецифическая дикарбоксильная ацидурия	SLC25A20*

Примечание. * – анализ проводится в ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» (Москва).

Differential diagnostic approaches of confirmatory diagnostics, necessary for detecting abnormalities when performing MS/MS analysis for amino acids and acylcarnitines (beginning)

№	Disease	Abbreviation	Diagnosis		Confirmation diagnosis	
			Blood		Urine	Gene
			Major metabolit, umol/l	Additional metabolites (umol/l) and equilibration		
Aminoacidopathy						
1	Phenylketonuria	PKU	Phe↑	Phe/Tyr↑	GCMS: 4- hydroxyphenyl lactate ↑, 4-hydroxyphenyl pyruvic↑	PAH*
2	Tyrosinemia, type I	TYR1	SA↑	Tyr↑	MS/MS: SA↑	FAH*
3	Maple syrup urine disease	Leucinosis	Leu/Ile↑	Val↑, Leu/Phe↑, Leu/Ala↑	GCMS: 2-hydroxyisovaleric↑, 2-hydroxyisocaproic↑, 2-hydroxy-3-methylvaleric↑ acids	BCKDHA* BCKDHB*
4	Nonketotic hyperglycinemia	NKH	Gly↑		Increase in the ratio of glycine in the CSF to blood plasma	GLDC* GCST* GCSH
5	Homocystinuria/ cystathionine β-synthase deficiency	HCY	Met↑	Met/Phe↑	A qualitative test for the presence of homocystine, homocysteine with sodium nitroprusside*	CBS*
6	Homocystinuria/ methylenetetrahydrofolate reductase deficiency	HCY	Met↓	Met/Phe↓	A qualitative test for the presence of homocystine, homocysteine with sodium nitroprusside*	MTHFR*
Diseases associated with disruption of the urea cycle (Krebs–Henseleit)						
7	Carbamyl phosphate synthetase I deficiency	CPS I	Cit↓		There is no pathological egestion of organic acids with urine	CPS1*
8	Ornithine transcarbamylase deficiency	OTC	Cit↓		GCMS: orotic acid↑, uracil↑	OTC*
9	Argininosuccinic aciduria/ argininosuccinate lyase deficiency	ACA	Cit↑, Arg↑		GCMS: orotic acid↑ argininosuccinic acid↑	ASL*
10	N-acetylglutamate synthetase deficiency	NAGS	Cit↓ (not in all cases)	Ala↑	There is no pathological egestion of organic acids with urine	NAGS*
11	Arginase deficiency	ARG	Arg↑		GCMS: orotic acid↑	ARG1* ARG2
12	Citrullinemia type I	CTLN1	Cit↑	Cit/Arg↑	GCMS: orotic acid↑, uracil↑	ASS*
Organic aciduria						
13	Isovaleric acidemia/ isovaleric acid CoA dehydrogenase deficiency	IVA	C5↑	C0↓, C5/C2↑, C5/C0↑, C5/C3↑	GCMS: 3-hydroxyisovaleric acid↑ and isovaleryl glycine↑	IVD*
14	Propionic acidemia/ propionyl-CoA carboxylase deficiency	PA	C3↑	C0↓, C3/C2↑, C3/C0↑	GCMS: 3-hydroxypropionic acid↑, methyl citrate↑, propionylglycine↑	PCCA* PCCB*
15	Methylmalonic acidemia	MMA	C3↑	C4DC↑, C3/C2↑, C0↓, C3/C0↑	Qualitative test for the presence of methylmalonic acid*. GCMS: methylmalonic↑, 3-hydroxypropionic acid↑	MUT* MMAA* MMAB* MMACHC* MMADHC*

Differential diagnostic approaches of confirmatory diagnostics, necessary for detecting abnormalities when performing MS/MS analysis for amino acids and acylcarnitines (end)

№	Disease	Abbreviation	Diagnosis		Confirmation diagnosis	
			Blood		Urine	Gene
			Major metabolit, umol/l	Additional metabolites (umol/l) and equilibration		
16	Biotinidase deficiency	BTD	C5OH↑		GCMS: hydroxyisovaleric acid↑, 3-hydroxypropionic acid↑, tiglylglycine↑, methyl citrate↑, lactic acid↑, 3-methylcrotonylglycine↑	BTD*
17	Glutar acidemia type I/glutaryl-CoA-dehydrogenase deficiency	GA1	C5DC↑	C5DC/C16↑	GCMS: glutaric↑, 3-OH-glutaric↑ acids	GCDH*
Disorders of mitochondrial oxidation of fatty acid						
18	Short chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency of fatty acids	SCAD	C4↑		GCMS: ethylmalonic acid↑	ACADS*
19	Medium chain acyl-CoA-dehydrogenase deficiency of fatty acids	MCAD	C8↑, C6↑, C10:1↑	C10↑, C8/C10↑	GCMS: dicarboxylic acidemia (adipic, suberinic, sebacic, dodecanedioic acids)	ACADM*
20	Long-chain 3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (LCHAD) deficiency of fatty acids	LCHAD	C16OH↑, C18OH↑, C18:1OH↑	C16:1OH↑, C16OH/C16↑, (C18OH+C18:1OH+C16OH)/C0↑	GCMS: nonspecific pathological profile of dicarboxylic and hydroxydicarboxylic acids C6–C14	HADHA*
21	Very long-chain acyl-CoA-dehydrogenase deficiency of fatty acids	VLCAD	C14:1↑	C16:1↑, C14↑, C18:1↑, C14:1/C12:1↑, C14:1/C16↑	There is no pathological egestion of organic acids with urine	ACADVL*
22	Mitochondrial trifunctional protein deficiency	TFP	C16OH↑	C14–C18↑	All ratios applied to the major markers	HADHA* HADHB*
23	Multiple acyl-CoA-dehydrogenase deficiency (glutar aciduria II)	GA2	C4↑, C5↑, C6↑, C8↑, C10↑, C12↑, C14↑, C16↑, C18↑	All ratios applied to the major markers	GCMS: ethylmalonic↑, glutaric↑, suberine↑ acids, isovaleryl glycine↑	ETFA* ETFB* ETFDH*
24	Systemic primary carnitine deficiency	SPCD	C0↓, total reduction of acylcarnitines	(C0+C2+C3+C16+C18:1)/Cit↑	There is no pathological egestion of organic acids with urine	SLC22A5*
25	Carnitine palmitoyltransferase I deficiency	CPT1	C0↑, C16↓, C18:1↓, C18↓	C0/(C16+C18)↑	GCMS: nonspecific dicarboxylic aciduria	CPT1A* CPT1B* CPT1C
26	Carnitine palmitoyltransferase II deficiency	CPT2	C0↓, C16↑, C18:1↑, C18↑	C0/(C16+C18)↓	GCMS: nonspecific dicarboxylic aciduria	CPT2*
27	Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency	CACT	C0↓, C16↑, C18:1↑, C18↑	C0/(C16+C18)↓	GCMS: nonspecific dicarboxylic aciduria	SLC25A20*

Note. * – analysis is carried out in Research Centre for Medical Genetics (Moscow).

следственные нарушения [20–22]. По результатам МС/МС наблюдается повышение уровня специфических ацилкарнитинов (см. таблицу; рис. 4).

Однако следует помнить, что концентрации ацилкарнитинов могут повышаться при приеме некоторых лекарственных препаратов и искусственных молочных смесей [23].

При некоторых НБО концентрации специфических метаболитов могут повышаться незначительно и/или только в моменты метаболического криза, поэтому для повышения эффективности МС/МС применяется не только определение концентраций метаболитов, но и диагностически значимые соотношения. Так, например, при недостаточности митохондриального трифункционального белка на фоне снижения свободного карнитина концентрации 3-гидрокси-пальмитоилкарнитина (C16OH), 3-гидрокси-стеарилкарнитина (C18OH) и 3-гидрокси-олеилкарнитина (C18:1OH) могут быть в норме, в то время как соотношения (C18OH+C18:1OH+C16OH)/C0 и C16OH/C16 всегда будут повышены. Для диагностики фенилкетонурии важным является определение соотношения фенилаланин/тирозин, что позволяет уменьшить число ложноположительных результатов [24].

Практически все заболевания, выявляемые методом МС/МС, требуют проведения довольно разнообразных дополнительных тестов подтверждающей диагностики. Для диагностики органических ацидурий и аминокислотопатий прежде всего это газовая хроматография, масс-спектрометрия и высокоэффективная жидкостная хроматография [25, 26]. Для подтверждения нарушений митохондриального β-окисления требуется проведение ДНК-диагностики.

Лизосомные болезни накопления

ЛБН – обширный класс НБО, обусловленных мутациями структурных генов, контролирующих процесс внутрилизосомного гидролиза таких макромолекул клетки, как гликозаминогликаны, липиды, гликопротеины. Главным биохимическим признаком этих болезней является накопление субстратов в клетке вследствие снижения активности определенных ферментов лизосом. В последние годы МС/МС все чаще применяются для определения накапливаемых субстратов и активности ферментов для этой группы заболеваний.

С помощью МС/МС можно количественно определять гликозаминогликаны – характерные метаболиты, накапливаемые при мукополисахаридозах [27]. Для болезни Помпе (гликогеноз 2-го типа) биомаркером является специфический тетрасахарид глюкозы в моче ([Glc4 (Glcα1–6Glcα1–4Glcα1–4Glc)]). Несмотря на высокую чувствительность этого биомаркера, он не является высокоспецифичным, поскольку его концентрация повышается и при других гликогенозах [28].

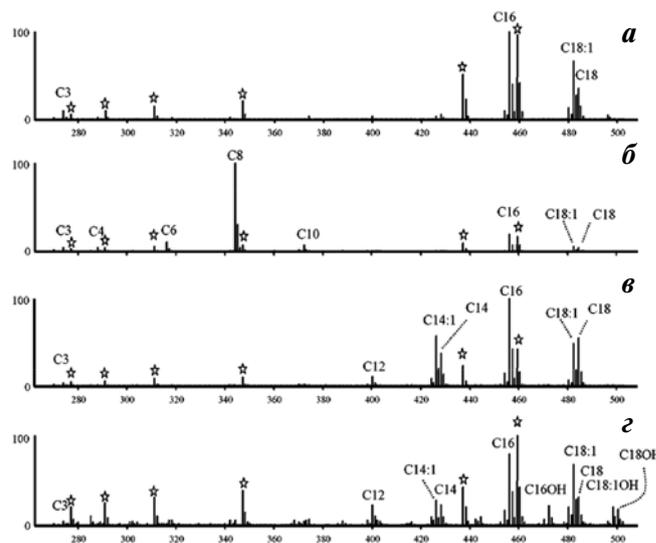


Рис. 4. Схематичный МС/МС-спектр бутиловых эфиров ацилкарнитинов образцов крови при сканировании родительских ионов (85 а.е.м.): а – контроль; б – недостаточность среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот; в – недостаточность очень длинноцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот; з – недостаточность длинноцепочечной 3-гидрокси-ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот. Звездочками отмечены внутренние стандарты

Fig. 4. Schematic MS/MS spectrum of butyl ether of acylcarnitine of blood samples on scanning of parental ions (85 a.m.u): а – control; б – medium-chain acyl-CoA-dehydrogenase deficiency of aliphatic acid; в – very long-chain acyl-CoA-dehydrogenase deficiency of aliphatic acid; з – long-chain 3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase deficiency of aliphatic acid. The internal standards are marked with asterisks

Показано, что в тканях пациентов со многими сфинголипидозами наблюдается накопление лизосфинголипидов (производных сфинголипидов, содержащих свободную аминогруппу), играющих различную патофизиологическую роль. В последние годы, благодаря развитию МС/МС, стало возможным их определение в различных биологических жидкостях и практически для каждого заболевания из группы сфинголипидозов описан уникальный лизосфинголипид в качестве биомаркера для диагностики и контроля лечения. Так, при болезни Фабри повышается лизоглоботриаозилсфингозин (lysoGb3), при болезни Гоше – гликозилсфингозин (GlcSph или lysoGL1), при болезни Краббе – галактозилсфингозин (психозин или GalSph), лизосфингомиелин (LysoSM) – при болезни Ниманна–Пика тип А/В и LysoSM-509 – при болезни Ниманна–Пика тип С. Определение этих биомаркеров возможно и в пятнах высушенной крови, что повышает эффективность и качество диагностики и позволяет проводить мониторинг лечения этих ЛБН [29–31].

С 2000-х годов появилась еще одна область применения метода МС/МС – определение активности ферментов в пятнах высушенной крови путем измерения концентрации продуктов реакции после инкубации образца со специфическим для ферментов субстра-

том [3]. Это дало возможность проводить селективный и массовый скрининг ЛБН, для которых существуют методы патогенетического лечения. На сегодняшний день разработана и уже коммерчески доступна тест-система для одновременного определения активности 6 лизосомных ферментов (для диагностики болезней Краббе, Помпе, Фабри, Гоше, Ниманна—Пика тип А/В и мукополисахаридоза I типа). Тест является высокоспецифичным для каждого конкретного заболевания, поскольку применяются субстраты, близкие по своему строению к натуральным. Проходит апробацию новая тест-система для выявления других ЛБН (мукополисахаридозов типов II, III, VI, IVA, VII, нейронального цероидного липофусциноза 2-го типа) и в ближайшие годы ожидается ее появление [32], а в перспективе следует ожидать создания тест-систем для диагностики и многих других ЛБН.

Роль тандемной масс-спектрометрии в диагностике других наследственных болезней обмена веществ

С помощью МС/МС можно выявлять огромное число различных метаболитов. Созданы методы для выявления аномальных метаболитов желчных кислот, что необходимо для диагностики нарушений метаболизма холестерина и липидов, синтеза первичных желчных кислот, а также при дефектах биогенеза пероксисом [33–35]. При различных холестатических гепатобилиарных нарушениях с помощью МС/МС можно определять концентрации конъюгированных желчных кислот в различных биологических жидкостях.

Исследования по количественной оценке лизофосфатидилхолина в высушенных пятнах крови для

диагностики пероксисомных нарушений показывают высокую чувствительность данного маркера для его применения и в неонатальном скрининге при дефектах биогенеза пероксисом [36].

Метод МС/МС также позволяет количественно определять от 17 до 24 пуринов и пиримидинов в моче в одном анализе, что позволяет проводить диагностику нарушений обмена пуринов и пиримидинов [37].

Заключение

Роль МС/МС в диагностике НБО в последние годы значительно возросла и данный метод повсеместно применяется в массовом и селективном скрининге для диагностики аминокислотопатий, органических ацидурий, нарушений митохондриального β-окисления. Также разработаны методы диагностики нарушений обмена пуринов и пиримидинов, пероксисомных заболеваний, определения активности ферментов лизосом и многие другие. Безусловно, что в ближайшее время следует ожидать появления новых перспективных методов для диагностики не только отдельных нозологических форм, но и целых групп НБО.

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Спонсор исследования — Медицинская компания INVITRO.

Sponsor of the research — Medical company INVITRO.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Schulze A., Lindner M., Kohlmüller D. et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111(6 Pt 1):1399–406. PMID: 12777559.
- Garg U., Dasouki M. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: clinical and laboratory aspects. *Clin Biochem* 2006;39(4):315–32. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2005.12.009.
- Gelb M.H., Turecek F., Scott C.R., Chamoles N.A. Direct multiplex assay of enzymes in dried blood spots by tandem mass spectrometry for the newborn screening of lysosomal storage disorders. *J Inher Metab Dis* 2006;29(2–3):397–404. doi: 10.1007/s10545-006-0265-4.
- Wilcken B., Wiley V., Hammond J., Carpenter K. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348(23):2304–12. doi: 10.1056/NEJMoa025225.
- Yu C.L., Gu X.F. Newborn screening of inherited metabolic disease by tandem mass spectrometry. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2006;38(1):103–6. PMID: 16415979.
- Dooley K.C. Tandem mass spectrometry in the clinical chemistry laboratory. *Clin Biochem* 2003;36(6):471–81. PMID: 12951172.
- Griffiths W.J. Tandem mass spectrometry in the study of fatty acids, bile acids, and steroids. *Mass Spectrom Rev* 2003;22(2):81–152. doi: 10.1002/mas.10046.
- Carpenter K.H., Wiley V. Application of tandem mass spectrometry to biochemical genetics and newborn screening. *Clin Chim Acta* 2002;322(1–2):1–10. PMID: 12104075.
- Green A., Pollitt R.J. Population newborn screening for inherited metabolic disease: current UK perspectives. *J Inher Metab Dis* 1999;22(4):572–9. PMID: 10407789.
- la Marca G., Malvagia S., Pasquini E. et al. Rapid 2nd-tier test for measurement of 3-OH-propionic and methylmalonic acids on dried blood spots: reducing the false-positive rate for propionylcarnitine during expanded newborn screening by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2007;53(7):1364–9. doi: 10.1373/clinchem.2007.087775.
- Janzen N., Terhardt M., Sander S. et al. Towards newborn screening for ornithine transcarbamylase deficiency: fast non-chromatographic orotic acid quantification from dried blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2014;430:28–32. doi: 10.1016/j.cca.2013.12.020.
- Zytovicz T.H., Fitzgerald E.F., Marsden D. et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two year summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin Chem* 2001;47(11):1945–55. PMID: 11673361.

13. Allard P., Grenier A., Korson M.S., Zytkovicz T.H. Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia by tandem mass spectrometry: analysis of succinylacetone extracted from dried blood spots. *Clin Biochem* 2004;37(11):1010–5. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2004.07.006.
14. Chace D.H., Hillman S.L., Millington D.S. et al. Rapid diagnosis of homocystinuria and other hypermethioninemias from newborns' blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1996;42(3):349–55. PMID: 8598094.
15. Chace D.H., Hillman S.L., Millington D.S. et al. Rapid diagnosis of maple syrup urine disease in blood spots from newborns by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1995;41(1):62–8. PMID: 7813082.
16. Smith W.E., Millington D.S., Koeberl D.D., Lesser P.S. Glutaric acidemia, type I, missed by newborn screening in an infant with dystonia following promethazine administration. *Pediatrics* 2001;107(5):1184–7. PMID: 11331707.
17. Chace D.H., DiPerna J.C., Kalas T.A. et al. Rapid diagnosis of methylmalonic and propionic acidemias: quantitative tandem mass spectrometric analysis of propionylcarnitine in filter-paper blood specimens obtained from newborns. *Clin Chem* 2001;47(11):2040–4. PMID: 11673377.
18. Kuhara T., Matsumoto I. Studies on the urinary acidic metabolites from three patients with methylmalonic aciduria. *Biomed Mass Spectrom* 1980;7(10):424–8. PMID: 6111361.
19. Wang H., Wang X., Li Y. et al. Screening for inherited metabolic diseases using gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) in Sichuan, China. *Biomed Chromatogr* 2017;31(4). doi: 10.1002/bmc.3847.
20. Van Hove J.L., Zhang W., Kahler S.G. et al. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency: diagnosis by acylcarnitine analysis in blood. *Am J Hum Genet* 1993;52(5):958–66. PMID: 8488845. PMID: PMC1682046.
21. Koeberl D.D., Young S.P., Gregersen N. et al. Rare disorders of metabolism with elevated butyryl- and isobutyryl-carnitine detected by tandem mass spectroscopy newborn screening. *Pediatr Res* 2003;54(2):219–23. doi: 10.1203/01.PDR.0000074972.36356.89.
22. Matern D., Strauss A.W., Hillman S.L. et al. Diagnosis of mitochondrial trifunctional protein deficiency in a blood spot from the newborn screening card by tandem mass spectrometry and DNA analysis. *Pediatr Res* 1999;46(1):45–9. PMID: 10400133.
23. Abdenur J.E., Chamoles N.A., Guinle A.E. et al. Diagnosis of isovaleric acidemia by tandem mass spectrometry: false positive result due to pivaloylcarnitine in a newborn screening programme. *J Inher Metab Dis* 1998;21(6):624–30. PMID: 9762597.
24. Chace D.H., Sherwin J.E., Hillman S.L. et al. Use of phenylalanine-to-tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry to improve newborn screening for phenylketonuria of early discharge specimens collected in the first 24 hours. *Clin Chem* 1998;44(12):2405–9. PMID: 9836704.
25. Hampe M.H., Panaskar S.N., Yadav A.A., Ingale P.W. Gas chromatography/mass spectrometry-based urine metabolome study in children for inborn errors of metabolism: An Indian experience. *Clin Biochem* 2017;50(3):121–6. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.10.015.
26. Chen H., Yu C. Urinary Succinylacetone Analysis by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). *Methods Mol Biol* 2016;1378:281–90. doi: 10.1007/978-1-4939-3182-8_30.
27. Kubaski F., Mason R.W., Nakatomi A. et al. Newborn screening for mucopolysaccharidoses: a pilot study of measurement of glycosaminoglycans by tandem mass spectrometry. *J Inher Metab Dis* 2017;40(1):151–8. doi: 10.1007/s10545-016-9981-6.
28. Sluiter W., van den Bosch J.C., Goudriaan D.A. et al. Rapid ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for a characteristic glyco-gen-derived tetrasaccharide in Pompe disease and other glycogen storage diseases. *Clin Chem* 2012;58(7):1139–47. doi: 10.1373/clinchem.2011.178319.
29. Dekker N., van Dussen L., Hollak C.E. et al. Elevated plasma glucosylsphingosine in Gaucher disease: relation to phenotype, storage cell markers, and therapeutic response. *Blood* 2011;118(16):e118–27. doi: 10.1182/blood-2011-05-352971.
30. Togawa T., Kodama T., Suzuki T. et al. Plasma globotriaosylsphingosine as a biomarker of Fabry disease. *Mol Genet Metab* 2010;100(3):257–61. doi: 10.1016/j.ymgme.2010.03.020.
31. Polo G., Burlina A.P., Kolamunnage T.B. et al. Diagnosis of sphingolipidoses: a new simultaneous measurement of lysosphingolipids by LC-MS/MS. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55(3):403–14. doi: 10.1515/cclm-2016-0340.
32. Liu Y., Yi F., Kumar A.B. et al. Multiplex Tandem Mass Spectrometry Enzymatic Activity Assay for Newborn Screening of the Mucopolysaccharidoses and Type 2 Neuronal Ceroid Lipofuscinosis. *Clin Chem* 2017;63(6):1118–26. doi: 10.1373/clinchem.2016.269167.
33. Gan-Schreier H., Okun J.G., Kohlmüller D. et al. Measurement of bile acid CoA esters by high-performance liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS). *J Mass Spectrom* 2005;40(7):882–9. doi: 10.1002/jms.864.
34. John C., Werner P., Worthmann A. et al. A liquid chromatography-tandem mass spectrometry-based method for the simultaneous determination of hydroxy sterols and bile acids. *J Chromatogr A* 2014;1371:184–95. doi: 10.1016/j.chroma.2014.10.064.
35. Bootsma A.H., Overmars H., van Rooij A. et al. Rapid analysis of conjugated bile acids in plasma using electrospray tandem mass spectrometry: application for selective screening of peroxisomal disorders. *J Inher Metab Dis* 1999;22(3):307–10. PMID: 10384393.
36. Wu C., Iwamoto T., Igarashi J. et al. Application of a diagnostic methodology by quantification of 26:0 lysophosphatidylcholine in dried blood spots for Japanese newborn screening of X-linked adrenoleukodystrophy. *Mol Genet Metab Rep* 2017;12:115–8. doi: 10.1016/j.ymgmr.2017.06.004.
37. Hartmann S., Okun J.G., Schmidt C. et al. Comprehensive detection of disorders of purine and pyrimidine metabolism by HPLC with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2006;52(6):1127–37. doi: 10.1373/clinchem.2005.058842.

Статья поступила в редакцию: 20.03.2018. Принята в печать: 10.08.2018.
Article was received by the editorial staff: 20.03.2018. Accepted for publication: 10.08.2018.

Международная конференция специалистов, занимающихся изучением и лечением пациентов с нейробластомой, – взгляд Общественной организации родителей детей с нейробластомой*

An International conference of experts involved in the study and treatment of patients with neuroblastoma – a view of the Public Organization of Parents of Children with Neuroblastoma*

9–12 мая в Сан-Франциско (США) состоялась Международная конференция специалистов, занимающихся изучением и лечением пациентов с нейробластомой (НБ), – Advances in Neuroblastoma Research (ANR). Мероприятие является главным событием в этой области. Традиционно в рамках данной конференции проводится и родительская сессия, на которую со всего мира приезжают родительские организации и обычные семьи, которые столкнулись с НБ у своих детей. От России в мероприятии принимали участие представители Общественной организации родителей детей с НБ «ЭНБИ» – М.Н. Голева и А.В. Захарова.

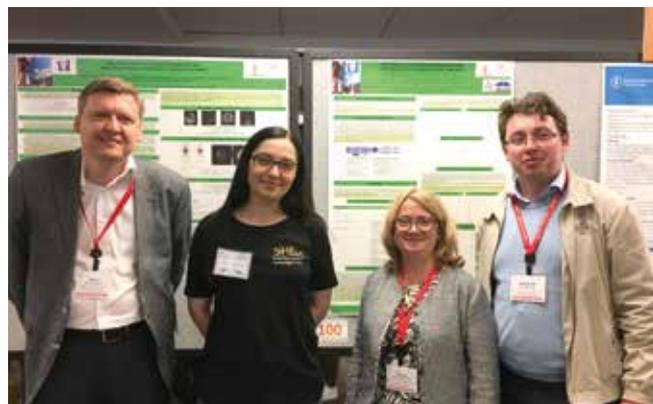
Организатором сессии родительских организаций с принимающей стороны стал фонд Children's Neuroblastoma Cancer Foundation (CNCF), который работает в США с 2000 г. Программа родительской сессии была насыщенной и включала выступления известных ученых, которые работают в области изучения НБ. Участникам сессии были представлены данные о новых клинических испытаниях, текущих подходах к лечению НБ, перспективах иммунотерапии и многом другом.

Отдельным аспектом сессии стали программа для выживших детей и отдельная сессия для родителей, дети которых умерли в борьбе с НБ.

Одной из задач ANR была демонстрация примеров успешного сотрудничества родителей и врачей. Например, в консорциуме NANT (New Approaches to Neuroblastoma Therapy) есть Консультативный совет родителей, а объем привлеченных за время своего существования средств фонда CNCF превышает 2,5 млн долларов. Это финансирование конкретных исследовательских программ по лечению НБ вне государственного бюджета (даже в США государство не может полностью покрывать исследования в об-

ласти детской онкологии). Многолетний опыт работы ведущих родительских организаций по НБ в США и Европе показывает, что их вклад – это не только поднятие боевого духа семей, которые столкнулись с длительным изнуряющим лечением, но и, в первую очередь, защита прав пациентов, привлечение внимания общества к проблемам в данной области и способ усиления научных исследований путем улучшения их финансирования.

Мы видим перспективы развития такого сотрудничества и у нас в России. Уже состоялись 2 встречи родителей и врачей, которые были организованы совместно со специалистами НОДГО и НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в 2017 г. Мы очень надеемся на укрепление и расширение нашего взаимодействия в будущем.



Со специалистами НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева на постерной сессии (слева направо: Д.Ю. Качанов, А.В. Захарова, Т.В. Шаманская, А.Е. Друй)

With the specialists of Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology at the poster session (from left to right: D.Yu. Kachanov, A.V. Zakharova, T.V. Shamanskaya, A.E. Druy)

* Информацией о конференции с нашим журналом любезно поделилась А.В. Захарова – представитель Общественной организации родителей детей с нейробластомой «ЭНБИ».

* Information about the conference with our journal was kindly shared by A.V. Zakharova is a representative of the Public Organization of Parents of Children with Neuroblastoma "ENBI".

Метрономная терапия по схеме винорелбин/циклофосфамид значительно улучшает показатели общей выживаемости у пациентов с рабдомиосаркомой группы высокого риска, стратифицированных по протоколу RMS-2005

Авторы: Т.В. Сергеева, Д.Ю. Качанов, С.Р. Варфоломеева

1–5 июня 2018 г. в Чикаго (США) состоялось пленарное заседание Американского общества клинической онкологии (American Society of Clinical Oncology, ASCO), на котором профессором Университетской больницы Падуи (Италия), председателем Европейской группы по изучению сарком мягких тканей у детей (European Paediatric Soft Tissue Sarcoma Study Group – EpSSG) G. Bisogno были представлены результаты анализа эффективности метрономной терапии по схеме винорелбин/циклофосфамид у пациентов с рабдомиосаркомой (РМС) группы высокого риска*.

G. Bisogno в своем докладе показал, что в рандомизированном клиническом исследовании III фазы добавление метрономной терапии, проводящейся 6 мес и включающей пероральный прием низких доз циклофосфамида и внутривенное введение винорелбина после индукционной химиотерапии (ИХТ) по протоколу RMS-2005, увеличило 5-летнюю общую выживаемость пациентов с РМС группы высокого риска с 73,7 до 86,5 %.

В это исследование были включены больные с гистологически верифицированным диагнозом РМС группы высокого риска в возрасте до 21 года, без отдаленных метастазов, получавшие лечение по протоколу RMS-2005 EpSSG и достигшие полного ответа на момент окончания ИХТ. В группу высокого риска стратифицированы пациенты с неблагоприятной локализацией первичной опухоли, неблагоприятным гистологическим типом (альвеолярная РМС), метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов.

У 90 % больных РМС группы высокого риска на момент окончания ИХТ отсутствуют признаки остаточной опухоли. Общая выживаемость пациентов данной группы с полным ответом составляет 73,7 %. Однако у 30–40 % больных отмечается развитие рецидива в течение первого года динамического наблюдения.

Авторы исследования пытались определить, улучшает ли метрономная терапия показатели выживаемости в данной группе.

В исследовании, согласно презентации G. Bisogno, зарегистрированы 670 пациентов в возрасте от 6 месяцев до 21 года с локализованной формой альвеолярной РМС или нерезектабельной эмбриональной РМС

с неблагоприятной локализацией с/без поражения регионарных лимфатических узлов, получавших стандартную комплексную или комбинированную терапию по протоколу RMS-2005 (9 курсов полихимиотерапии препаратами ифосфамид, винкристин, актиномицин D с/без доксорубина, операция, лучевая терапия).

На 2 группы был рандомизирован 371 пациент (79 % из которых были в возрасте до 10 лет) с РМС группы высокого риска без рентгенологических признаков остаточной опухоли после окончания ИХТ.

Для 1-й группы лечение было прекращено, больные оставлены под динамическим наблюдением.

Пациенты 2-й группы в течение 6 мес получали метрономную терапию с включением низких доз циклофосфамида и винорелбина. Циклофосфамид в дозе 25 мг/м²/сут больные принимали перорально непрерывно с 1-го по 28-й дни, винорелбин вводился внутривенно в 1-й, 8-й и 15-й дни каждого курса в дозе 25 мг/м².

При анализе токсичности метрономной терапии отмечены снижение показателей крови, в основном лейкоцитарного роста. Развитие инфекционных осложнений наблюдалось значительно реже, чем в процессе ИХТ. Согласно презентации, отмечалось развитие инфекционных осложнений III степени.

Не наблюдалось проявлений гепато-, нефро-, кардиотоксичности. Однако продолжается сбор данных для оценки поздних эффектов проведенного лечения.

Пятилетняя бессобытийная выживаемость пациентов без метрономной терапии и больных ее получавших составила 68,8 % и 77,6 % соответственно ($p = 0,06$).

Пятилетняя общая выживаемость пациентов без метрономной терапии и больных ее получавших составила 73,7 % и 86,5 % соответственно ($p = 0,01$).

Таким образом, G. Bisogno и соавторы в своем докладе показали возможность повышения общей выживаемости на 10 % у пациентов с РМС группы высокого риска, достигших полного ответа по окончании ИХТ путем применения метрономной терапии по схеме винорелбин/циклофосфамид.

Проведение данного вида лечения впервые за 30 лет позволило улучшить показатели общей выживаемости пациентов с РМС группы высокого риска.

* Bisogno G., De Salvo G.L., Bergeron C. et al. Maintenance low-dose chemotherapy in patients with high-risk (HR) rhabdomyosarcoma (RMS): a report from the European Paediatric Soft Tissue Sarcoma Study Group (EpSSG). Late breaking abstract presentation at: 2018 ASCO Annual Meeting; June 1–5, 2018; Chicago, IL.

Трехростковая цитопения у ребенка с врожденной кавернозной трансформацией воротной вены

М.Е. Лохматова, И.О. Тайшихина

ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России;
Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

Контактные данные: Марина Евгеньевна Лохматова lokhmatova@rambler.ru

В статье представлен случай наблюдения за пациентом в возрасте 1 года 9 месяцев с изолированной тромбоцитопенией, с падением тромбоцитов до 98 тыс/мкл, прогрессирующей в течение 1 года до трехростковой цитопении, явившейся следствием врожденной кавернозной трансформации воротной вены. Обсуждается дифференциальная диагностика цитопении у детей раннего возраста, которая является сложной клинической задачей. Дифференциальная диагностика может сопровождаться ошибками при постановке диагноза и, соответственно, выборе терапии. Настороженность клиницистов в отношении только гематологической патологии может привести к заблуждению. Отсутствие клинических проявлений и умеренные отклонения в гемограмме (гемоглобин – 98 г/л, эритроциты – $4,64 \times 10^{12}/л$, тромбоциты – $98 \times 10^9/л$, лейкоциты – $5,0 \times 10^9/л$, абсолютное число нейтрофилов – $0,79 \times 10^9/л$) затрудняли диагностический поиск в данном случае.

Ключевые слова: цитопения, тромбоцитопения, гипертрофия селезенки, внепеченочная портальная гипертензия

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-108-114

Three-stage cytopenia in a child with congenital cavernous transformation of the portal vein

M.E. Lokhmatova, I.O. Taishikhina

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia;
1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia

The article represents a case of observation the patient aged 1 year 9 months with an isolated thrombocytopenia with a drop in platelets to 98 thousand/ μL , that had been progressed during 1 year to three-stage cytopenia, which was the result of a congenital cavernous transformation of the portal vein. The differential diagnosis of young children's cytopenia is a complex clinical task, which can be followed by errors in the diagnosis and, accordingly, the choice of therapy. The care of clinicians regarding only hematological pathology can lead to the confusion. The absence of clinical manifestations and moderate deviations in the hemogram (Hb – 98 g/l, RBC – $4.64 \times 10^{12}/l$, PLT – $98 \times 10^9/l$, WBC – $5.0 \times 10^9/l$, GR – $0.79 \times 10^9/l$) made the diagnostic search rather difficult in this case.

Key words: cytopenia, thrombocytopenia, hypersplenism, extrahepatic portal hypertension

Введение

Цитопения – это уменьшение количества клеточных элементов крови в любом из ростков [1]. Клинико-лабораторными критериями цитопении являются: показатель гемоглобина (Hb) < 110 г/л, число тромбоцитов (PLT) < $100 \times 10^9/л$, общее число лейкоцитов (WBC) < $3,5 \times 10^9/л$ (абсолютное количество нейтрофилов (АКН) < $1,5 \times 10^9/л$ для детей старше 1 года) [1, 2]. Изолированная цитопения может прогрессировать до двухростковой цитопении и панцитопении, наиболее часто сочетаются тромбоцитопения и анемия (77,5 %), реже – анемия и лейкопения (17,3 %), тромбоцитопения и лейкопения (5,5 %) [3].

Для демонстрации сложности дифференциальной диагностики цитопении у детей раннего возраста мы приводим следующий клинический случай.

Описание клинического случая

Пациент наблюдается в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева) с возраста 1 год 9 месяцев с панцитопенией. Инфекционный анамнез: острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) до 6 раз в год. Профилактические прививки проведены в соответствии с национальным календарем. Впервые снижение PLT до $70 \times 10^9/л$ у ребенка выявлено в возрасте 1 года 3 месяцев при контрольном обследовании.

Также обнаружена микроцитарная анемия (Hb – 98 г/л, эритроциты (RBC) – $4,64 \times 10^{12}/л$, средний объем эритроцитов (MCV) – 77 фл, эритроцитарный индекс – 315 г/дл, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах – 24,2 пг) (табл. 1). PLT автоматическим методом – $98 \times 10^9/л$, по Фонио – $324,8 \times 10^9/л$. Такой разброс

Таблица 1. Результаты клинических анализов крови пациента в динамике

Table 1. Results of clinical blood analysis of patient's in dynamics

Дата Date	WBC, × 10 ⁹ /л	RBC, × 10 ¹² /л	Hb, г/л g/l	PLT, × 10 ⁹ /л	АКН, × 10 ⁹ /л ACN	СОЭ, % ESR	АЛТ, Ед/л ALT, U/L	АСТ, Ед/л AST, U/L	ОБ, г/л TP, g/	БО, мк- моль/л TB, umol/l	НБ, мк- моль/л IB, umol/l	ЩФ, МЕ/л ALP, IU/l
В дебюте заболевания In the onset of disease	5,0	4,64	98	98	0,79	15	24	53	57	8,1	6,5	365
При обращении в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева (течение аденоидита) When contacting the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (adenoiditis course)	3,0	3,8	117	98	0,7	21	40	61	53	7,9	6,0	
Течение ОРВИ Course of ARVI	1,5	4,21	115	37	0,5	8	51	87	56	7,1	5,6	
На фоне здоровья Against the background of health	3,08	4,02	110	129	1,45	12	53	66	54	7,8	5,9	
Первый день после операции The first day after surgery	11,4	4,55	120	107	8,65	7	2244	1251	51	35,6	17,7	
Через неделю после операции A week after surgery	4,11	3,51	111	83	2,25	21	292	61	58	14,7	8,8	
Через год после операции A year after the surgery	4,45	3,82	124	207	1,9	10	47	56	56	9	6,7	391

Примечание. СОЭ – скорость оседания эритроцитов; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспаратаминотрансфераза; ОБ – общий белок; БО – общий билирубин; НБ – непрямой билирубин; ЩФ – щелочная фосфатаза.

Note. WBC – leukocytes; RBC – erythrocytes; Hb – hemoglobin; PLT – platelets; ACN – absolute neutrophil count; ESR – erythrocyte sedimentation rate; ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartate aminotransferase; TP – total protein; TB – total bilirubin; IB – indirect bilirubin; ALP – alkaline phosphatase; ARVI – acute respiratory viral infection.

показателей связан либо с агрегацией, либо с увеличением размеров тромбоцитов, в результате чего гематологический анализатор принимает их за RBC. На момент исследования значения данному явлению не придали.

Выявлены незначительные нарушения обмена железа: сывороточное железо – 10,0 ммоль/л, трансферрин – 302 мг/дл, ферритин – 28 мкг/л, ненасыщенная железосвязывающая способность сыворотки – 66 %, насыщение трансферрина железом – 13 %. Ребенок получал лечение препаратами железа в возрастной дозировке. Контрольное исследование обмена железа через 3,5 мес от начала терапии отклонений не выявило.

При осмотре в консультативном отделении НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева селезенка пальпировалась на 2 см ниже края реберной дуги. По остальным органам и системам – без патологии. На фоне острой инфекции (ОРВИ, аденоидит с фебрильной лихорадкой) наблюдалась прогрессия цитопении (см. табл. 1). Повторный анализ обмена железа без патологии. Сывороточные иммуноглобулины, исследованные для исключения аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома (ALPS), в норме. В целях дифференциальной диагностики с аплазией кроветворения и онкогематологической патологией проведено исследование костного мозга (КМ): пунктат умеренно клеточный, содержит капли нейтрального

жира, элементы стромы в значительном количестве, макрофаги, единичные из которых с морфологическими признаками гемофагоцитоза (по 5–8 ферментативно измененных гранулоцитов, тромбоцитов, нормобластов). Встречаются разрушенные гранулоциты, ядра мегакариоцитов. Эритропоэз по нормобластическому типу. Мегакариоцитарный росток раздражен, дисплазирован, мегакариоциты до 28–45 в препарате, большая часть без морфологических признаков «отшнуровки» тромбоцитов, единичные – со слабо выраженной «отшнуровкой».

Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости: правая доля печени – 93 мм, левая – 46 мм, увеличена, умеренный перипортальный фиброз. Желчный пузырь обычной формы и размеров с несколько утолщенной стенкой. Умеренный фиброз ложа желчного пузыря. Ствол воротной вены визуализируется на коротком протяжении от места слияния верхней брыжеечной и воротной вен, скорость кровотока на данном фрагменте – 14–17 см/с, достоверно правая и левая ветви воротной вены не определяются. Печеночные вены – 4 мм, кровотоки фазный. Холедох не изменен. Селезенка – 120 × 41 мм, увеличена, без изменения структуры. Селезеночная вена не расширена. Определяются множественные спленоретроперитонеальные коллатерали



Рис. 1. Кавернозная трансформация основного ствола воротной вены по данным УЗИ

Fig. 1. Cavernous transformation of the main trunk of the portal vein according to ultrasound



Рис. 2. Кавернозная трансформация основного ствола воротной вены по данным доплерографии

Fig. 2. Cavernous transformation of the main trunk of the portal vein according to Doppler

в виде множественных извитых сосудов диаметром до 3 мм (рис. 1, 2). Объемных образований в брюшной полости и забрюшинном пространстве не обнаружено.

Мультиспиральная компьютерная томография брюшной полости: картина спленомегалии, порока развития системы воротной вены, признаки портальной гипертензии – множественные венозные коллатерали в воротах селезенки и ретроперитонеально.

Таким образом, данных за иммунологическую и гематологическую патологию не получено. Цитопения была связана с развитием гиперспленизма на фоне портальной гипертензии, причиной которой явилась врожденная кавернозная трансформация воротной вены.

В дальнейшем ребенку проведено оперативное вмешательство в виде формирования спленоренального анастомоза по типу «бок в бок». Результаты выполненных после операции анализов крови приведены в табл. 1. Увеличение показателей печеночных проб в раннем послеоперационном периоде можно объяснить травмированием ткани печени при проведении ревизии ветви воротной вены. В динамике эти показатели нормализовались. В настоящее время синтетическая функция печени не страдает. Ребенок выписан домой с положительной динамикой.

Через год после операции отмечается улучшение показателей гемограммы на фоне уменьшения размеров селезенки (по данным УЗИ ее размеры сократились до 114 × 36 мм).

Таким образом, в ходе разбора данного клинического случая мы столкнулись с трудностями диагностики цитопений у детей раннего возраста из-за многообразия вызывающих их причин.

Обсуждение

При двух-/трехростковой цитопении необходима дифференциальная диагностика со многими гема-

тологических и негематологических патологиями [11]. Пример алгоритма действий при выявлении у ребенка панцитопении представлен на рис. 3. В первую очередь следует подумать о возможной аплазии кроветворения (табл. 2). Прогрессирующая панцитопения в сочетании с врожденными аномалиями и типичной картиной КМ характерна для анемии Фанкони. При врожденном дискератозе отмечается классическая триада симптомов (чаще всего в возрасте 6–8 лет): пигментация кожи, дистрофия ногтей, лейкоплакия слизистых оболочек. Приобретенная апластическая анемия также приводит к панцитопении. В постановке диагноза помогают миелограмма и трепанобиопсия [1, 4, 5]. Тромбоцитопения с умеренной анемией и лейкопенией могут сопровождать солидные опухоли и лимфомы. Диагноз позволяет установить гистологическое исследование образования и морфологическое исследование КМ [5]. Для мегалобластной анемии характерны поражения нервной системы, желудочно-кишечного тракта. Диагностика – исследование содержания витамина В₁₂ и фолиевой кислоты в сыворотке крови [2]. При онкогематологических заболеваниях лабораторно выявляется сниженное количество RBC, PLT и гранулоцитов. Количество WBC варибельно. Для установления диагноза и уточнения формы проводят пункцию КМ, цитогенетический анализ и иммунофенотипирование [1, 4, 5].

При ALPS, в основе которого лежит нарушение процесса апоптоза лимфоцитов, выявляется лимфоцитоз с появлением атипичных лимфоцитов в сочетании с гемолитической анемией (у 50 % пациентов), нейтропенией, тромбоцитопенией, повышением иммуноглобулинов. В КМ компенсаторно увеличивается количество клеток миелоцитарного, эритроидного, мегакариоцитарного ряда. Клинически – уве-

Панцитопения



Pancytopenia

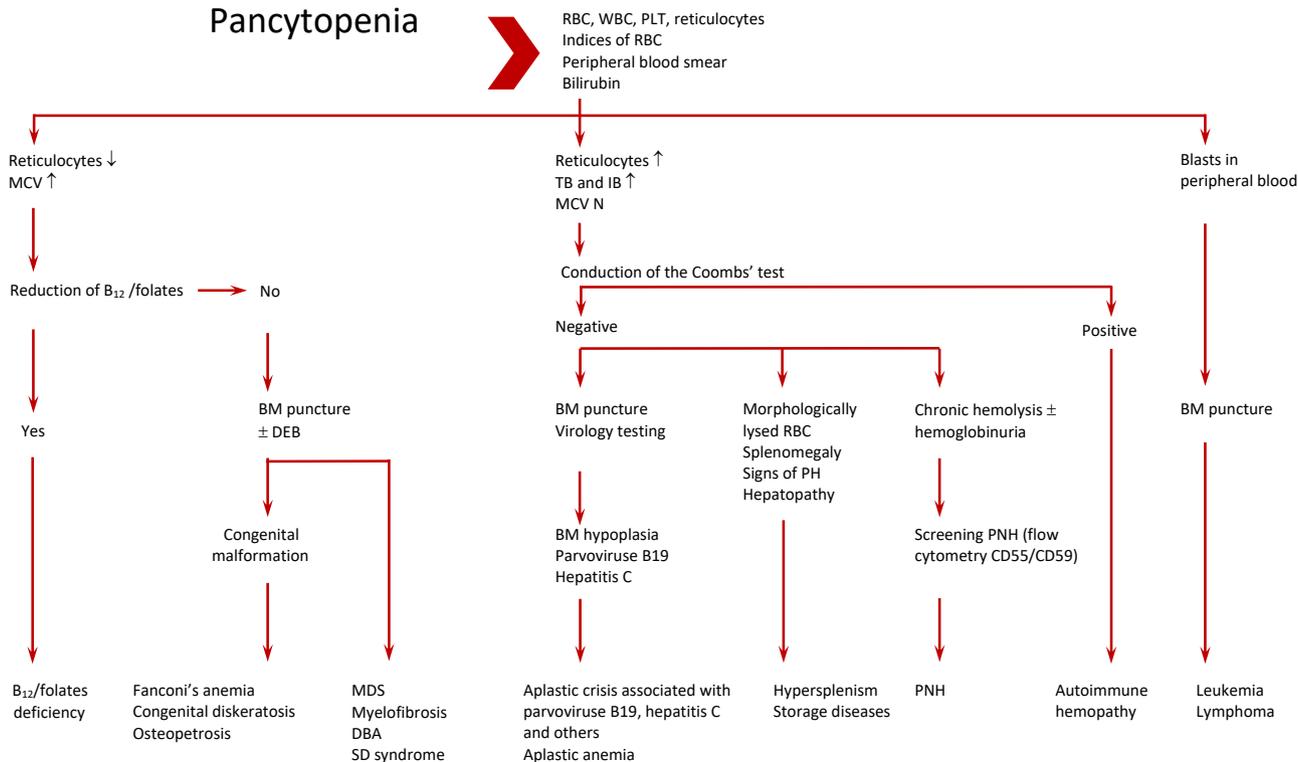


Рис. 3. Пример диагностического поиска при выявлении у ребенка панцитопении

Fig. 3. An example of a diagnostic search for the detection of pancytopenia in a child

Примечание. ДЭБ – тест с диэпоксибутаном; ПГ – портальная гипертензия; МДС – миелодиспластический синдром; анемия ДБ – анемия Даймонда–Блекфена; синдром ШД – синдром Швахмана–Даймонда, ПНГ – пароксизмальная ночная гемоглинурия.

Note. MCV – mean corpuscular volume; BM puncture – bone marrow puncture; DEB – test with diepoxybutane; PH – portal hypertension; MDS – myelodysplastic syndrome; DBA – Diamond–Blackfan anemia; SD syndrome – Shwachman–Diamond syndrome, PNH – paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.

Таблица 2. Дифференциальная диагностика двух-/трехростковых цитопений (начало)

Table 2. Differential diagnosis of two/three-stage cytopenia (beginning)

Диагноз <i>Diagnosis</i>	Гемограмма <i>Hemogram</i>	Миелограмма <i>Myelogram</i>	Трепанобиопсия <i>Trepanobiopsy</i>	Особенности клинической картины <i>Specialties of the clinical picture</i>
Врожденная апластическая анемия <i>Congenital aplastic anemia</i>	Анемия нормоцитарная, гипо-, арегенераторная, снижение количества PLT, гранулоцитов <i>Normocytic anemia, hypo-, aregenerative, PLT and granulocyte count decreased</i>	Дисмегакариопоз, дисгранулоцитопоз, дизэритропоз <i>Dysmegakaryopoiesis, dysgranulopoiesis, dyserythropoiesis</i>	Сниженная клеточность КМ <i>Reduced cellularity of the BM</i>	Множественные врожденные аномалии, пороки развития скелета, деформации больших пальцев рук, микрофтальмия, микроцефалия, низкий рост, ретикулярная гиперпигментация, дистрофия ногтей, лейкоплакия слизистых оболочек рта <i>Multiple congenital anomalies, skeletal abnormalities, deformities of the thumbs, microphthalmia, microcephaly, short stature, reticular hyperpigmentation, onychodystrophy, leukokeratosis of the mucous membranes of the mouth</i>
Приобретенная апластическая анемия <i>Acquired aplastic anemia</i>	Нормохромная нормоцитарная, иногда макроцитарная анемия <i>Normochromic normocytic anemia, sometimes macrocytic anemia</i>	Угнетение клеток эритроидного ряда с/без угнетения предшественников миелоидного и мегакариоцитарного ростков кроветворения <i>Inhibition of the erythroid cells with or without inhibition of the precursors of myeloid and megakaryocytic hematopoietic lineage</i>	Не информативна <i>Not informative</i>	Симптомы, обусловленные анемией, лейкопенией, тромбоцитопенией <i>Symptoms caused by anemia, leukopenia, thrombocytopenia</i>
Мегалобластная анемия <i>Megaloblastic anemia</i>	Макроцитарная арегенераторная анемия, обычно гиперхромная, анизо- и пойкилоцитоз, снижение числа и изменение формы PLT, гиперсегментация нейтрофилов <i>Macrocytic aregenerative anemia, mostly hyperchromic, aniso- and poikilocytosis, decrease in the number and change in the form of PLT, hypersegmentation of neutrophils</i>	Эритроидная гиперплазия с мегалобластными изменениями. Признаки неэффективного эритропоза. Задержка созревания гранулоцитов, полисегментация нейтрофилов. Количество мегакариоцитов нормальное или снижено, «отшнуровка» PLT снижена <i>Erythroid hyperplasia with megaloblastic changes. Signs of ineffective erythropoiesis. Delay in ripening granulocytes, neutrophil polysegmentation. The number of megakaryocytes is normal or decreased, PLT release is reduced</i>	Не информативна <i>Not informative</i>	Анорексия, глоссит, «лакированный» язык, снижение желудочной секреции. У детей раннего возраста – отставание в росте, гипотрофия, раздражительность, хроническая диарея, склонность к инфекциям. Поражение периферической нервной системы: атаксия, парестезия, гипорефлексия <i>Anorexia, glossitis, bald tongue, reduced gastric secretion. In young children – growth retardation, malnutrition, irritability, inveterate diarrhoeal disease, prone to infection. The defeat of the peripheral nervous system: ataxia, paresthesia, hyporeflexia</i>
Острые лейкозы <i>Acute leukemia</i>	Нормохромная нормоцитарная анемия, тромбоцитопения. Количество WBC вариабельно. Бластемия <i>Normochromic normocytic anemia, thrombocytopenia. Variable amount of WBC. Blastemia</i>	Бластных клеток более 25% с «обрывом» созревания гранулоцитов. Вариабельное количество миело-, мегакариоцитов, предшественников эритроидного ряда в КМ <i>There are more than 25% of the blast cells with a "breakage" maturation of granulocytes. Variable amount of myelo-, megakaryocytes, precursors of erythroid cells of the BM</i>	Повышенное содержание бластных клеток в препарате, их гнездное расположение <i>The elevated level of the blasts cells in the medication and its nested attitude</i>	Увеличение лимфатических узлов, гепатоспленомегалия характерны для острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ); расширение тени средостения за счет увеличения вилочковой железы – для Т-ОЛЛ; гипертрофия тканей десен часто встречается у детей с острым миелобластным лейкозом. Признаки не являются строго стабильными <i>Hyperadenosis, hepatosplenomegaly are typical for ALL; mediastinal widening by increasing the thymus gland – for T-ALL; hypertrophy of gum tissues is common in children with AML. The symptoms are not strictly stable</i>

Таблица 2. Дифференциальная диагностика двух-/трехростковых цитопений (окончание)

Table 2. Differential diagnosis of two/three-stage cytopenia (end)

Диагноз <i>Diagnosis</i>	Гемограмма <i>Hemogram</i>	Миелограмма <i>Myelogram</i>	Трепанобиопсия <i>Trepanobiopsy</i>	Особенности клинической картины <i>Specialties of the clinical picture</i>
Злокачественные лимфомы <i>Malignant lymphoma</i>	Нейтрофильный лейкоцитоз. Повышение СОЭ. При поражении КМ — анемия, тромбоцитопения, бластоз в периферической крови <i>Neutrophilic leukocytosis. Elevation of the ESR. Over the marrow failure — anemia, thrombocytopenia, blastosis in peripheral blood</i>	Изменения отмечаются при поражении КМ. Оценивается замещение нормальных ростков. Необходимо гистологическое исследование пораженного лимфатического узла <i>Changes are noted in the defeat of the BM. The substitution of normal lineages is estimated. Histological examination of the affected lymph node is necessary</i>	Не информативна <i>Not informative</i>	Клиническая картина разнообразна. Характер проявлений зависит от вида опухоли и распространенности процесса <i>The clinical picture is various. The nature of the manifestations depends on the type of growth and the prevalence rate of the process</i>
ALPS	Лимфоцитоз с появлением атипичных форм. Редко — лимфоцитопения. Анемия гиперрегенераторная, повышение лактатдегидрогеназы, нейтропения, тромбоцитопения <i>Lymphocytosis with the advent of atypical forms. Rare — lymphocytopenia. Anemia with high reticulocyte count, rise of lactate dehydrogenase, neutropenia, thrombocytopenia</i>	Количество миелокарицитов повышенное или нормальное, повышено содержание клеток эритроидного ряда, мегакарицитов, плазматических клеток и эозинофилов <i>The number of myelokaryocytes is increased or normal, elevated level of the erythroid cells, megakaryocyte, plasma cells and eosinophiles</i>	Не информативна <i>Not informative</i>	В первые годы жизни незлокачественная лимфаденопатия, увеличение селезенки. Клиника вариабельна <i>In the first years of life there is non-malignant lymphadenopathy, an increase in the spleen. The clinic is variable</i>
Гиперспленизм <i>Hypersplenism</i>	Анемия нормо- или макроцитарная, лейкопения, тромбоцитопения <i>Normocytic anemia or macrocytic anemia, leukopenia, thrombocytopenia</i>	Гиперплазия КМ с преобладанием незрелых предшественников RBC и PLT <i>BM hyperplasia with predominance of immature precursors of RBC and PLT</i>	Не информативна <i>Not informative</i>	Чувство тяжести в левом подреберье, при пальпации — болезненность, плотность и увеличение селезенки <i>Feeling of heaviness in the left hypochondrium, with palpation — tenderness, density and enlargement of the spleen</i>

личение шейных лимфатических узлов и селезенки, гиперспленизм, результатом которого и является панцитопения [4, 6, 7].

Синдром гиперспленизма также может сопровождать заболевания негематологического профиля, такие как неопластические процессы, амилоидоз, туберкулез и др. Чаще всего (в 57 % случаев) гиперспленизм у детей возникает вследствие внепеченочной ПГ, причиной которой в 77–85 % случаев является обструкция портальной вены (ее тромбоз и кавернозная трансформация) [8, 9]. Грозным осложнением длительно существующей внепеченочной ПГ является варикозное расширение вен пищевода (80–90 % случаев), а также прогрессирующий фиброз печени (13–24 %) с нарушением ее синтетической функции. Выявляются коагулологические наруше-

ния в виде удлинения протромбинового времени, снижения фибриногена и агрегации PLT. Повышаются уровни ЩФ и гамма-глутамилтранспептидазы на фоне развития портальной билиопатии. Клинически выявляется увеличение плотности и размеров селезенки. Лабораторно — прогрессирует панцитопения: анемия, чаще нормоцитарная или макроцитарная; лейкопения; и в первую очередь тромбоцитопения (чаще субклиническая, но может быть и глубокой — до 20 тыс/мкл) вследствие хронической умеренной коагулопатии потребления, а также из-за синдрома гиперспленизма [9, 10]. PLT усиленно секвестрируются в селезенке, что в результате их способности удалять тромбопоэтин из кровеносного русла дополнительно способствует развитию тромбоцитопении [11].

Заключение

В представленном клиническом случае выявленная цитопения у ребенка явилась следствием болезни негематологического профиля, что напоминает нам о важности широкого клинического взгляда. Настороженность клиницистов, выявивших нарушения гемограммы, в отношении узкой гематологической направленности может привести к заблуждению и неправильным выводам и, как следствие, — к неправильной тактике лечения.

Конфликт интересов/Conflict of interest

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

The study was performed without external funding.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Naseem S., Varma N., Das R. et al. Pediatric patients with bicytopenia/ pancytopenia: Review of etiologies and clinico-hematological profile at a tertiary center. *Indian J Pathol Microbiol* 2011;54(1):75–80. doi: 10.4103/0377-4929.77329.
2. Румянцев А.Г., Масчан А.А., Жуковская Е.В. и др. Детская гематология. Сборник клинических рекомендаций. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 656 с. [Rumyantsev A.G., Maschan A.A., Zhukovskaya E.V. et al. *Pediatric Hematology. Collection of clinical guidelines*. М.: GEOTAR-Media, 2015. 656 p. (In Russ.)].
3. van den Hurk K., Veenstra J., Hendriks H.A. Trombocytopenie. *Ned Tijd Geneeskde*, 2016. 160 с.
4. Алексеев Н.А. Гематология и иммунология детского возраста. СПб.: Гиппократ, 2009. 1040 с. [Alekseev N.A. *Hematology and immunology of childhood*. СПб.: Gippokrat, 2009. 1040 p. (In Russ.)].
5. Erlacher M., Strahm B. Missing Cells: Pathophysiology, Diagnosis, and Management of (Pan)Cytopenia in Childhood. *Front Pediatr* 2015;3:64. doi: 10.3389/fped.2015.00064.
6. Dale D.C., Bolyard A.A. An update on the diagnosis and treatment of chronic idiopathic neutropenia. *Curr Opin Hematol* 2017;24(1):46–53. doi: 10.1097/MOH.0000000000000305.
7. Farruggia P., Dufour C. Diagnosis and management of primary autoimmune neutropenia in children: insights for clinicians. *Ther Adv Hematol* 2015;6(1):15–24. doi: 10.1177/2040620714556642.
8. Сухов М.Н., Дроздов А.В., Щурова О.А. Особенности внепеченочной портальной гипертензии у детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями. *Детская хирургия* 2010;(6):32–6. [Sukhov M.N., Drozdov A.V., Shchurova O.A. Features of extrahepatic portal hypertension in children with oncological and hematological diseases. *Detskaya khirurgiya = Pediatric surgery* 2010;(6):32–6. (In Russ.)].
9. Khanna R., Sarin S.K. Non-cirrhotic portal hypertension — diagnosis and management. *J Hepatol* 2014;60(2):421–41. doi: 10.1016/j.jhep.2013.08.013.
10. Abramowsky C., Romero R., Heffron T. Pathology of noncirrhotic portal hypertension: clinicopathologic study in pediatric patients. *Pediatr Dev Pathol* 2003;6(5):421–6. doi: 10.1007/s10024-003-1002-8.
11. Sills R.H., Albany N.Y. Practical algorithms in pediatric hematology and oncology. Copyright 2003 by S. Karger AG, P.O. Box, CH–4009 Basel (Switzerland). Режим доступа: [Электронный ресурс]. URL: <https://ru.scribd.com/document/64320481/Practical-Algorithms-in-Pediatric-Hematology-and-Oncology>.

Статья поступила в редакцию: 30.03.2018. Принята в печать: 15.06.2018.

Article was received by the editorial staff: 30.03.2018. Accepted for publication: 15.06.2018.

ОТ РЕДАКЦИИ



В рубрике «Те, кто сильнее нас» мы продолжаем публикацию рекомендаций для детей, излеченных от злокачественных новообразований (переводимых согласно тандемному договору с Исследовательским госпиталем Святого Иуды (США) и по специальному разрешению авторов). В этом номере речь пойдет о поздних эффектах со стороны сердечно-сосудистой системы. Ведущая раздела по публикации данных рекомендаций – ученый секретарь Института управления и трансляционной медицины НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева к.м.н. **Гузель Маратовна Муфтахова**. Экспертами выступают ведущие специалисты Центра по конкретным направлениям.



Эксперт в области сердечно-сосудистых заболеваний **Наталья Алексеевна Рыбалко** – врач-кардиолог консультативного отделения НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, в 2007 г. с отличием окончила ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России по специальности «педиатрия». Основным научным направлением работы Натальи Алексеевны является ведение детей с врожденной патологией сердечно-сосудистой системы, нарушением ритма сердца, синкопальными состояниями, артериальной гипертензией, кардиомиопатией, спортивным сердцем; она выполняет анализ электрокардиограммы, холтеровского мониторирования, суточного мониторирования артериального давления, пульсоксиметрии, функциональных кардиологических проб.

Н.А. Рыбалко является автором ряда научных публикаций в российских изданиях. Наталья Алексеевна имеет первую квалификационную категорию по педиатрии, сертификат по специальности «детская кардиология и функциональная диагностика».

«Пациенты, получавшие противоопухолевое лечение в детском и подростковом возрасте, находятся в группе риска развития отдаленных последствий терапии, в том числе со стороны сердечно-сосудистой системы. Информирование родителей больного и врачей первичной амбулаторной помощи имеет первостепенное значение для раннего выявления отдаленных осложнений противоопухолевой терапии и своевременного их лечения. В статье приведены рекомендации для мониторинга отдаленных осложнений терапии со стороны сердца и профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы».

Поздние эффекты противоопухолевой терапии со стороны сердечно-сосудистой системы (отсроченное влияние противоопухолевой терапии на органы сердечно-сосудистой системы)*

Авторы перевода: Г.М. Муфтахова, Н.А. Рыбалко

Контактные данные: Гузель Маратовна Муфтахова guzel.muftakhova@fnkc.ru

Данная работа посвящена анализу проблем, связанных с состоянием сердечно-сосудистой системы (ССС), у пациентов, переживших злокачественное новообразование в детском возрасте. Рассмотрены основные заболевания и патологические состояния, которые могут развиваться в данной популяции. Описаны риски развития патологических изменений со стороны СССР, лечение и профилактика. Отдельно проанализировано воздействие различных видов противоопухолевой терапии на СССР. Даны рекомендации по определению групп риска, физической нагрузке и рекомендуемым действиям.

Ключевые слова: сердечно-сосудистая система, дети, злокачественное новообразование, сердце, профилактика

Late effects of antitumor treatment from cardiovascular system (delayed influence of antitumor treatment on the organs of the cardiovascular system)*

The authors of the translation: G.M. Muftakhova, N.A. Rybalko

This work is devoted to the analysis of problems associated with the state of the cardiovascular system (CVS) in patients who have experienced a malignant tumor in childhood. The main diseases and pathosis that can develop in this population have been considered. Risks of the development of abnormal changes on the side of the CVS, treatment and prevention have been described. The impact of various types of antitumor therapy on the CVS has been analyzed separately. Advices provided on the definition of risk groups, physical activity and recommended actions are given.

Key words: cardiovascular system, children, malignant neoplasm, heart, prevention

Поддержание здоровья сердца после лечения рака в детском возрасте

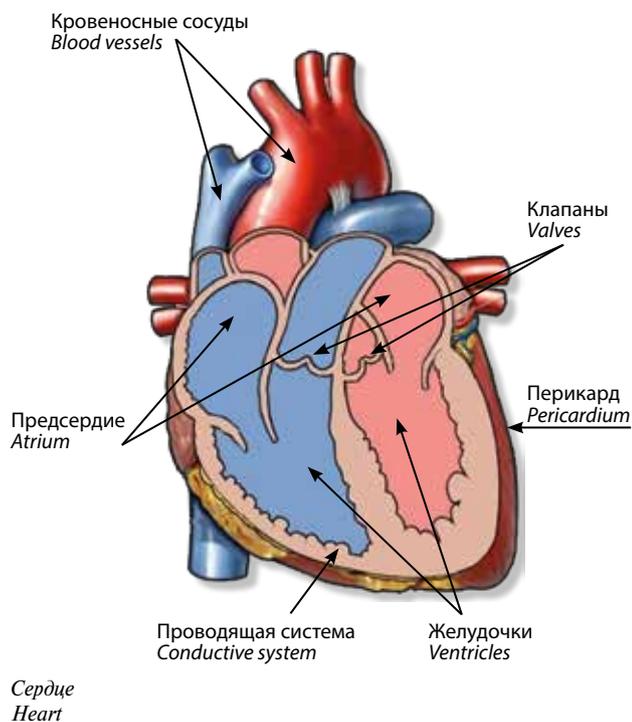
У большинства детей, излеченных от злокачественного новообразования (ЗНО), не развиваются проблемы с сердцем. Однако некоторые виды противораковой терапии, которые назначаются в детском возрасте, иногда могут приводить к патологии сердца. Так как проблемы с сердцем могут развиваться спустя много лет после лечения ЗНО, очень важно знать, какой именно вид терапии получал ребенок, и мог ли он повлиять на нормальную работу сердца. Таким образом, пациенты, излеченные от ЗНО, должны посещать регулярные медицинские осмотры и обследования, направленные на контроль работы сердца. Ведь в случае развития осложнений они должны быть диагностированы как можно раньше.

Как работает сердце?

Сердце – мышечный орган, который является центральным звеном системы кровообращения (рисунки). Оно выполняет насосную функцию, отвечая за доставку крови с кислородом и питательными

веществами в ткани и органы. Сердце человека состоит из 4 камер (2 предсердия и 2 желудочка), которые, работая согласованно, обеспечивают продвижение крови в сосуды, а оттуда ко всем органам и тканям организма. Клапаны направляют поток крови через сердечные камеры в кровеносные сосуды. Ритмичные сокращения сердца возникают благодаря существованию особых клеток, способных генерировать электрический импульс и далее проводить его по специальным волокнам, обеспечивая сокращения сердца. Скопления этих клеток и волокон, по которым проводятся электрические импульсы, образуют проводящую систему сердца. Сначала импульсы возникают в самом верхнем, расположенном в правом предсердии, так называемом **синусовом узле**, далее проходят вниз ко второму – **атриовентрикулярному узлу**, а от него по волокнам к мышцам правого и левого желудочков, вызывая их сокращение. Частота сердечных сокращений координируется нервной системой организма. Тонкая оболочка (перикард) окружает и защищает сердце, которое располагается в грудной клетке.

* Источник: <http://www.survivorshipguidelines.org/>. Перевод осуществлялся согласно тандемному договору с Детским исследовательским госпиталем Святого Иуды (США) и по специальному разрешению авторов.



Сердце
Heart

Какие виды противораковой терапии могут вызвать проблемы с сердцем?

Повреждающее действие на сердце могут оказывать некоторые виды химиотерапии (ХТ) и лучевая терапия (ЛТ).

Антрациклины

Антрациклины — это вид химиотерапевтических препаратов, используемых для лечения многих видов ЗНО у детей. Иногда этот вид ХТ может повреждать сердце. Наиболее часто используемыми антрациклинами являются:

- доксорубицин (адриамицин);
- даунорубицин/дауномицин (церубидин);
- идарубицин (идамицин);
- митоксантрон (новантрон);
- эпирубицин.

Лучевая терапия

Проблемы с сердцем могут возникнуть и при проведении ЛТ на область сердца и окружающие ткани. Например, при облучении таких областей, как:

- грудная клетка (включая мантийную область, средостение и аксиллярные поля облучения);
- спинной мозг (грудь или грудной отдел);
- область брюшной полости;
- тотальное облучение всего организма.

Какие проблемы с сердцем могут возникнуть после лечения злокачественных новообразований в детском возрасте?

• Мышечные клетки сердца повреждены, в связи с чем сердце нормально не сокращается и не рассла-

бляется (*дисфункция левого желудочка, кардиомиопатия*).

• Проводящие пути, по которым проводятся электрические импульсы, могут быть повреждены, что приводит к ненормально быстрому, медленному или нерегулярному сердечному ритму (*аритмия*).

• Клапаны и кровеносные сосуды сердца могут быть повреждены, в результате чего возникает сужение отверстия клапана и/или протекание клапана (*клапанный стеноз и/или недостаточность клапана*).

• Защитная оболочка сердца (перикард) может воспалиться (*перикардит*) и/или рубцеваться (*перикардиальный фиброз*).

• Кровеносные сосуды сердца могут рубцеваться или закупориваться (*ишемическая болезнь сердца*), препятствуя доставке кислорода и питательных веществ к сердцу и другим тканям.

В тяжелых случаях эти проблемы могут привести к смерти сердечной ткани (инфаркту миокарда), жизнеугрожающим нарушениям ритма сердца или неспособности сердца эффективно качать кровь (застойная сердечная недостаточность).

Какой вид противораковой терапии ассоциирован с теми или иными проблемами с сердцем?

• *Антрациклины* могут вызывать проблемы с нормальным функционированием сердечной мышцы (дисфункция левого желудочка, кардиомиопатия), приводить к нарушениям сердечного ритма (аритмия).

• *ЛТ* может вызвать рубцевание и повреждение сердечных тканей. Как следствие, могут развиваться: нарушения ритма сердца (аритмия), проблемы с сердечной мышцей (кардиомиопатия), клапанами сердца (клапанный стеноз и/или недостаточность клапана), кровеносными сосудами (ишемическая болезнь сердца), защитной оболочкой сердца (перикардит или перикардиальный фиброз).

Есть ли другие факторы риска развития проблем со стороны сердца?

Существуют несколько состояний, которые повышают риск развития проблем с сердцем после проведения ХТ или ЛТ. Они включают ожирение, высокое артериальное давление, высокий уровень холестерина или триглицеридов в крови, диабет. У вас может быть более высокий риск развития проблем с сердцем, если эти заболевания есть у членов вашей семьи. Заболевания сердца наиболее часто встречаются у женщин в менопаузе, таким образом, излеченные пациентки женского пола, у которых рано наступила менопауза, находятся в группе высокого риска. Неправильный образ жизни также может повысить риск развития сердечных заболеваний. Избегайте курения, неактивного (сидячего) образа жизни и употребления продуктов с высоким содержанием жиров.

Кто находится в группе риска по развитию проблем с сердцем?

Риск развития проблем с сердцем после перенесенного противоракового лечения в детстве связан со многими факторами:

- возраст на момент проведения противораковой терапии;
- общая доза антрациклиновых препаратов;
- общая доза облучения грудной клетки;
- количество сердечной ткани, включенной в поле ЛТ;
- лечение другими препаратами, которые влияют на работу сердца;
- наличие других заболеваний, которые влияют на работу сердца.

У большинства излеченных от ЗНО пациентов, которые получали лечение антрациклинами или ЛТ на область грудной клетки, не возникает повреждений сердца. У некоторых больных есть небольшие изменения размера и функции сердца, которые остаются стабильными с течением времени. Только у небольшого числа пациентов развиваются серьезные проблемы с сердцем, которые приводят к сердечной недостаточности или опасным нарушениям сердечного ритма. В целом риск развития патологии сердца после проведенной противораковой терапии в детстве выше у пациентов, которые лечились большими дозами антрациклинов или получали ЛТ на область грудной клетки, но особенно у тех, кто получал оба вида лечения в раннем возрасте.

Так как мы точно не знаем, почему у одних излеченных от ЗНО пациентов развивается патология сердца после перенесенной противораковой терапии в детстве, а у других — нет (даже если они получали одинаковую терапию), то важно, чтобы каждый больной, который получал терапию антрациклинами или ЛТ на область грудной клетки, проходил регулярные медицинские осмотры. И в случае развития проблем с сердцем необходимо их диагностировать как можно раньше и вовремя начать лечение.

Каковы основные симптомы патологии со стороны сердца?

• При легкой или умеренной степени нарушения функции сердца может не быть никаких симптомов. Выявление патологических изменений со стороны сердца возможно только при проведении обследования, включающего ЭХО-кардиографию (Эхо-КГ), электрокардиографию (ЭКГ) и радионуклидную ангиокардиографию (MUGA), которая выполняется только при наличии определенных показаний к этому виду обследования.

- Одышка.
- Головокружение.
- Предобморочное состояние или обморок.
- Сильная усталость, препятствующая выполнению физических нагрузок или нормальному образу жизни.

• Боль в груди, которая ощущается как тяжелое давление или распирающее, иррадирует в руку, подбородок или лицо, иногда может отмечаться тошнота или одышка при боли в груди.

• Острая колющая боль в центре или левой стороне грудной клетки (часто ухудшается при глубоком вдохе).

• Очень опухшие ноги или лодыжки (настолько опухшие, что если плотно прижать палец и подержать несколько секунд, он оставляет углубление).

• Кашель и шумное дыхание, которые долго не проходят.

• Периоды учащенного сердцебиения.

• Периоды нерегулярного сердцебиения.

Как физическая нагрузка влияет на сердце?

Занятия аэробикой (энергичная ходьба, бег) в целом являются безопасными и полезными для сердца. Однако некоторые виды упражнений особенно тяжелы для сердца. К таким упражнениям относятся тяжелая изометрическая физическая активность, например тяжелая атлетика и борьба. Когда человек приседает на корточки, чтобы поднять большой вес, то сердце должно работать усерднее, так как кровяное давление увеличивается, как только он напрягается. Используя меньший вес для выполнения ограниченного количества повторений поднятия веса (многokrратно поднимая более легкий вес), можно обезопасить сердце. Количество повторений должно быть сведено к такому количеству, которое можно сделать легко.

Выздоровевшие пациенты, которые получали лечение антрациклинами или ЛТ на область грудной клетки, должны проконсультироваться со своим лечащим врачом перед началом любых физических занятий. Интенсивные изометрические упражнения должны быть исключены. Те, кто решил заняться интенсивными упражнениями или командными видами спорта, должны проконсультироваться с кардиологом и обсудить оптимальный план тренировок и систему мониторинга за сердечно-сосудистой системой.

Какие другие состояния и вещества могут усугубить патологию со стороны сердца?

Сердце, поврежденное антрациклинами или ЛТ, может не справиться со стрессовыми состояниями, которые сопровождаются увеличением частоты сердечных сокращений, повышением артериального давления или увеличением объема циркулирующей крови. Эти изменения могут возникнуть во время беременности или при болезни с высокой температурой. Если ваша противораковая терапия включала препараты, влияющие на работу сердца, убедитесь, что ваш лечащий врач осведомлен об этом, чтобы можно было предпринять меры, уменьшающие нагрузку на сердце. Некоторые препараты увеличивают нагрузку на сердце, например такие, как кокаин, диетические таблетки, эфедра (диетическая добавка, также известная как

ma huang) и стимуляторы (допинг). Эти виды веществ могут значимо ухудшить работу сердца, и даже привести к смерти пациентов, излеченных от ЗНО, которые получали ХТ антрациклинами.

Существуют ли специальные меры предосторожности?

Выздоровевшие пациенты, у которых есть нарушения работы сердечных клапанов (негерметичный или рубцово-измененный клапан), или те, у кого в настоящее время наблюдается реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), могут нуждаться в приеме антибиотиков перед стоматологическими вмешательствами или инвазивными медицинскими процедурами (например, с вовлечением респираторного, желудочно-кишечного или мочеполового трактов). Они находятся в группе риска развития серьезного инфекционного поражения сердца (эндокардита), которое может возникнуть в результате поступления бактерий в кровотоки в момент проведения процедур. Если у вас имеются повреждения сердечных клапанов или активная РТПХ, то необходимо уточнить у вашего лечащего врача, кардиолога и/или стоматолога, следует ли вам принимать антибиотики, чтобы предотвратить развитие эндокардита после проведения инвазивных медицинских процедур.

Как следует мониторить потенциальные проблемы с сердцем?

Любой, кто получал ХТ антрациклинами или ЛТ на область грудной клетки в детстве, должен проходить ежегодные медицинские обследования и особо внимательно относиться к любым симптомам, связанным с сердцем. Кроме того, при долгосрочном наблюдении пациентов целесообразно проведение ЭКГ и Эхо-КГ при первом визите к кардиологу, а далее согласно графику последующего наблюдения (или согласно рекомендациям вашего лечащего врача). Иногда требуется проведение MUGA, которая выполняется только по показаниям врача и не является рутинным методом исследования. Сроки проведения Эхо-КГ или MUGA представлены в табл. 1.

Пациентам, которые получали ЛТ в дозе 40 Гр (4000 сГр) или выше на область сердца или окружающие ткани или ЛТ в дозе 30 Гр (3000 сГр) или выше плюс ХТ антрациклинами, можно рекомендовать консультацию кардиолога в целях проведения стресс-тестов через 5–10 лет после ЛТ с выполнением повторного исследования в сроки, рекомендованные кардиологом.

В целях выявления нарушений ритма сердца проводится длительная регистрация ЭКГ (холтеровское мониторирование) в течение 24–72 ч, обычно в течение 24 ч.

Таблица 1. Сроки проведения Эхо-КГ или MUGA
Table 1. The timing of echocardiography or MUGA

Возраст на момент лечения* Age at the time of treatment*	Облучение грудной клетки Irradiation of the chest	Общая доза антрациклинов** Total dose of anthracyclines**	Рекомендуемая частота проведения Эхо-КГ или MUGA*** Recommended frequency of echocardiography or MUGA***
< 1 года < 1 year	Да Yes	Любая	Каждый год Every year
	Нет No	< 200 мг/м ² mg/m ²	Каждые 2 года Every 2 years
1–4 года 1–4 years	Да Yes	Любая	Каждый год Every year
	Нет No	< 100 мг/м ² mg/m ²	Каждые 5 лет Every 5 years
		≥ 100 мг/м ² до < 300 мг/м ² mg/m ²	Каждые 2 года Every 2 years
≥ 5 лет ≥ 5 years	Да Yes	≥ 300 мг/м ² mg/m ²	Каждый год Every year
		< 300 мг/м ² mg/m ²	Каждые 2 года Every 2 years
	Нет No	< 200 мг/м ² mg/m ²	Каждые 5 лет Every 5 years
		≥ 200 до < 300 мг/м ² mg/m ²	Каждые 2 года Every 2 years
		≥ 300 мг/м ² mg/m ²	Каждый год Every year

Примечание. * – возраст на момент лечения антрациклинами или облучения грудной клетки (независимо от того, что было первым); ** – основано на общих дозах доxorубицина/даунорубицина или эквивалентных дозах других антрациклинов; *** – MUGA может быть назначена пациентам, которые получали ХТ антрациклинами без ЛТ; Эхо-КГ является предпочтительным методом исследования для пациентов, которые получали ЛТ с вовлечением сердца. Этот метод дает более детальную информацию о проблемах, включая структуру клапанов.

Note. * – the age at the time of treatment with anthracyclines or chest irradiation (regardless of what was the first); ** – is based on total doxorubicin/daunorubicin doses or equivalent doses of other anthracyclines; *** – MUGA can be administered to patients who has received chemotherapy with anthracyclines without radiotherapy; an echocardiogram is the preferred method of investigation for patients who received radiation therapy with cardiac involvement. This method provides more detailed information about the problems, including the structure of the valves.

Пациенты, которые получали ЛТ на область сердца или окружающие ткани, должны сдавать анализы крови, чтобы контролировать другие возможные фак-

торы риска нарушения работы сердца (липидограмма, уровень глюкозы натощак или уровень гемоглобина А1с) каждые 2 года.

Дополнительная консультация кардиолога рекомендуется выздоровевшим женщинам, которые беременны или планируют беременность и получали любой из нижеперечисленных видов терапии:

- ХТ антрациклинами в дозе 300 мг/м² или более;
- ЛТ в дозе 30 Гр (3000 сГр) или выше на область сердца или окружающие ткани;
- ЛТ на область сердца (в любой дозе) в комбинации с антрациклинами или более высокие дозы циклофосамида (цитоксан).

Мониторинг функции сердца необходим из-за дополнительной нагрузки на сердце на поздних стадиях беременности и во время родов. Предполагаемый мониторинг включает Эхо-КГ до беременности и периодически во время беременности, особенно в 3-м триместре, и кардиологический мониторинг во время родов.

Как проводятся кардиологические тесты?

ЭКГ является методом исследования, который используется для оценки частоты сердечных сокращений и сердечного ритма. Электроды (маленькие липкие наклейки) наклеиваются на грудную клетку, руки и ноги. Провода прикрепляются к электродам, и идет регистрация электрических импульсов сердца.

Эхо-КГ (ультразвуковое исследование сердца) является методом, который оценивает работу сердечной мышцы и сократительную функцию сердца. Пациент ложится на кушетку, и электродный гель наносится на грудную клетку. Затем датчик (устройство, которое излучает ультразвуковые волны) прикладывается к грудной клетке, чтобы получить изображения сердца в разных проекциях. Используется небольшое давление на датчик, что иногда может вызывать небольшой дискомфорт. Результаты и изображение сердца выводятся на дисплей монитора, делаются фотографии, чтобы потом доктор смог их описать. Во время исследования проводится много измерений, которые помогают понять, хорошо ли сокращается сердечная мышца. С помощью Эхо-КГ можно изучить работу клапанов сердца, хорошо ли они открываются и закрываются.

MUGA является еще одним методом исследования функции сердца. Во время данного исследования вводится небольшое количество радиоизотопного препарата через вену. Затем пациент ложится на кушетку, и специальная камера движется вдоль кушетки, чтобы получить изображение сердца в движении. Электроды также накладываются на грудную клетку, чтобы контролировать электрические импульсы сердца.

Кардиологические стресс-тесты оценивают работу сердца в те периоды, когда сердце напряженно ра-

ботает. Эти исследования проводятся под контролем пульса и артериального давления.

Длительная регистрация ЭКГ (холтеровское мониторирование) позволяет записывать ЭКГ в течение 24–72 ч (обычно 24 ч) на небольшое портативное устройство (рекордер), которое пациент носит с собой (на ремне через плечо или на поясе). При этом на грудную клетку наклеиваются электроды (маленькие липкие наклейки), от них идут тонкие провода, которые затем соединяются с аппаратом. Он не причиняет беспокойства, вы сможете вести привычный образ жизни.

Что может произойти при обнаружении проблем с сердцем?

Лечащий врач направит вас на консультацию к кардиологу. Возможно, потребуются проведение дополнительных методов обследования и/или назначение медикаментозного лечения.

Что нужно делать, чтобы предотвратить развитие патологии со стороны сердца

С возрастом риск развития некоторых сердечных заболеваний (таких как сердечные приступы и закупорка артерий сердца) увеличивается. Факторы, которые могут усилить риски патологии сердца, включают курение, избыточный вес, употребление пищи с высоким содержанием жиров, малоактивный образ жизни. Заболевания, увеличивающие риск развития проблем с сердцем: диабет, гипертония и высокий уровень холестерина в крови. Вы можете снизить все эти риски, для этого необходимо:

- не курить (или бросить курить);
- не набирать лишний вес;
- ограничить употребление жиров, не более 30 % потребляемых в день калорий;
- регулярно заниматься спортом, по крайней мере, не менее 30 мин 5 раз в неделю.

Если у вас диабет, гипертония или высокий уровень холестерина в крови, четко следуйте рекомендациям вашего лечащего врача, соблюдайте диету. При появлении жалоб со стороны сердечно-сосудистой системы незамедлительно сообщите своему врачу.

Профилактика сердечно-сосудистых осложнений после лечения злокачественного новообразования в детстве

Так как люди становятся старше, риск развития сердечно-сосудистых проблем, таких как инфаркт миокарда и приступ стенокардии, увеличивается.

Дополнительные факторы, которые усиливают риск развития сердечно-сосудистых проблем, включают:

- ожирение или избыточный вес;
- повышенное артериальное давление (гипертония);
- повышенный уровень сахара в крови;
- повышенный уровень холестерина в крови;
- курение.

Безусловно, противораковая терапия, проводимая в детстве, подростковом возрасте или у молодых взрослых увеличивает риск развития этих нарушений здоровья. Очень важно, чтобы вы осознавали эти риски, вели здоровый образ жизни, что может способствовать предотвращению сердечно-сосудистых проблем.

Что увеличивает риск развития ожирения?

Терапевтические факторы:

- ЛТ на головной мозг или голову (особенно в дозе 18 Гр и выше);
- нейрохирургическое вмешательство, которое воздействует на область среднего мозга (содержащую гипофиз).

Другие известные факторы риска:

- переедание;
- употребление в пищу продуктов, содержащих жиры и сахар;
- малоактивный образ жизни;
- недостаточность щитовидной железы (гипотиреоз), или дефицит (низкий уровень) гормона роста.

Что увеличивает риски развития гипертонии?

Терапевтические факторы:

- терапия, которая повреждает почки, может увеличить риск развития гипертонии. Она включает:
 - ифосфамид;
 - цисплатин;
 - карбоплатин;
 - метотрексат;
 - ЛТ на область почек, брюшную полость, боковую и подвздошную область живота, все тело;
 - удаление одной почки;
 - ТГСК (особенно если она осложнилась хронической РТПХ).

Другие известные факторы:

- ожирение или избыточный вес;
- семейные формы гипертонии;
- малоактивный образ жизни;
- употребление в пищу большого количества соли.

Что увеличивает риск высокого уровня холестерина в крови (включая высокий уровень триглицеридов и низкий уровень липопротеина высокой плотности)?

Терапевтические факторы:

- ЛТ всего тела.

Другие известные факторы:

- ожирение или избыточный вес;
- семейная гиперлипидемия;
- малоактивный образ жизни;
- употребление пищи, содержащей большое количество насыщенных жиров.

Что увеличивает риск высокого уровня сахара в крови/развития сахарного диабета?

Терапевтические факторы:

- ЛТ на область брюшной полости;
- ЛТ всего тела;

- длительное лечение кортикостероидами, например преднизолоном или дексаметазоном.

Другие известные факторы:

- ожирение (обратите внимание, что излеченные пациенты, получившие облучение всего тела, могут подвергаться повышенному риску, даже если у них нет избыточного веса или ожирения);
- наличие диабета в семейном анамнезе.

Как я могу узнать, есть ли у меня избыточный вес и страдаю ли я от ожирения?

Для расчета нормы веса взрослых людей применяют индекс массы тела (ИМТ). В первой половине XIX века бельгийский ученый Адольф Кетле заметил, что норма веса взрослого человека хорошо интерполируется функцией вида $BMI = W/H^2$, где BMI (body mass index, ИМТ) – переменная, получающаяся путем деления веса (W) человека на его рост (H), возведенный в квадрат. Более того, через столетие, в 1972 г., американский ученый Ансель Кис установил, что если основываться только на росте и весе человека, формула Кетле хорошо предсказывает содержание жира в человеческом организме, а, следовательно, и недостаток, переизбыток или норму веса.

Как следует из вышесказанного, определить свой ИМТ очень легко – поделите свой вес на рост, возведенный в квадрат. Так, для роста 1,80 м и веса 80 кг $ИМТ = 80/(1,8)^2 = 80/3,24 = 24,7$. После расчета ИМТ нужно определить, в норме ли вес или его стоит подкорректировать. Для этого можно воспользоваться следующей таблицей (табл. 2).

Таблица 2. Расшифровка ИМТ

Table 2. Decoding BMI

ИМТ BMI	Состояние Condition
16 и менее	Выраженный (болезненный) дефицит веса <i>Pronounced (painful) weight deficit</i>
16,1–18,4	Дефицит веса <i>Weight deficit</i>
18,5–24,9	Норма <i>Norm</i>
25–29,9	Избыточная масса тела (предожирение) <i>Overweight (pre-fat)</i>
30–34,9	Ожирение I степени <i>Obesity of the 1st degree</i>
35–39,9	Ожирение II степени <i>Obesity of the 2nd degree</i>
40 и более	Ожирение III степени (морбидное) <i>Obesity of the 3rd degree (morbid)</i>

Для детей одной универсальной формулы найти не удалось, поэтому для определения нормы применяют так называемые центильные таблицы (их легко найти в сети Интернет). Несмотря на странное название, в центильных таблицах нет ничего сложного. Представьте, что сотню детей построили по росту, как на уроке физкультуры. Тех из них, что стоят ближе к центру, назовут нормальными; тех великанов, что стоят в начале шеренги, определят высокорослыми (трое первых, самых высоких, составят центильный интервал 97 %), а троих последних, самых маленьких, назовут низкорослыми (трое, стоящие в самом конце, будут центильным интервалом 3 %). Поэтому не волнуйтесь, если рост ребенка не соответствует норме. Существуют люди с нормальным, т. е. средним развитием, а также и те, кто развивается со скоростью выше или ниже среднего. Изменяя рост и вес детей разных возрастов, ученые строят центильные таблицы, по которым педиатры определяют, нормально ли развивается ребенок. Чтобы не вычислять норму по подобным таблицам, вы можете воспользоваться электронным калькулятором (http://smartnsmall.com/ves/Calculator_normalnogo_vesa_rebenka.php).

Какие другие методы исследования необходимо сделать?

Рекомендуемый скрининг зависит от вашей истории лечения и текущего состояния здоровья и может

включать один или несколько нижеперечисленных методов:

- проверка артериального давления (ежегодно);
- анализ крови натощак для определения уровня холестерина (каждые 2 года);
- анализ крови натощак для определения уровня глюкозы или гемоглобина A1c (каждые 2 года).

Что я могу сделать, чтобы снизить риск развития сердечно-сосудистых осложнений?

- Регулярно проходите осмотры и следуйте рекомендациям вашего лечащего врача.
- Употребляйте здоровую пищу.
- Занимайтесь физическими упражнениями.
- Если вы не курите, не начинайте.
- Если вы курите, бросьте курить. Попросите вашего лечащего врача о помощи.
- Если у вас избыточный вес, ожирение, высокое кровяное давление, высокий уровень холестерина и/или повышенный уровень сахара в крови, регулярно обращайтесь к врачу.
- Следуйте его рекомендациям для дополнительного тестирования, если необходимо, и для постоянного лечения сопутствующих заболеваний.
- В некоторых случаях для лечения этих заболеваний могут потребоваться лекарственные средства. Если вам назначены лекарства, обязательно принимайте их регулярно и внимательно следуйте инструкциям вашего врача.

Статья поступила в редакцию: 15.05.2018. Принята в печать: 06.08.2018.

Article was received by the editorial staff: 15.05.2018. Accepted for publication: 06.08.2018.

РЖДГО |

Подписка на журнал для стран СНГ

Уважаемые коллеги, появилась возможность оформить **ПЛАТНУЮ** подписку на «Российский журнал детской гематологии и онкологии» (РЖДГО) для стран ближнего зарубежья и СНГ!

Вы можете воспользоваться любым удобным ресурсом для онлайн-оформления данной услуги:

- www.pressa-rf.ru — официальный сайт объединенного каталога «Пресса России»;

- www.press-med.ru — интернет-магазин медицинских книг и профессиональной периодики для врачей;
- <https://www.akc.ru> — агентство по распространению зарубежных изданий.

Или прийти в любое почтовое отделение Почты России и оформить подписку по каталогу «Пресса России». Индекс издания — 93505.

ОТ РЕДАКЦИИ



В этом номере журнала мы продолжаем публикацию информации об отделениях детской гематологии-онкологии Российской Федерации. Рубрика подготовлена совместно с Институтом управления и трансляционной медицины НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Данное направление ведет врач-методист Института к.м.н. Светлана Алексеевна Коган.

Организация помощи детям Вологодской области с гематологическими и онкологическими заболеваниями

Н.Е. Дунаева, З.Б. Мелентьева, Т.Л. Костюрина, В.А. Хабаров, М.В. Шипичева
БУЗ ВО «Вологодская областная детская клиническая больница»; Россия, 160022, Вологда, Пошехонское шоссе, 31

Контактные данные: Надежда Евгеньевна Дунаева dnemsiv600@yandex.ru

В январе 2018 г. отделение детской онкологии, гематологии и химиотерапии Областной детской клинической больницы г. Вологды отметило 5-летний юбилей. Открытие специализированного отделения позволило проводить лечение детей со злокачественными новообразованиями и тяжелыми гематологическими заболеваниями в Вологодской области на более высоком уровне. В отделении проходят обследование и лечение дети в возрасте от 1 месяца до 18 лет с различными формами опухолей кроветворной системы, солидными новообразованиями, опухолями центральной нервной системы, анемиями и цитопениями различного генеза, нарушениями системы свертываемости крови. Статья описывает основные этапы развития онкологической помощи детям Вологодской области, возможности службы и перспективы развития.

Ключевые слова: дети, гематология-онкология, служба, история

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-123-126

Organizing assistance for children with hematological and oncological diseases of the Vologda region

N.E. Dunaeva, Z.B. Melentjeva, T.L. Kostyurina, V.A. Khabarov, M.V. Shipicheva
Vologda Regional Children's Clinical Hospital; 31 Poshekhonskoye Sh., Vologda, 160022, Russia

Children's oncology, hematology and chemotherapy department of the Regional Children's Clinical Hospital of the Vologda celebrated its 5th anniversary in January, 2018. Opening of a specialized department allowed to treat children with malignant neoplasms and severe hematological diseases in the Vologda region at a higher level. In the department children aged 1 month to 18 years with various forms of tumors of the hematopoietic system, solid neoplasms, tumors of the central nervous system, anemia and cytopenia of various genesis, disorders of the blood clotting system undergo examination and treatment. This article describes the main stages in the development of a cancer care for children of the Vologda region, the possibilities of service and the prospects for development.

Key words: children, hematology-oncology, service, history

Актуальность

В каждом из субъектов Российской Федерации (РФ) существует уникальная система организации помощи детям с гематологическими и онкологическими заболеваниями, зависящая от множества факторов, таких как территориально-экономические особенности

региона, кадровый состав, оснащенность медицинских организаций, научный потенциал, уровень и структура заболеваемости детского населения и проч. Для проведения соответствующего анализа и принятия управленческих решений крайне важно иметь представление о состоянии службы в каждом регионе.

Службе гематологии-онкологии в Вологодской области около 100 лет. Значительный опыт наряду с непрерывным образованием специалистов и внедрением современных методов диагностики, лечения и реабилитации в профильных учреждениях позволяет оказывать качественную и своевременную специализированную помощь детям региона с онкологическими и гематологическими заболеваниями. **Целью нашей статьи** стало представление системы организации службы детской гематологии-онкологии Вологодской области, включая ее структуру, анализ деятельности и результаты работы отделения детской онкологии, гематологии и химиотерапии, которое находится в Вологодской областной детской клинической больнице (ВОДКБ).

Историческая справка

Вологодская областная детская больница была основана в 1921 г. и имела всего 30 коек. Специализированная помощь по профилю «гематология» начала оказываться с 1966 г., когда в составе детского терапевтического отделения было выделено 10 специализированных коек. Первым врачом-гематологом стала Нина Александровна Иванова (рис. 1).

На гематологических койках получали лечение дети с гемобластомами, анемиями, заболеваниями, связанными с нарушением системы свертываемости, и др.

В 1980 г. был открыт онкологический кабинет. Прием в нем вела первый детский онколог области Надежда Евгеньевна Дунаева. Стационарная помощь детям с солидными образованиями оказывалась на базе хирургического отделения, но только в 1998 г. в составе детской хирургии было выделено 5 коек онкологического профиля.

День сегодняшний

Сегодня в структуре ВОДКБ 482 койки многопрофильного круглосуточного стационара, 26 коек дневного стационара, консультативная поликлиника и травмпункт.

Ежегодно в отделениях больницы получают лечение более 13 000 детей, функционирует 16 лечебных отделений разного профиля, в том числе 2 отделения анестезиологии и реанимации (№ 1 – на 12 коек для старших детей с отделением гипербарической оксигенации, № 2 – на 8 коек для новорожденных) и 10 вспомогательных отделений.

Высокое качество диагностики поддерживается отделениями лучевой и функциональной диагностики, эндоскопической службой (хирургического и терапевтического направления), современными клиничко-биохимической и иммунологической лабораториями.

1 января 2013 г. сданы в эксплуатацию новые корпуса ВОДКБ и организовано отделение детской он-



Рис. 1. Нина Александровна Иванова

Fig. 1. Nina Alexandrovna Ivanova

кологии, гематологии и химиотерапии. В настоящее время в отделении функционирует 20 коек круглосуточного пребывания: 5 гематологических и 15 онкологических. Также в структуре отделения выделены 4 койки дневного стационара онкологического профиля. Врачебный коллектив, в котором трудятся 2 гематолога и 1 детский хирург-онколог, возглавляет Надежда Евгеньевна Дунаева.

В отделении проходят обследование и лечение дети в возрасте от 1 месяца до 18 лет с различными формами опухолей кроветворной системы, солидными новообразованиями, опухолями центральной нервной системы (ЦНС), анемиями и цитопениями различного генеза, нарушениями системы свертываемости крови.

Обследование детей проводится в полном объеме и включает в себя: клиническое обследование, цитологическое и гистологическое исследование костного мозга и объемных образований, ультразвуковое исследование, рентгенологическую диагностику со спиральной компьютерной и магнитно-резонансной томографией, функциональную диагностику. Лечение маленьких пациентов осуществляется согласно национальным клиническим рекомендациям и по современным и общепризнанным российскими и зарубежными специалистами протоколам, таким как: SIOP-LGG-2004, CWS-2002, HIT-2014, NB-2004, DAL-GPON-2002, ALL-MB-2015, BFM-NHL.

Исследования в области детской онкологии являются приоритетными и заслуживают особого внимания. Врачи отделения тесно сотрудничают со специалистами федеральных центров, таких как НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, НИИ ДОиГ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, НИИ ДОиТ им. Р.М. Горбачевой, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, НМИЦ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, НИИ глазных болезней им. Гельмогольца.

С 2015 г. отделение участвует в научно-исследовательском протоколе лечения детей с острым лимфобластным лейкозом ALL-MB-2015.

С конца 2008 по 2017 г. в нашей больнице к трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) подготовлены 16 пациентов. Различные виды ТГСК этим детям выполнены в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой.

Дети с солидными доброкачественными образованиями и гемангиомами проходят курс криотерапии, лечение импульсным лазером, получают оперативное и консервативное (пропранолол) лечение. Хирургическая активность отделения составляет 24,8 %.

Отделение обеспечено аппаратурой для проведения инфузионной терапии, мониторами для контроля витальных функций, расходными материалами для диагностики и лечения. Созданы комфортные условия пребывания в стационаре для детей и родителей: одноместные боксы с отдельным санузлом и шлюзом. За год в отделении получают лечение более 700 пациентов (рис. 2).

В Вологодской области ежегодно диагностируется более 20 впервые выявленных злокачественных новообразований. Летальность по отделению составляет 0,4 %.

Первичная онкологическая заболеваемость в последние 10 лет колеблется от 11 до 14,7 на 100 тыс. детского населения. В 2015 г. отмечен пик, когда показатель составил 17,3 на 100 тыс. детского населения (рис. 3).

Структура злокачественных опухолей у детей резко отличается от таковой у взрослых. В РФ у детей удельный вес гемобластозов составляет 45,6 %, а солидных опухолей – 54,4 % случаев. На 1-м месте находятся лейкозы (34,1 %), затем опухоли головного мозга (22 %), нейробластома (7,4 %), опухоли мягких тканей (5,9 %), опухоль Вильмса (5,6 %), новообразования костей (4,5 %), ретинобластома (2,4 %), эпителиальные опухоли (1,6 %), герминогенные опухоли (2,9 %) (Т.Х. Мень, В.Г. Поляков, М.Д. Алиев, 2014 г.).

Схожая ситуация складывается и в нашем регионе. Среди впервые выявленных онкологических заболеваний ($n = 131$), солидные опухоли были обнаружены у 74 (56 %) детей, у остальных 57 (44 %) – заболевания кроветворной системы.

Наиболее часто у детей встречаются опухоли ЦНС (С71) – $n = 24$ (18,2 %); ретинобластомы (С69.2) – $n = 9$ (6,7 %); опухоли почек (С64) – $n = 8$ (6,1 %); костей (С40) – $n = 7$ (5,3 %); мягкотканые саркомы (С49) – $n = 7$ (5,3 %); нейробластомы – $n = 4$ (3,0 %) (рис. 4).

В структуре впервые выявленных гемобластозов преобладают острые лимфобластные лейкозы (ОЛЛ) (С91.0) – $n = 31$ (24 %); лимфомы Ходжкина (С81) – $n = 11$ (8,5 %); острые миелобластные лейкозы (ОМЛ) (С92) – $n = 8$ (6,1 %); гистиоцитоз (С96.1) – $n = 3$ (2 %); неходжкинские лимфомы (С83) – $n = 4$ (3 %) (рис. 5).



Рис. 2. Число пролеченных пациентов за период 2013–2017 гг.

Fig. 2. Number of treated patients for the period 2013–2017

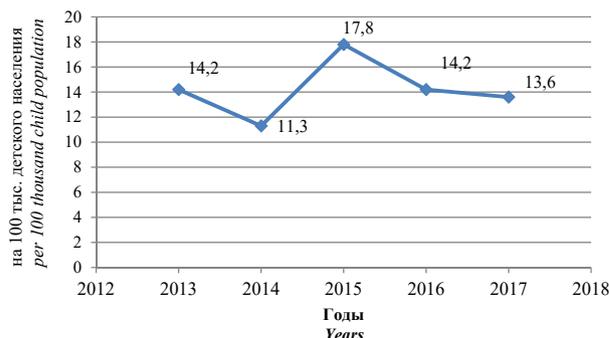


Рис. 3. Впервые выявленные пациенты со злокачественными заболеваниями за период 2013–2017 гг., на 100 тыс. детского населения

Fig. 3. The newly diagnosed patients with malignant diseases for the period 2013–2017, per 100 thousand child population

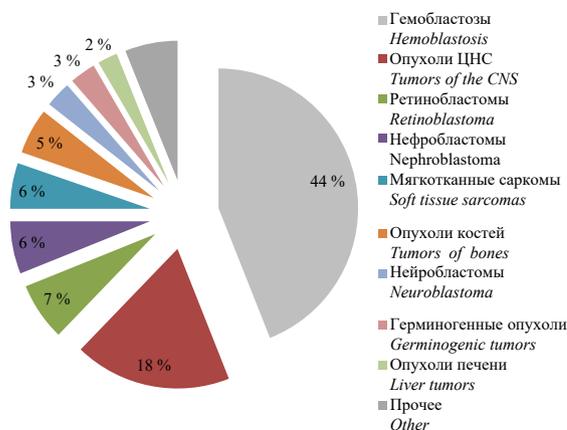


Рис. 4. Структура солидных новообразований в 2017 г.

Fig. 4. Structure of solid neoplasms in 2017

Благодаря слаженной работе всего медицинского персонала отделения, благоприятные исходы лечения опухолей составляют более 75 %.

В консультативно-диагностической поликлинике ВОДКБ проводится амбулаторный прием врача-детского онколога и гематолога, осуществляется диспансерное наблюдение за детьми с гемобластозами и солидными образованиями, доброкачественными гематологическими заболеваниями.

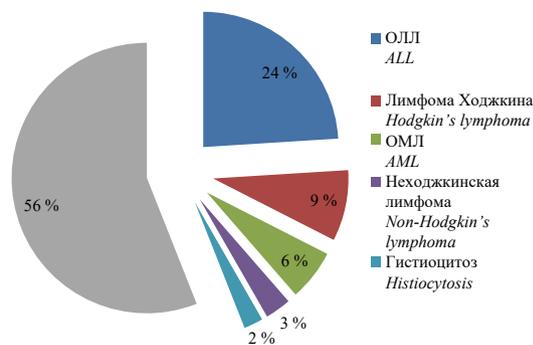


Рис. 5. Структура гемобластозов в 2017 г.
Fig. 5. Structure of hemoblastosis in 2017

На диспансерном наблюдении на конец 2017 г. в области состояло 226 детей со злокачественными заболеваниями (таблица).

Структура диспансерных больных (2017 г.)
Structure of dispensary patients (2017)

Диагноз Diagnosis	Всего, n Total	Девочки Girls	Мальчики Boys
ОЛЛ ALL	65	31	34
ОМЛ AML	12	4	8
Лимфома Ходжкина Hodgkin's lymphoma	11	5	6
Неходжкинская лимфома Non-Hodgkin's lymphoma	10	4	6
Гистиоцитоз Histiocytosis	9	4	5
Нефробластома Nephroblastoma	19	11	8
Нейробластома Neuroblastoma	11	6	5
Опухоли костей Tumors of bones	6	1	5
Герминогенные опухоли Germinogenic tumors	7	4	3
Опухоли мозга Tumors of the brain	36	19	17
Ретинобластома Retinoblastoma	14	7	7
Мягкотканная саркома Soft tissue sarcomas	11	7	4
Гепатобластома Hepatoblastoma	4	3	1
Прочие Others	11	5	6
Итого	226	111	115

Перспективы работы отделения и дальнейшие шаги:

- укрепление связей и налаживание взаимодействия с профильными федеральными учреждениями в отношении лечения и своевременного обследования детей (в том числе проведения позитронно-эмиссионной томографии, диагностики с метайодбензилгуанидином), их реабилитации;
- активное участие в национальных исследовательских протоколах;
- продолжение деятельности по внедрению мультидисциплинарного подхода к пациентам в рамках функционирования многопрофильного стационара.

Заключение

Таким образом, в результате открытия специализированного отделения, где в одном коллективе трудятся врачи-детские гематологи, онкологи и хирурги, улучшилось качество оказания профильной медицинской помощи детям. В том числе это способствует внедрению мультидисциплинарного подхода в лечении пациентов. Благодаря созданным в клинике и отделении условиям, значительно сократилось количество инфекционных осложнений. Совместная работа врачей отделения с вспомогательными подразделениями ВОДКБ позволила улучшить работу отделений лабораторной и лучевой диагностики. С 2015 г. начата активная работа с амбулаторным звеном области по теме онкологической настороженности.

Отделение активно участвует в реабилитации детей с онкопатологией, в том числе в рамках сотрудничества с ЛРНЦ «Русское поле». Команда пациентов из Вологды 3-й год подряд участвует во Всемирных детских играх победителей, занимая призовые места (рис. 6). Это замечательные, жизнерадостные, обычные ребята, в жизни которых наша больница сыграла не последнюю роль.



Рис. 6. Команда пациентов, победивших болезнь
Fig. 6. Team of patients who defeated the disease

IV Конгресс гематологов России

12–14 апреля 2018 г. в Москве состоялся IV Конгресс гематологов России, который был организован Национальным гематологическим обществом. Соорганизатором мероприятия выступило наше сообщество. На церемонии открытия выступил академик РАН А.Г. Румянцев, который рассказал о совместном пути развития детской и взрослой гематологии. В рамках Конгресса состоялись вы-

ступления лидеров детской гематологии-онкологии России — Б.В. Афанасьева, А.А. Масчана, Г.А. Новичковой, М.А. Масчана и других специалистов. Традиционно делегаты могли получить на стенде НОДГО актуальные номера журналов «Российский журнал детской гематологии и онкологии» и «Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии».

Форум стран Латинской Америки под эгидой Международной лиги по борьбе с раком

18–19 апреля в Монтевидео (Уругвай) состоялся Форум стран Латинской Америки по борьбе с онкологическими заболеваниями. Мероприятие было организовано Международной лигой по борьбе с раком (Union for International Cancer Control — UICC) при личном участии президента Восточной Республики Уругвай доктора Табаре Васкеса.

По личному приглашению президента страны в Уругвай прилетел генеральный директор НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева академик РАН А.Г. Румянцев. Кроме личной встречи господина Васкеса и Александра Григорьевича, на которой обсуждались дальнейшие шаги в развитии детской гематологии-онкологии, А.Г. Румянцев подписал с Минздравом

Уругвая меморандум о взаимодействии в борьбе с тяжелыми гематологическими и онкологическими заболеваниями в педиатрии.

А.Г. Румянцев выступил с докладом об успехах России в борьбе с детскими гематологическими и онкологическими заболеваниями. Александр Григорьевич отметил, что хорошие результаты достижимы даже в условиях ограниченных ресурсов. Доклад состоялся в рамках пленарной сессии, которая была посвящена улучшению финансирования противораковых программ в Латинской Америке. В рамках визита в Уругвай академик А.Г. Румянцев посетил медицинские и образовательные учреждения Монтевидео.

Встреча экспертов в области детской онкологии стран СНГ

23–25 апреля 2018 г. в Москве состоялась Встреча экспертов в области детской онкологии стран СНГ под эгидой Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Встреча была организована совместными усилиями офиса по профилактике неинфекционных заболеваний и борьбе с ними Европейского подразделения ВОЗ, Детского исследовательского госпиталя Святого Иуды (Мемфис, США), НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и НОДГО. Делегатами встречи стали 62 человека, в том числе специалисты из 11 стран СНГ. Во время мероприятия была организована образовательная программа, прочитано 9 лекций, состоялось обсуждение перспектив развития службы детской гематологии-онкологии в рамках рабочих групп. Подробную информацию об итогах Встречи вы можете найти в рубрике «Оригинальные исследования» этого номера РЖДГиО.



*Делегаты Встречи экспертов в области детской онкологии стран СНГ
Delegates of the Meeting of Experts in the field of children's oncology of CIS countries*

IX Межрегиональное совещание НОДГО

26–28 апреля 2018 г. в Санкт-Петербурге состоялось IX Межрегиональное совещание НОДГО «Перспективы детской гематологии-онкологии: мультидисциплинарный подход – 2018. Совещание главных внештатных детских специалистов гематологов и онкологов субъектов Российской Федерации». За 3 рабочих дня Совещание посетили более 650 делегатов, было прочитано 176 лекций и сообщений, проведено 44 мероприятия (симпозиумы, круглые столы, мастер-классы). Впервые Совещание было аккредитовано в системе непрерывного медицинского образования, анкетирование по оценке качества показало в основном отличные и хорошие оценки мероприятия.

Необходимо отметить, что ключевым событием стало Совещание главных внештатных детских специалистов гематологов, онкологов и иммунологов, которое было проведено под председательством Е.Н. Байбариной, А.Г. Румянцева, С.Р. Варфоломеевой, Б.В. Афанасьева, М.Б. Белогуровой и К. Родригеза-Галиндо, на котором обсуждались вопросы организации службы на основе мультидисциплинарной педиатрии. В частности, участники мероприятия поддержали вопрос постепенного внедрения объединенной специальности «детская гематология-онкология», продолжение работы по подготовке единых клинических рекомендаций и ряд других предложе-



Совещание главных внештатных детских специалистов гематологов, онкологов и иммунологов

Meeting of the main non-staffed children's specialists of hematologists, oncologists and immunologists

ний. Все они нашли свое отражение в резолюции, которая публикуется в рубрике «От редакции» этого номера РЖДГиО.

В Совещании традиционно приняли участие приглашенные зарубежные лекторы, были вручены премии «За верность профессии!», состоялась постерная сессия. Подробную информацию об этом мероприятии вы можете найти на сайте НОДГО – www.nodgo.org.

НОДГО @ онлайн

Материалы Совещания (отчет, фотоальбом, видеозаписи лекций и многое другое) вы можете найти на сайте форума www.nodgo.org/meeting2018.

Международная конференция специалистов, занимающихся изучением и лечением пациентов с нейробластомой

9–12 мая 2018 г. в Сан-Франциско (США) состоялась очередная конференция специалистов, занимающихся изучением и лечением пациентов с нейробластомой (НБ) – *Advances in Neuroblastoma Research (ANR)*. Это крупное событие в области изучения детского рака собрало 764 участника из разных уголков мира, включая врачей-детских онкологов, медицинских сестер, научных работников. В рамках конференции были проведены сессия родительских организаций и встреча пациентов, которым поставлен диагноз НБ.

Программа конференции была представлена образовательными сессиями, лекциями ведущих экспертов, пленарными выступлениями и узкоспециализированными симпозиумами, охватывающими ключевые механизмы опухолевой трансформации и прогрессии при НБ, представляющими данные о внедрении новых методов лечения и результаты недавно завершенных клинических исследований, направленных на оптимизацию терапии НБ.

В течение первого дня конференции наибольший интерес представляла образовательная сессия, в кото-

рой выступили ведущие международные эксперты в области диагностики и лечения НБ. S. Cohn (США) представила текущее состояние проекта INRG (International Neuroblastoma Risk Grouping), который содержит информацию о более чем 20 тыс. пациентов с НБ.

Особое внимание было отведено исследованиям, направленным на поиск новых биомаркеров и изучающим возможности определения статуса заболевания и молекулярно-генетического портрета опухоли путем анализа циркулирующей опухолевой ДНК (A. Welsh, США) и РНК (K. De Peter, Бельгия).

Значительное место в научной программе конференции было уделено иммунотерапии в целом и ее месту в лечении НБ в частности. Обсуждались современные тенденции в иммунотерапии солидных опухолей, включая терапию Т-клетками с химерным антигенным рецептором (Chimeric Antigen Receptor – CAR) (С. Mackall, США; J. Anderson, Великобритания), терапию ингибиторами контрольных точек (Checkpoint inhibitors) (I. Mellman, США), использование биспецифических антител при радиоиммунотерапии (N.K. Cheung, США), а также поиск новых мишеней для иммунотерапии помимо дисиамоганглиозида GD2.

От Российской Федерации и Республики Беларусь были представлены постерные доклады ведущих клиник (НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, НИИ ДОиГ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, РНПЦ ДОГИ Республики Беларусь), занимающихся изучением НБ.

НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева (Д.Ю. Качанов, Т.В. Шаманская, А.Е. Друй) представил три постерные презентации. В постере “Treatment of High-Risk Neuroblastoma: Experience of Russian Federal Centers” показан первый обобщенный опыт результатов лечения пациентов с НБ на основе модифицированного протокола немецкой онкологической группы NB-2004 в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева совместно с коллегами из РДКБ (Москва) и РНЦРР (Москва). Отдельно были представлены основные характеристики и результаты лечения наиболее сложной категории пациентов с нейрорецидивами НБ (CNS Relapses of High-Risk Neuroblastoma: Analysis of Risk Factors and Clinical Outcomes). Одна из наиболее интересных тем, представленная в виде краткого устного выступления, была посвящена оценке и прогностической роли miR128A и TERT у пациентов с первичной НБ – “Gain of Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) Expression Together with Loss of MicroRNA-128A Expression is Associated with Poor Survival in Neuroblastoma”. Это исследование выполнил А.Е. Друй совместно с коллегами из Екатеринбурга. Представленная работа вызвала большой интерес и дискуссию со стороны иностранных коллег.

Кроме этого, НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева был представлен в совместной работе с European SIOР Neuroblastoma Group (SIOРEN), посвященной изучению пациентов с нейрогенными опухолями и эпидуральной компрессией.

Научно-образовательный семинар по программе «Дальние регионы» в Архангельске

20–21 июня 2018 г. в Архангельске на базе ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» (СГМУ) состоялся семинар по программе «Дальние регионы» для специалистов Северо-Западного федерального округа. Семинар был организован совместными усилиями Министерства здравоохранения Архангельской области (министр – Антон Александрович Карпунов, и. о. начальника отдела медицинской помощи детям и службы родовспоможения – Ольга Александровна Николаева), администрации ГБУЗ АО «Архангельская областная детская клиническая больница им. П.Г. Выжлецова» (АОДКБ им. П.Г. Выжлецова, главный врач – Ольга Игоревна Тюрикова), главного внештатного детского специалиста онколога Ивана Александровича Турабова, НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, НОДГО, благотворительных фондов «Подари жизнь» и Константина Хабенского.



Круглый стол с министром здравоохранения Архангельской области
Round table with the Minister of Health of the Arkhangelsk Region

В мероприятии приняли участие более 50 специалистов из Архангельской области, присутствовали врачи-педиатры, а также сотрудники кафедр СГМУ, на базе которого и проходило мероприятие. Перед началом семинара состоялся круглый стол с руководством Минздрава области по развитию детской гематологии-онкологии и иммунологии в регионе.

Ежегодно в детском онкологическом кабинете АОДКБ им. П.Г. Выжлецова наблюдаются около 40 детей. Помощь детям в Архангельской области оказывается на базе АОДКБ им. П.Г. Выжлецова, где в рамках мультидисциплинарного подхода выполняются диагностика и лечение детей с гематологическими, онкологическими и иммунологическими заболеваниями. В учреждении на 18 койках организовано специализированное онкологическое отделение химиотерапии опухолей (заведующий отделением – Вячеслав Аркадьевич Митрофанов), дополнительно функционирует дневной стационар. Во время проведения круглого стола была достигнута договоренность о сотрудничестве между Архангельской областью и НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в виде привлечения выездных хирургических бригад из числа сотрудников Центра и программы обучения врачей-специалистов области на базе НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

По итогам проведения встречи были приняты предложения по определению ключевых компонентов развития службы детской гематологии-онкологии и иммунологии как части мультидисциплинарной команды на базе АОДКБ им. П.Г. Выжлецова с сохранением отделения химиотерапии и количества коек.

Было принято решение заключить договор между НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, НОДГО и Министерством здравоохранения Архангельской области и отдельно АОДКБ им. П.Г. Выжлецова, а также проработать взаимодействие с Архангельским областным клиническим онкологическим диспансером в вопросе проведения детям лучевой терапии. Для развития службы необходимо продолжить работу по взаимодействию с НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева через Федеральный телекоммуникационный консультативный центр.

Присутствующие подчеркнули важность возможности проведения стажировок в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева по программе «Лечим вместе» путем оформления командировок при участии в данной программе сотрудников из Архангельской области, а также организации мастер-классов по детской хирургии и иммунологии на базе АОДКБ им. П.Г. Выжлецова и СГМУ.

В дни проведения семинара состоялась образовательная программа, аккредитованная в системе непрерывного медицинского образования. Лекции прочли И.А. Турабов, Е.Э. Шиллер, Н.Б. Кузьменко, Н.С. Грачёв, Н.С. Смирнова, К.И. Киргизов и Г.М. Муфтахова, затем были проведены консультации и обсуждение пациентов, находящихся на лечении в АОДКБ им. П.Г. Выжлецова. Во время дискуссии участники семинара активно делились своим опытом и знаниями. Работа данного семинара освещалась региональными СМИ – ГТРК «Поморье».

Отзыв о семинаре в Архангельске ученого секретаря ИУТМ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева к.м.н. Г.М. Муфтаховой:

«Семинар в Архангельске запомнился мне академическим подходом, потому как мы смогли поговорить не только о практических вопросах, но и о науке – это стало возможным благодаря проведению мероприятия на базе СГМУ.

Я уверена, что работа отделений детской гематологии и онкологии на базе многопрофильных детских

больниц является приоритетной задачей и Архангельская область является блестящим примером подобной работы.

Особо мне хотелось бы отметить вовлеченность медицинского руководства области в проблемы детской гематологии-онкологии. Я надеюсь, что это позволит на долгие годы сохранить высокий уровень качества оказываемой в регионе помощи маленьким пациентам со злокачественными новообразованиями и тяжелыми гематологическими заболеваниями».

Научно-образовательный семинар по программе «Дальние регионы» в Элисте

28–29 мая 2018 г. в Элисте на базе БУ РК «Республиканский детский медицинский центр («РДМЦ»; главный врач – Р.А. Каюков) состоялся семинар по программе «Дальние регионы» для специалистов Южного федерального округа. Мероприятие было организовано совместными усилиями Министерства здравоохранения Республики Калмыкия, РДМЦ, НОДГО, НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, благотворительных фондов «Подари жизнь» и Константина Хабенского. В семинаре приняли участие более 114 специалистов из Республики Калмыкия.

На церемонии открытия присутствовали представители делегации из Москвы, заместитель министра здравоохранения Республики Калмыкия Г.К. Динкиева, главный врач РДМЦ Р.А. Каюков и его заместители, главный штатный специалист педиатр Министерства здравоохранения Республики Калмыкия Л.Г. Санджиева. Первый день семинара «Дальние регионы» в Элисте завершился круглым столом в правительстве Республики Калмыкия под председатель-

ством временно исполняющего обязанности министра здравоохранения Республики Калмыкия Юрия Викторовича Кикенова.



Во время круглого стола был подписан трехсторонний договор о сотрудничестве

During the round table, a tripartite agreement on cooperation was signed

Отзыв о семинаре в Элисте заместителя директора ИУТМ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева к.м.н. К.И. Киргизова:

«Каждый из семинаров по программе «Дальние регионы» уникален. Не стало исключением и мероприятие в Республике Калмыкия. Регион был одним из первых, где мы реализовали модель организационных выездов в целях обследования службы детской гематологии-онкологии и иммунологии с подготовкой паспорта службы и пояснительной записки по ее оптимизации. Работа по подготовке документов протекала очень легко, так как коллеги из Министерства здравоохранения Республики Калмыкия и РДМЦ

искренне хотят помочь детям и сделать помощь в республике как можно более качественной. Хотелось бы выразить искреннюю благодарность Г.К. Динкиевой, Р.А. Каюкову, Л.Г. Санджиевой, К.В. Даваевой и всем тем, кто помогал нам в организации визита. Особо хотелось бы отметить высокую заинтересованность педиатров в получении новых знаний, ведь 29 мая, когда в республике празднуют день рождения, просветления и ухода в Паринирвану Будды Шакьямуни (официальный выходной в Калмыкии), они пришли на семинар. А лекторы ответили взаимностью – состоялась активная дискуссия, были проконсультированы более 25 пациентов!».

Памяти А.В. Шамардиной

5 июня 2018 г. после тяжелой и продолжительной болезни в возрасте 65 лет ушла из жизни Анастасия Вячеславовна Шамардина, к.м.н. заведующая отделением гематологии Нижегородской областной детской клинической больницы (НОДКБ), заслуженный врач Российской Федерации, главный внештатный детский специалист гематолог Министерства здравоохранения Нижегородской области.

Анастасия Вячеславовна — выпускница Горьковского медицинского института им. С.М. Кирова (1976 г.), окончила интернатуру на базе Пензенской областной детской клинической больницы, затем ординатуру в Горьковском медицинском институте по специальности «педиатрия». В 1983 г. А.В. Шамардина прошла подготовку по специальности «гематология». С этого года и до конца своих дней она трудилась в НОДКБ.

В 1985 г. Анастасия Вячеславовна с момента открытия возглавила отделение гематологии и внесла огромный вклад в становление службы гематологии (как детской, так и взрослой) Нижегородской области, вывела свое отделение на качественно новый уровень по лечению детей с заболеваниями крови. Благодаря ей живы сотни детей (и уже взрослых) с заболеваниями, которые раньше считались фатальными.

В 2005 г. Анастасия Вячеславовна защитила кандидатскую диссертацию, планировала защиту докторской диссертации. В 2011 г. А.В. Шамардиной присвоено звание «Заслуженный врач Российской



Федерации», в 2015 г. она была удостоена национальной премии «Призвание» в номинации «За создание нового метода лечения». Анастасия Вячеславовна — лауреат премии НОДГО «За верность профессии — 2010».

Анастасия Вячеславовна внесла огромный вклад в создание коллектива единомышленников, на своем примере прививая сотрудникам высокие профессиональные и моральные качества — профессионализм, трудолюбие, требовательность к работе, внимательность и чуткость к пациентам. Всю себя она самоотверженно посвятила работе. Вся жизнь А.В. Шамардиной —

это бесконечная преданность выбранному делу. Она всегда была равнодушной к чужим проблемам.

Энергичный и очень мужественный человек, до последних дней она ни разу не дала почувствовать окружающим трагизм сложившейся ситуации, вопреки всему она строила планы и вдохновляла окружающих позитивом и зарядом энергии.

Анастасия Вячеславовна всегда будет для нас примером безграничной преданности своей профессии, милосердия и мудрости.

Светлая память об Анастасии Вячеславовне навсегда останется у коллектива НОДКБ, сотрудников отделения гематологии, пациентов и их родителей, всего сообщества детских гематологов-онкологов, благотворительных организаций, работавших с отделением гематологии, и других людей, имевших счастливую возможность общения с ней!



Generium
Pharmaceutical

**Рекомбинантные
технологии
для полноценной
жизни**



Октофактор

Мороктоког альфа

Регистрационный номер: ЛП-002015 от 26.02.2013
Торговое название препарата: Октофактор. МНН: мороктоког альфа.
Лекарственная форма: Лиофилизат для приготовления раствора
для внутривенного введения.

1 ФЛАКОН С ПРЕПАРАТОМ СОДЕРЖИТ:

Активное вещество: мороктоког альфа	250 МЕ	500 МЕ	1000 МЕ	2000 МЕ
--	--------	--------	---------	---------

Вспомогательные вещества, мг:

натрия хлорид (Eur. Ph.)	36,00
сахароза (Eur. Ph.)	12,00
гистидин (Eur. Ph.)	6,00
кальция хлорид (Eur. Ph.)	1,00
полосамер 407 (Eur. Ph.)	0,40

1 флакон с растворителем содержит:

натрия хлорида раствор 0,9 % для инъекций – 5 мл.
Фармакотерапевтическая группа: Гемостатическое средство.
Код АТХ: B02BD02

Описание: Аморфная масса от белого до белого со слегка
желтоватым оттенком цвета.

Характеристика препарата:

Активное вещество препарата – рекомбинантный фактор свертывания крови VIII с удаленным В-доменом (мороктоког альфа) представляет собой гликопротеин с молекулярной массой около 165 000 дальтон. Рекомбинантный фактор свертывания крови VIII продуцируется модифицированной линией клеток яичников китайского хомячка CHO 2H5, полученной трансфекцией клеток яичников китайского хомячка и выделяется с использованием технологий рекомбинантной ДНК.

Показания к применению:

Лечение и профилактика кровотечений у пациентов с гемофилией А (врожденной недостаточностью фактора свертывания крови VIII) в возрасте 12 лет и старше.

Примечание: препарат Октофактор не содержит фактор Виллебранда, поэтому не показан для лечения болезней Виллебранда.

Противопоказания:

Повышенная чувствительность к белкам хомячков, а также непереносимость любого из компонентов, входящих в состав препарата. Возраст младше 18 лет (опыт применения отсутствует).

Для получения более подробной информации ознакомьтесь с полной инструкцией по медицинскому применению препарата. Материал предназначен для специалистов здравоохранения.

Производитель: АО «ГЕНЕРИУМ», Россия
Держатель РУ: АО «Эс Джи Биотех», Россия

Все претензии по качеству и/или нежелательным явлениям на территории РФ отправлять по адресу: АО «Эс Джи Биотех», Российская Федерация, 601125, Владимирская область, Петушинский район, пос. Волыгинский, ул. Владимирская, д.18, офис 26, тел. +7 (49243) 7-31-15, email: pv@sgbiotech.ru